

N° d'ordre...

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

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par : Mr DOUKANI Bachir

Spécialité : Sciences de l'environnement

Option : Biodiversité et conservation des zones humides

Intitulé

Contribution à l'étude de *Dunaliella salina* des zones
humides de l'Ouest algérien : Distribution spatiale,
Valorisation et Perspectives de Développement

Soutenue le

Devant l'honorable jury composé de :

<i>Président de jury</i>	Dr MELIANI Habib(Maître C. A, UDL/SBA)
<i>Examineur</i>	Pr HOUHAMDI Moussa (Professeur, Univ. Guelma)
	Pr BACHIR BOUIADJRA Benabdellah.... (Professeur, Univ. Mostaganem)
	Dr HASSANI Maya Meriem (Maître C. A, Univ. Saïda)
<i>Directeur de thèse</i>	Pr BOUZIDI Mohamed Ali..... (Professeur, UDL/SBA)
<i>Co-Directeur de thèse</i>	Pr KERFOUF Ahmed (Professeur, UDL/SBA)

Année universitaire 2021 - 2022

Dédicaces

A ma très chère femme pour son amour sa compréhension et surtout
sa présence dans ma vie.

A mes trois enfants mes bouts de choux mes petits garçons Yasser,
Khalil et Younes

Je tiens à exprimer mes sentiments les plus respectueuses et ma
profonde reconnaissance à ma mère adorée

A Ana la douce épouse de mon ami Cristian que je lui souhaite un
rapide rétablissement

A toute ma famille.

Remerciements

Je remercie dieu Allah tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail et qui me donne le courage à tout instant.

Je veux tout d'abord remercier le Professeur BOUZIDI Med Ali d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse de m'avoir inspiré et de m'avoir procuré l'aide nécessaire à l'aboutissement de ma recherche.

Je remercie très sincèrement mon co-directeur de thèse, le Professeur KERFOUF Ahmed pour m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je vous exprime toute ma reconnaissance pour vos savoirs, la rigueur scientifique par laquelle j'ai été guidé ainsi que pour la qualité de vos conseils avisés. Merci d'avoir pu faire de cette expérience un projet, une discussion enrichissante et une aventure unique, merci aussi pour la pression exercée ces dernier jours sans vous ce travail n'aboutirait jamais à terme et à temps.

Je remercie également Dr MELIANI Habib d'avoir accepté de présider la lecture de ma thèse, Pr BACHIR BOUIDJRA Ben Abdellah Pr HOUHAMEDI Moussa et Mme Dr HASSANI Maya Meriem pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse ; Je tiens également à remercier Pr Cristian Gomis pour avoir accepté mon invitation.

Je remercie les responsables de la société Partisano Biotech qui m'ont permis de mener à bien la première étape de ce projet d'envergure.

Je remercie très chaleureusement, Juan Carlos TORMO, Sergio SANDRA et Miguel Angel ESPIGNOLA GONGORA pour leur encadrement et qui par leur patience infinie, leurs conseils, leur disponibilité dans tous les instants qui m'ont permis de m'enrichir pendant ces années.

Un grand merci à l'équipe du laboratoire d'écodéveloppement des espèces de l'université de Sidi Bel Abbes pour l'aide, Je remercie très chaleureusement Mme TOUMI Fouzia, pour son aide inestimable, sa confiance et surtout sa patience et son grand cœur.

Un grand merci aux laboratoires de FUTURE GREEN LIFE, BIO-ALGUA et

PLANCTONID et surtout spécialement l'équipe de PLANCTONID ATLANTIC pour l'ambiance chaleureuse qui permet de passer les caps difficiles et de partager les bons moments.

Merci AURELIE, pour les éclats de rire partagés et l'aide que tu m'as gentiment apportée. Merci à toi Quentin le Breton, et surtout un grand salut pour le maître AURELIO Aranda Lopez pour m'avoir aidée à résoudre les problèmes ponctuels dans la bonne humeur.

Mes amis Nantais et Nazairiens d'adoption et de « thésards fidèles » avec qui tout reste possible : Biya, Benoît, Gilbert, Bruno, Joseph, Alexia, Amandine, Karla, Benoît, Vincent, Caro, Myriam, Alex, et Laurent ... Finalement, il y a une fin pour mieux commencer ! et à toute l'équipe de la Baule-Escoublac.

Mes amis Parisiens de l'université de la Sorbonne campus Pierre et Marie Curie, Roven, Elizabeth, Christophe et Catherine merci l'équipe.

Je désire également remercier un grand Monsieur un personnage haut en couleur sans qui rien n'aurait pu réellement débiter : MERCI Pr Cristian GOMIS pour m'avoir permis de partir à l'aventure. De m'avoir tout appris, des principes élémentaires au secret les plus profonds de l'algologie, Nos sorties d'échantillonnage et de prospections. Ton goût du défi et de la découverte, auréolé de bonne humeur qui m'a également contaminé et qui m'a appris à partager ta philosophie du travail.

Merci à mes Cher amie Nassim le dit Zaphy et Myriam pour leur contribution à l'élaboration de ce manuscrit.

Merci à tous ceux, nombreux, qui ont partagé cette période importante de ma vie.

La liste serait incomplète sans les personnes qui me sont chères et qui me suivent inconditionnellement depuis toujours : Mon GANG (F.Y.K.Y).

MERCI POUR TOUT.

الملخص

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

هذا العمل يهدف الى دراسة نمو نوع فريد من الطحالب المجهرية ذات منفعة اقتصادية التي تطورت للعيش في شط ارزيو بالغرب الجزائري دونالبيلا صالينا هي طحلب مجهري يعيش في هذا النوع من المحيطات المالحة. اخدت عينات وتم الاحتفاظ بها على شكل زراعة صافية من الطحلب دونالبيلا صالينا ومعزولة.

الهدف من هذه الدراسة هو تحرير حول حالة الأوساط المالحة ل شط ارزيو و ايجاد الظروف الملائمة لنمو هذا الطحلب في العوامل التجريبية. عاملين حيويين اساسيين الإضاءة ودرجة الملوحة التي تؤثر على انتاج الكتلة الحيوية تمت دراستهما.

الموقع دو مكانة من حيث غناه بالقشريات من نوع *ارتميا سلينا* ويحتوي على كمية معتبرة من الكتلة الحيوية. وهو يستضيف عدد معتبر من طيور النحام الوردية. درجة الملوحة في مكان اخذ العينات قدرت ب 188 غ/ل. كثافة اليخضور والكثافة الخلوية قدرت بأكثر من 110 ج غ/ل. 2×10^6 خلية/ل.

النتائج التجريبية المتحصل عليها اكدت ان شدة الضوء قدرت ب 18000 لوكس وهو العامل الأكثر تأثيرا يتبع بعدد الأيام اللازمة للزراعة. بكثافة خلوية قدرت ب 5.29×10^6 خلية/ل. تم الحصول عليه بعد 20 يوم من الاستزراع.

الكلمات الدلالية: دونالبيلا صالينا , الطحالب الدقيقة , العوامل الحيوية , الكتلة الحيوية , شط ارزيو , لغرب الجزائري

Résumé:

Ce présent travail porte sur l'étude de la croissance d'une microalgue d'intérêt économique, qui prolifère dans les salins d'Arzew à l'Ouest algérien. *Dunaliella salina* est une microalgue endémique de ces milieux salins. Des échantillons ont été prélevés et maintenus sous forme de culture pure de *Dunaliella salina* isolée. L'objectif de cette étude, est d'établir un premier état de référence des milieux des Salines d'Arzew, et de trouver les meilleures conditions pour le développement de cette microalgue en conditions expérimentales. Deux principaux paramètres écologiques (lumière et salinité) qui influencent la production de sa biomasse sont étudiés.

Le site réputé pour sa richesse en crustacés du genre *Artemia salina* et une importante biomasse algale, accueille une importante population de flamants roses *Phoenicopterus roseus*. La salinité de l'eau au site de prélèvement était de 188 gr/l. La concentration en chlorophylle et la densité cellulaire étaient respectivement supérieures à 110 µg/l et 2x10⁶ cellules/l. Les résultats expérimentaux obtenus ont démontré que l'intensité lumineuse (18 000 lux) est le paramètre le plus influent, suivi du nombre de jours de culture d'algues. Une concentration cellulaire de 5,29 x 10⁶ cellules/l, est constatée après 20 jours de culture.

Mots-clés : *Dunaliella salina*, microalgues, paramètres écologiques, biomasse, Salines d'Arzew, Ouest algérien.

Abstract

This present work dealing with the study of the growth of a microalgae of economic interest, which proliferates in the salines of Arzew in western Algeria. *Dunaliella salina* is a microalgae endemic to these salty environments. Samples were collected and maintained as a pure culture of isolated *Dunaliella salina*. The aim of this study, is to establish a first reference state of the environments of the Salines of Arzew, and to find the best conditions for the development of this microalgae under experimental conditions. Two main ecological parameters (light and salinity) that influence the production of its biomass are studied.

The site renowned for its richness in crustaceans of the genus *Artemia salina* and an important algal biomass, receives a large population of greater flamingo *Phoenicopterus roseus*. The water's salinity at the sampling site was 188 gr /l. The chlorophyll concentration and cell density were greater than 110 µg /l, and 2x10⁶ cells /l respectively. The experimental results obtained demonstrated that the light intensity (18,000 lux) is the most influential parameter, followed by the number of days of algal culture. A cell concentration of 5.29 x10⁶ cells /l, is noted after 20 days of culture.

Key-words: *Dunaliella salina*, microalgae, ecological parameters, biomass, Salines of Arzew, Western Algeria.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé, abstract, الملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviation et acronymes	
Introduction	1

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUES

Partie 1 : Chapitre 1 Généralistes sur les Algues	7
1.1 Définition	7
1.2 Diversité et classification.....	11
1.2.1. La Diversité des microalgues	11
1.2.2. Les Principaux Groupes Phylogénétiques d'Algues.....	13
1.2.2.1. Les Procaryotes.....	13
➤ Cyanophytes.....	13
➤ Prochlorophytes	15
1.2.2.2. Les Eucaryotes.....	17
➤ Les Bacillariophytes	18
➤ Les Charophytes	18
➤ Les Chlorophytes	19
➤ Les Chrysophytes	21
➤ Les Pyrrhophytes	22
a) Les Cryptophycées	23
b) Les Dinophycées ou Péridiniens	23
➤ Les Euglenophytes	24
➤ Les Glaucophytes	25
➤ Les Rhodophytes	26

1.2. Les Microalgues	27
1.2.1. Diversité de familles et d'espèces des microalgues.....	31
1.3. Les algues et les plantes aquatiques	33
1.3.1. Algue.....	33
1.3.2. Plante aquatique	33
1.3.3. Les algues filamenteuses	34
1.3.4. Le Périphyton.....	34
1.3.5. Charra.....	35
1.4. Physiologie.....	35
1.5. Ecologie.....	36
1.6. Habitat	36
1.7. Reproduction.....	37
1.8. Utilisation, exploitation et valorisation des algues.....	39
1.8.1. Composition biochimique.....	42
1.8.2. Production de la biomasse	44
1.9. La filière microalgue.....	45
1.9.1. Une histoire récente	45
1.9.2. Une ressource naturelle durable et diversifiée.....	47
1.9.3. Une capacité à fixer le carbone inorganique.....	48
1.9.4. Un rendement photosynthétique, des taux de croissance et des productivités élevés	49
1.9.5. Les microalgues comme ressource énergétique	51
1.9.6. Dynamique recherche et développement autour des microalgues en Algérie	54
1.9.7. Le Projet Partisano Biotech Algérie	54

Partie 1 : Chapitre 2 S/Chapitre I : Présentation du cadre d'étude.....	56
2.I.1. Généralités sur les zones humides.....	56
2.I.1.1. Définition d'une zone humide.....	58
2.I.1.2. Caractéristiques générales des zones humides	58
2.I.1.3. Composition d'une zone humide	59
2.I.1.4. Types de zones humide	60
2.I.1.5. Fonctionnement des zones humides.....	60
2.I.2. Les zones humides en Algérie.....	64
Partie 1 : Chapitre 2 S/Chapitre II : Présentation de la zone d'étude	71
2.II.1.1. Présentation générale de la Salines d'Arzew	71
2.II.1.2. Ecologie de la zone d'étude	73
2.II.1.3. Type de zone humide.....	73
2.II.1.4. Caractéristiques physiques du site	75
2.II.1.5. Facteurs du milieu.....	76
2.II.1.6. Valeurs sociales et culturelles.....	81
Partie 1 : Chapitre 3 Aperçu sur <i>Dunaliella salina</i>	82
3.1. Les Microalgues	82
3.1.1. <i>Dunaliella salina</i>	83
3.1.1.1. Taxonomie.....	84
3.1.1.2. Environnement naturel	85
3.1.1.3. Morphologie.....	87
3.1.1.4. Caractère halophile.....	88
3.1.1.5. Caractère hydrophobe	89
3.1.1.6. Photo-attraction Phototaxie	89
3.1.2. Cycle de vie.....	90

3.1.3. Besoins fondamentaux et physiologie.....	92
3.1.3.1. Nutriments.....	92
3.1.3.2. Conditions de croissance.....	94
Partie 2 : Chapitre 1 Généralités sur les photobioréacteurs	97
1.1. Qu'est-ce qu'un photobioréacteur	97
1.2. Conception et problématique générale	97
1.2.1. La lumière et le photobioréacteur	97
1.2.2. L'hydrodynamique au sein des photobioréacteur.....	99
1.3. Conclusions pour la conception d'un photobioréacteur	100
Partie 2 : Chapitre 2 Engineering des Photobioréacteurs Partie.....	101
2.1. Les deux formes géométriques les plus courantes	101
2.1.1. Les photobioréacteur plats.....	101
2.1.2. Les photobioréacteur Cylindriques.....	101
2.2. Caractéristique des principaux types de photobioréacteurs	107
2.2.1. Eclairage	107
2.2.2. Dimensions des photobioréacteurs	107
2.2.3. Régulation.....	107
2.3. Techniques D'agitation et de mise en circulation.....	109
2.3.1. Description des systèmes d'agitation.....	109
Partie 3 : Chapitre 1 Méthodologie	114
1.1. Spécifications de la maquette	114
1.1.1. Nomenclature des pièces de la maquette.....	114
1.1.2. Les Panels.....	114

1.1.3. Les annulaires.....	115
1.1.4. Le système de recirculation.....	115
1.1.5. La distribution d'air.....	115
1.2. Les équipements périphériques de la maquette d'étude	116
1.3. Technique mise en œuvre pour l'optimisation du photobioréacteur	117
1.3.1. Optimisation de la lumière	118
1.4.Optimisation des paramètres et test du prototype.....	119
Partie 3 : Chapitre 2 Résultat et Discussion	122
2.1. Résultat et Discussion.....	123
Conclusion.....	150
Références Bibliographiques.....	153
Annexe	175

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°1 : Diversité des microalgues eucaryotes et procaryotes, marine et d'eau douce (D'après Jeffrey et al., 1997 ; Sharma et Rai, 2011)	11
Tableau N°2 : Les organisme photosynthétique et le marché mondial (d'après 1-Spolaore et al., 2006, 2-Larkum et al., 2012 et 4-Borowitzka et al., 1997).....	41
Tableau N°3 : Elément majeurs constitutif des microalgues (Sialve et Steyer, 2013).....	42
Tableau N°4 : Répartition du Composition biochimique d'une cellule de microalgue	43
Tableau N°5 : Comparaison de diverses sources possibles de biodiesel (Chisti, 2007).....	53
Tableau N°6 : Liste des sites Ramsar en Algérie (Wikipedia.org)	66
Tableau N°7 : Liste des oiseaux d'eaux observés au niveau des Salines d'Arzew (C.D.F Oran, 2015).....	78
Tableau N°8 : Diversité spécifique de l'avifaune (Conservation des forêts Oran, 2015). 78	
Tableau N°9 : Liste des oiseaux d'aux observés au niveau des Salines d'Arzew (Conservation des Forets Oran,2015).....	79
Tableau N°10 : Les espèces du genre Dunaliella sélectionnées (Oran, 2005)	85
Tableau N°11 : Données Climatique Arzew 2015 (© Doukani 2022).....	120
Tableau N°12 : Données Climatique Arzew 2016 (© Doukani 2022).....	122
Tableau N°13 : Données Climatique Arzew 2017 (© Doukani 2022).....	124
Tableau N°14 : Données Climatique Arzew 2018 (© Doukani 2022).....	126

Tableau N°15 : Données Climatique Arzew 2019 (© Doukani 2022).....	128
Tableau N°16 : Données Climatique Arzew 2020 (© Doukani 2022).....	130
Tableau N°17 : Données Climatique Arzew 2021 (© Doukani 2022).....	132
Tableau N°18 : Le taux de la Salinité saline d’Arzew 2015-2021 (© Doukani 2022) ...	134
Tableau N°19 : Récapitulatif des expériences et des valeurs de chaque paramètre avec unité (© Doukani 2022).....	143
Tableau N°20 : Récapitulatif des Concentrations Cellulaire Obtenue en variant les deux paramètres en fonction du temps de séjour (© Doukani 2022)	144

LISTE DES FIGURES

Fig. 1 : Algues vertes (<i>Pleurococcus sp.</i>) poussant sur un arbre (Sciencessource.com).....	9
Fig. 2 : Micrographie lumineuse de <i>Pleurococcus</i> (Ssciencessource.com)	9
Fig. 3 : <i>Fucus vésiculeux</i> (Fucus vésiculeuse) Golfe du Maine ANDREW MARTINEZ (Sciencesources.com).....	10
Fig. 4 : Laitue de mer, <i>Ulva lactuca</i> , une algue verte comestible, dans le golfe du Maine ANDREW MARTINEZ (Sciencesources.com)	10
Fig. 5 : Micrographie légère des filaments d' <i>Anabaena sp</i> X100 (MICHAEL ABBEY) (Sciencesources .com).....	14
Fig. 6 : Algues bleu-vert, vivantes <i>Arthrospira plantensis</i> (Spiruline) X100 (MICHAEL ABBHEY) Sciencesources.com)	14
Fig. 7 : Procaryotes vs. Eucaryotes : Picoplancton observé par microscopie à Epifluorescence (bio.libertexte.org).....	16
Fig. 8 : Schéma d'une structure de microalgue unicellulaire (Dejoye , 2013).....	17
Fig. 9 : Photographie d'une Bacillariophycée <i>Navicula</i> (http://www.plancton-du-monde.org)	18
Fig. 10 : <i>Chlorokybus atmophyticus</i> X100 (utes.org).....	19
Fig. 11 : Micrographie lumineuse de l'espèce d'algues vertes <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> X2000(BIOPHOTO ASSOCIATES).....	20
Fig. 12 : Photographie d'une Chrysophycée <i>Dinobryon</i> (http://www.microscopy-uk.org.uk)	21
Fig. 13 : <i>Rhodomonas Salina</i> Daniel Vaultot, CNRS, Station Biologique de Roscoff	22
Fig. 14 : Micrographie optique d'un dinoflagellé <i>Ceratium tripos</i> (ERIC GRAVE) (Sciencesources.com).....	23
Fig. 15 : <i>Euglena gracilis</i> X125 (ABBAYE MICHAEL) /Sciences Sources	25
Fig. 16 : <i>Glaucosystis nostochireanum</i> (Aquaportail.com).....	26
Fig. 17 : Photographie d'une Rhodophycée <i>Rhodorus marinus</i> (http://www.ecosociosystemes.fr).....	27
Fig. 18 : Comparaison des spectres d'absorption de la chlorophylle et des pigments Accessoires par rapport au spectre solaire (Williams et Laurens,2010)	50

Fig. 19 : Les quatre principaux axes de valorisation énergétique de la biomasse de Microalgues.....	52
Fig. 20 : Composition d'une zone humide (Saifouni, 2009)	59
Fig. 21 : Une zone humide et son espace de fonctionnalité (Saifouni, 2009)	61
Fig. 22 : Carte des complexes et sous complexes des zones humides (DGF, 2016)	70
Fig. 23 : Image satellitaire des salines d'Arzew, wilaya d'Oran (Google earth, 2021).....	72
Fig. 24 : Les salines d'Arzew, wilaya d'Oran (Kerfouf, 2020)	72
Fig. 25 : <i>Artémia Salina</i> (©Doukani, 2020)	73
Fig. 26 : Vue globale des Salines d'Arzew (©Doukani, 2020)	74
Fig. 27 : Les Salines d'Arzew Desséché (©Doukani, 2021)	76
Fig. 28 : Une Volée de Flamant Rose (<i>Phoenicopterus ruber roseus</i>) (©Doukani, 2020) ...	77
Fig. 29 : Une Volée de Flamant Rose au décollage (<i>Phoenicopterus ruber roseus</i>) (© Doukani, 2020)	78
Fig. 30 : Végétation Halophiles à l'abord des Salines d'Arzew (©Doukani, 2019)	81
Fig. 31 : Suaeda.sp au bord du canal Salines d'Arzew (©Doukani, 2021)	81
Fig. 32 : Représentation schématique de l'origine des plantes et des chromalvéolates Expliquant l'apparition de différentes lignées d'algues au cours de l'évolution par Endosymbioses	82
Fig. 33 : Arbre phylogénétique présentant les principaux groupes d'Eucaryotes et basé sur des techniques de phylogénie moléculaire et des études ultra structurales (Baldauf, 2008) ; Positionnement taxonomique : * micoalgues,* <i>Dunaliella Salina</i>	83
Fig. 34 : Lit de Séchage de sl du complexe ENASEL dans les Salines d'Arzew (Kerfouf, 2020)	86
Fig. 35 : Canal déverseur du circuit de lavage ENASEL des Saline d'Arzew (©Doukani, 2021)	86
Fig. 36 : <i>Dunaliella Salina</i> sous ces différentes forme (Wikipedia.org)	88
Fig. 37 : Représentation schématique des différents stades du cycle de vie de l'espèce <i>Dunaliella Salina</i> (Dejoye, 2013)	91
Fig. 38 : Représentation schématique de l'influence de l'éclaircement sur la photosynthèse Chez les microalgues (Vonshak & Torzillo, 2004)	95

Fig. 39 : Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de L'épaisseur de culture de microalgues	98
Fig. 40 : Photos de gauche à droite : a) Agglomération de cellules de <i>Nanochloropsis salina</i> Doukani 2014). b) Segmentation de cellules <i>Nanochloropsis Salina</i> et de <i>Anabaena</i> (©Doukani 2014). c) Effets du passage dans une pompe chez <i>Dunaliella Salina</i> (©Doukani 2016)	100
Fig. 41 : Géométrie du photobioréacteur plat (©Doukani 2016)	100
Fig. 42 : Photobioréacteur Plats (©Doukani 2016)	102
Fig. 43 : Photobioréacteur Cylindrique (©Doukani 2016).....	102
Fig. 44 : Photobioréacteur annulaire (©Doukani 2016)	104
Fig. 45 : Photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement (researchgate.net).....	104
Fig. 46 : Photobioréacteurs tubulaires agencés sur structure vertical (ifrmer.fr)	105
Fig. 47 : Schémas de colonne à bulle (a), de photobioréacteurs airlift à chambres annulaires (b) à Paroi interne (c) et a boucle externe (d) (Chisti et Moo-Young, 2001)	110
Fig. 48 : Configuration de types airlift (Luo et Al Dahhan, 2001).....	110
Fig. 49 : Différents mobiles d'agitation : (a) Turbine à disque Rushton, (b) Hélice hydrofoil, (c) Hélicemarine (Chisti et Moo-Young, 2001).....	111
Fig. 50 : Disposition Verticale de trois étages de Photobioréacteur Crevillante Alicante (© Doukani 2019)	119
Fig. 51 : Disposition Horizontale d'une batterie de Photobioréacteur Plats Port de Saint-Nazaire (© Doukani 2019)	120
Fig. 52 : Températures à Arzew 2015 (© Doukani 2022)	121
Fig. 53 : Précipitations à Arzew 2015 (© Doukani 2022)	122
Fig. 54 : DJU et ensoleillement à Arzew 2015 (© Doukani 2022).....	122
Fig. 55 : Températures à Arzew 2016 (© Doukani 2022)	123
Fig. 56 : Précipitations à Arzew 2016 (© Doukani 2022)	124
Fig. 57 : DJU et ensoleillement à Arzew 2016 (© Doukani 2022).....	124
Fig. 58 : Températures à Arzew 2017 (© Doukani 2022)	125

Fig. 59 : Précipitations à Arzew 2017 (© Doukani 2022)	126
Fig. 60 : DJU et ensoleillement à Arzew 2017 (© Doukani 2022).....	126
Fig. 61 : Températures à Arzew 2018 (© Doukani 2022)	127
Fig. 62 : Précipitations à Arzew 2018 (© Doukani 2022)	128
Fig. 63 : DJU et ensoleillement à Arzew 2018 (© Doukani 2022).....	128
Fig. 64 : Températures à Arzew 2019 (© Doukani 2022)	129
Fig. 65 : Précipitations à Arzew 2019 (© Doukani 2022)	130
Fig. 66 : DJU et ensoleillement à Arzew 2019 (© Doukani 2022).....	130
Fig. 67 : Températures à Arzew 2020 (© Doukani 2022)	131
Fig. 68 : Précipitations à Arzew 2020 (© Doukani 2022)	132
Fig. 69 : DJU et ensoleillement à Arzew 2020 (© Doukani 2022).....	132
Fig. 70 : Températures à Arzew 2021 (© Doukani 2022)	133
Fig. 71 : Précipitations à Arzew 2021 (© Doukani 2022)	134
Fig. 72 : DJU et ensoleillement à Arzew 2021 (© Doukani 2022).....	134
Fig. 73 : Variation Annuelle de la Salinité 2015-2021 (© Doukani 2022)	135
Fig. 74 : Champs d'irradiance sur une section du tube	137
Fig. 75 : Profils radiaux Théoriques et expérimental d'irradiance	138
Fig. 76 : Modèle de croissance (© Doukani 2022)	135
Fig. 77 : Productivité théorique du Réacteur	140
Fig. 78 : Productivité volumique	142
Fig. 79 : Graphe représentant la concentration cellulaire en fonction du temps	148

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

°C: degré celsius

Ca: calcium

CO₃²⁻: carbonate

DGF : direction générale des forêts

E : est

g : gramme

Ha : hectare

J : jour

Km : kilomètre

m : mètre

m³ : 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 : United state of America

µm: micromètre

% : pour cent

PBA:Partisano Biotech Algerie

SPPM SPA:Société de production de plants de la mékkera

C : concentration en oxygène dissous (mg. l^{-1})

C* : concentration en oxygène dissous à l'équilibre (mg. l^{-1})

C*_n : concentration du milieu de Conway à raison de n fois la concentration du milieu de Conway de référence (Annexe N°2) (ml.l^{-1})

C_s : concentration en oxygène donnée par la sonde (mg. l^{-1})

C_l : concentration en oxygène réelle (mg.l^{-1})

C_o : concentration en oxygène dissous au temps t₀ où l'air est injecté (mg. l^{-1})

D : taux de renouvellement ou de dilution (j^{-1})

E_a : coefficient massique d'absorption (m^2/kg)

E_s : coefficient massique de diffusion (m^2/kg)

G : irradiance ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)

G_c : irradiance au point de compensation ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)

H : hauteur de la bride (mm)

k_{La} : coefficient volumique de transferts gaz-liquide (min^{-1})

L' : largeur du passage en sortie de bride (mm)

(m)L_c : longueur droite de parcours (m)

P : productivité ($\text{cell.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$) Q_g : débit d'air (Nl.min^{-1})

q₀ : flux de lumière incident ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)

r : positions radiales dans le tube (mm)

R : rayon du tube (m)

S : section du tube (mm^2)

S_i : concentration en substrat en entrée (mol. l^{-1})

S_r : concentration en substrat résiduel (mol.l^{-1})

T_c : temps de recirculation (s)

V : volume de la maquette (L)

X : concentration en biomasse (cell. l^{-1})

x : position axiale dans le tube (mm)

z : axe de propagation de la lumière dans les deux directions opposées (l' et l'') (m)

Les eaux hypersalines couvrent de grandes zones dans le monde entier, pas uniquement dans les zones de production de sel (salines ou marée salées) mais aussi dans les lacs et lagunes naturels, et dans les étangs de marée (Javor, 1989). La valeur écologique et très importantes dans le monde et en particulier en Méditerranée (Korovessis & Lekkas, 2000)

C'est l'intérêt dans de nombreux pays à maintenir de tels écosystèmes tout en les manipulant pour une utilisation économique de leur riche biote (Cheng, 1991 ; Marian Roy, 2001). Les étangs et bassins côtiers peu profonds, comme ceux trouvés aux salines solaires, sont favorisés en raison de l'échange d'eau contrôlé, la facilité de gestion et leurs grandes et robustes populations de phytoplancton et d'artémias (Vos & De la Rosa, 1980; Sorgeloos, 1987).

Les eaux salées ont en général des quantités très élevées de micro- et de macronutriments, un fait aggravé par évaporation (Javor, 1989; Wen et Zhi-Hui, 1999) qui aide à maintenir les densités algales élevées.

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 cytologiques et biochimiques 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 250000 espèces de plantes supérieures recensées ; une telle diversité non exploitée constitue un réel potentiel pour la recherche et l'industrie (Keeling *et al.*, 199 ; Hedges *et al.*, 2004 et Teyssède, 2006 in Cadoret et Bernard, 2008).

Les microalgues dans les eaux hypersalines ont un potentiel de croissance et de culture. La production de biomasse de microalgues est précieuse et irremplaçable comme aliment pour l'aquaculture, par la diversité des tailles des cellules et les caractéristiques nutritionnelles (Coutteau, 1996; Borowitzka, 1997). Les microalgues hypersalines et halotolérantes ont déjà fait l'objet de plusieurs recherches pour les applications de l'aquaculture (Goldman, 1979; Borowitzka, 1988; Benemann, 1990; Borowitzka, 1997).

Cette microflore peut aussi avoir des implications génétiques et biochimiques propres à une espèce particulière pour les recherches futures (Oren, 2002).

Les microalgues autotrophes sont capables, par photosynthèse, d'élaborer leur propre substance organique à partir des minéraux et des éléments simples présents dans leur milieu comme le dioxyde de carbone, en utilisant comme seule source d'énergie la lumière :



En cultures en mode batch (fermé), les microalgues ont des temps de doublement de l'ordre de 24 h et respectent les quatre phases de développement des micro-organismes (bactéries, levures) : la phase de latence (adaptation aux conditions), la phase de croissance exponentielle (multiplication optimale des cellules), la phase stationnaire (arrêt de la croissance) et la phase de sénescence (mort de la culture).

Miquel (1893) pose les premières bases des cultures pures de microalgues en « batch ». La mise au point du milieu de culture (Allen et Nelson, 1910) donne accès à des procédés reproductibles (Toonen, 1997) basés sur l'inoculation du milieu de culture (eau de mer filtrée, stérilisée et enrichie en nutriments) par la microalgue désirée.

Actuellement, la production de phytoplancton est réalisée en éclosérie dans des enceintes ou systèmes fermés de type scobalits ou gaines selon la technique des volumes croissants (ou batch). Les résultats sont certes globalement satisfaisants, mais les conditions de culture des microalgues et les concentrations algales ne sont ni optimisées ni contrôlées : mauvaise exploitation de l'irradiance fournie par éclairage artificiel (géométrie non optimale des bassins et cuves employés), température et pH mal maîtrisés. De plus la production phytoplanctonique en batch a un coût d'autant plus important qu'elle ne peut être facilement

automatisée, la rendant ainsi consommatrice de temps et de main d'œuvre, (Coutteau et Sorgeloos, 1992).

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.

Dunaliella salina est capable d'accumuler du β -carotène, ce pigment d'origine naturelle, dix fois plus actif que le β -carotène de synthèse, utilisé comme colorant alimentaire, une source de vitamine A dans l'alimentation animale et humaine et un additif en cosmétologie. Les carotènes sont des provitamines 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).

Les concentrations élevées de caroténoïdes dans les microalgues halotolérantes sont un avantage pour l'aquaculture car ils sont nécessaires pour la pigmentation, l'activation des vitamines, l'anti-oxydation, la croissance et éventuellement la reproduction des espèces (Ong & Tee, 1992 ; Pfander, 1992 ; Britton, 1995 ; Li n an-Cabello *et al.*, 2002). Les concentrations élevées de caroténoïdes sont dues au stress imposé aux microalgues par les facteurs environnementaux (Litchfield et Oren, 2001).

L'*Artémia salina* est également un organisme très précieux avec environ 40% de la demande alimentaire de l'aquaculture pour les stades précoces dépend de sa disponibilité, pourtant la production d'*Artemia* dépend presque entièrement des stocks naturels qui ont un chiffre d'affaires annuel limité et non croissant (Lavens & Sorgeloos, 2000 ; Sorgeloos et coll., 2001). La hausse de la demande a entraîné une hausse constante des prix avec une diminution de la qualité et la disponibilité de ce crustacé. Les problèmes dans la qualité des kystes et l'approvisionnement en artémias ont été aggravés par l'augmentation de la remise en

état des terres, pollution, sécheresse et inondations (Dolapsakis, 1997 ; Triantaphyllidis et coll., 1998). L'enquête de microalgues dans les usines de sel et leur utilisation potentielle pour la culture de phytoplancton pour nourrir un second organisme (ex : *Artemia*) dans les bassins salins est donc attrayante. La culture de microalgues dans les salines peut également aider à atteindre des salinités plus élevées qui favorisent une production plus élevée de sel (Javor, 1989; Davis, 2000). Par conséquent, l'aquaculture peut être utilisée pour les activités de production de sel, ou en combinaison (intégration) par exemple pour la gestion de ces activités de santé afin d'accroître l'efficacité de la décontamination, par une gestion spécifique des activités de l'usine de sel pour en accroître l'efficacité et la viabilité économique.

La disponibilité de macronutriments inorganiques, en particulier l'azote et le phosphore, tend à limiter les densités de microalgues dans les eaux naturelles et les microalgues assimilent des formes inorganiques pour la croissance (Kaplan et coll, 1986; Wetzel, 2001). Le Nitrate nitrogen ($\text{NO}_3\text{-N}$) est la source d'azote inorganique facilement disponible, alors qu'il semble très bien fonctionner pour *Dunaliella salina* cultivée des salines (Gibor, 1956). La concentration du phosphore inorganique, sa dissolution et sa disponibilité sont limitées en eaux hypersalines, surtout lorsque les températures de l'eau sont basses, en grande partie à cause des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} provoquant la formation de phosphates presque insolubles à haute salinité (Javor, 1989).

La salines d'Arzew dans l'Ouest algérien (Oran, 35°42'22''N, 0°16'43''O) est l'exemple propice pour ces modèles puisqu'elle est limitrophe avec l'usine d'extraction de sel, la disponibilité des lits d'évaporation à faible profondeur, leurs faibles besoins en matière de manipulation des terres et d'eau et de de fonctionnement pourrait être prometteur pour le développement de l'algoculture. L'utilisation partielle des salines pour l'aquaculture est possible sans déranger le local et pourrait contribuer à la compétitivité économique du secteur de la production de sel. Les petits bassins et peu profonds permettent une diffusion importante de O_2 et CO_2 dans et hors de la colonne d'eau et conviennent à la culture de populations mixtes de *Dunaliella* avec d'autres phytoplanctons comme nourriture pour les grandes populations d'artémies parthénogénétiques. Une étude de l'environnement physique, chimique et biologique en relation avec les caractéristiques de la communauté de microalgues sur les différents sites de l'usine de l'ENASEL a été menée depuis 2015 au printemps et en été. Une évaluation de l'amélioration de la production de microalgues planctoniques a également été effectuée en laboratoire en utilisant une fertilisation inorganique. L'objectif

était d'obtenir des renseignements sur les conditions biotiques et abiotiques de la croissance de la microalgue *Dunaliella salina*.

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

- L'obtention des conditions éco-biologique qui favorisent la croissance et le développement de cette microalgue dans un milieu naturel.
- La fixation des conditions éco-biologiques optimales qui favorisent la croissance et le développement de cette microalgue dans un milieu artificiel.
- La recherche, la conception et l'étude d'un nouveau photobioréacteur spécifique à la production de *Dunaliella salina*.

La particularité de ce projet réside dans un partenariat multi compétences associant :

- Le bureau d'études TAER R&D au regard de sa compétence en dessin technique et sur la mise en œuvre des matériaux plastiques.
- Le bureau d'études MECO Consult au regard de leurs compétences en génie des procédés et en ingénierie des photobioréacteurs.
- La société BioAlgae I+D situé à Alicante en Espagne pour leurs compétences respectives en physiologie des microalgues et leur connaissance du secteur de l'engineering aquacole.
- La société Future Green Life S.L Oliva Valencia au regard de leurs compétences en fabrication mécanique et électromécanique.
- La société PLANCTONID ATLANTIC a Saint-Nazaire en Bretagne au regard de leurs compétences en procédé des traitements des eaux.

Structuration de la thèse

Dans un chapitre préliminaire, nous commencerons par présenter des généralités.

La partie I rassemble les données bibliographiques sur notre thématique.

En premier lieu une synthèse sur les des algues (la classification la plus récente). C'est un chapitre où nous présentons les principaux groupes phylogénétiques des algues, leur physiologie, leur écologie, leur habitat et leur mode de reproduction et l'avenir de la filière microalgues.

Le chapitre II est un chapitre introductif où nous présentons la zone d'étude avec

précision sa superficie, sa typologie, ainsi que les critères de sa classification comme site Ramsar.

Le chapitre III présente le modèle biologique étudié, sa physiologie, sa physionomie et ses modes de reproduction.

L'objectif de la partie II est de dresser un état de l'art non exhaustif sur les technologies des photobioréacteurs.

Le premier chapitre traite de la problématique de conception des photobioréacteurs.

Le second chapitre s'attache à présenter les photobioréacteurs existants (différentes géométries, principales caractéristiques), à décrire les divers types de systèmes d'agitation (homogénéisation du milieu de culture) et d'optimisation des photobioréacteurs, pour qu'à la fin, faire l'examen des applications associées aux photobioréacteurs commercialisés.

La troisième partie de cette thèse s'attachera à décrire le matériel utilisé (tout particulièrement la maquette d'étude), ainsi que les différentes méthodes et techniques expérimentales ou de modélisations utilisées.

L'ensemble des résultats sera présenté et discuté dans la quatrième partie qui s'articule autour des trois grands axes suivants : (I) étude des transferts radiatifs et prédiction de la productivité, (II) études hydrodynamiques et choix des configurations les plus adaptées (facteur de vitesse, type de distributeur d'air et débit), (III) études biologiques et quantification expérimentale des performances de la maquette.

En conséquence, l'objet de cette présente thèse est, d'une part, de définir les spécifications d'un système de production en continu de microalgues aquacoles, en s'appuyant sur une double expertise, académique (le laboratoire écodéveloppement des espèces de l'UDL de Sidi Bel Abbès) et industrielle (la société BioAlgae I+D), et d'autre part, de concevoir et d'étudier un photobioréacteur pilote en vue du dimensionnement d'un prototype répondant à la réalité économique, notamment en termes d'investissement, de rendement, de qualité de la biomasse produite et de facilité d'emploi.

A la fin de cette thèse, nous présentons une conclusion et des recommandations et nous proposons quelques perspectives.

Partie 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur les Algues

Chapitre 1 : Généralités sur les Algues.

I.1. Définition

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 microalgues sont des organismes microscopiques unicellulaires photosynthétiques qui se développent dans les milieux fortement aqueux et sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone (CO_2) en un ensemble de produits organiques. On utilise le terme « micro » car la taille d'une microalgue varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres (Dejoye, 2013).

Les algues sont définies comme des organismes eucaryotes (excluant les cyanobactéries qui sont des procaryotes photosynthétiques) dépourvus de racines, de tiges (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 (microalgues) 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), (fig 01) (fig 02) 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'hydriaires, 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)



Fig 1 : Algues vertes (*Pleurococcus sp.*) poussant sur un arbre
(Sciencesource.com)

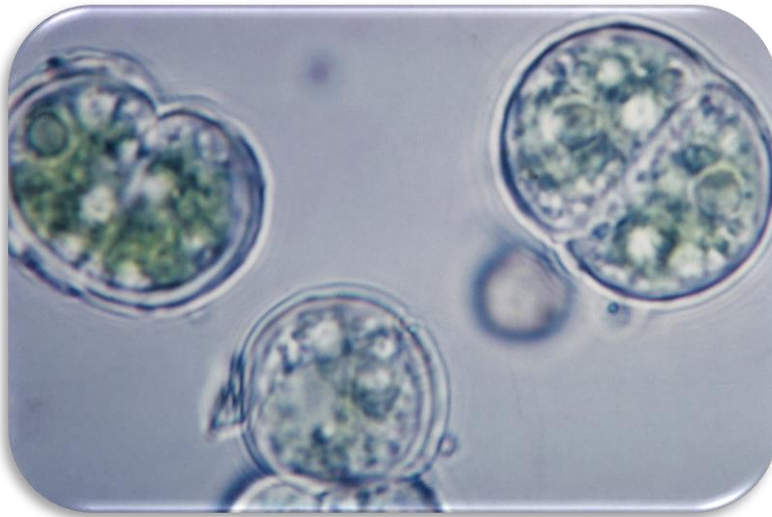


Fig 02 : Micrographie lumineuse de *Pleurococcus* (Sciencesource.com)

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) (fig 03) et une algue verte de genre *Ulva* (laitue de mer) (fig 04), qu'entre cette dernière et un chêne ! Cette grande hétérogénéité explique la richesse et la diversité biochimique à l'origine de leur exploitation.



Fig 03 : *Fucus* vésiculeux (*Fucus vesiculosus*) Golfe du Maine
ANDREW MARTINEZ/(Sciencesources.com)

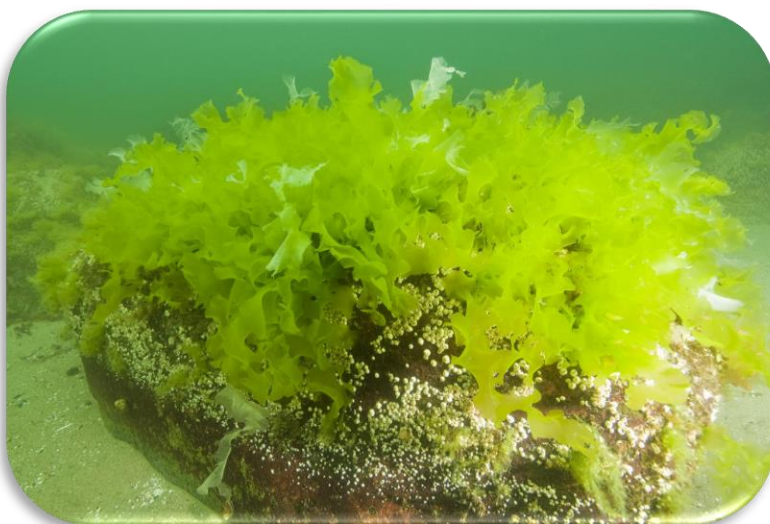


Fig 04 : Laitue de mer, *Ulva lactuca*, une algue verte comestible, dans le golfe du Maine. ANDREW MARTINEZ/(Sciencesources.com)

I.2 Diversité et classification

I.2.1. La Diversité des microalgues :

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 (Tableau 1).

Tableau 1 : Diversité des microalgues eucaryotes et procaryotes, marine et d'eau douce (D'après Jeffrey *et al.*, 1997 ; Sharma *et Rai*, 2011)

Règne	Embranchement/Classe
Procaryotes	Cyanophytes
	Prochlorophytes
Eucaryotes	Bacillariophytes
	Charophytes
	Chlorophytes
	Chrysophytes
	Cryptophytes
	Dinophytes
	Euglenophytes
	Glaucophytes
	Haptophytes
	Phaeophytes
Rhodophytes	

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 microalgues. Il y aurait environ 9 000 espèces de macroalgues, dont 1 500 peuplent les mers d'Europe, et le nombre total de microalgues, 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 (Iltis, 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 exemple : 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).

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).

Les microalgues sont très diversifiées et environ 30 000 espèces ont déjà été caractérisées. Ce nombre représente moins de 10 % du total existant estimé. En 2000, près d'une cinquantaine seulement ont été étudiées en détails (Cavalla, 2000) et une dizaine d'espèces seulement sont exploitées au niveau industriel et commercial. Les scientifiques ont analysé les microalgues pour les distinguer et les diviser en plusieurs classes selon des critères généraux comme la pigmentation, la structure biologique et le métabolisme.

I.2.2. Les Principaux Groupes Phylogénétiques d'Algues :

Ces micro-organismes constituent un groupe très diversifié, dans lequel nous retrouvons des espèces procaryotes (microalgues bleues ou cyanobactéries) et eucaryotes (microalgues vertes, rouges et brunes). Les microalgues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale classique compartimentée, avec ou sans paroi cellulosique, et avec des pigments photosynthétiques renfermés dans les chloroplastes. Les microalgues procaryotes ont une structure bactérienne classique sans compartiment, les pigments photosynthétiques sont contenus dans des membranes lamellaires. D'un point de vue taxonomique, le classement des microalgues se fait sur la diversité de leurs propriétés et notamment leurs caractéristiques morphologiques, la pigmentation ou encore l'organisation des membranes (G. E. Fogg, 1953).

Il est cependant plus simple de les distinguer selon deux groupes :

I.2.2.1. Les Procaryotes : ce sont des organismes unicellulaires qui sont dépourvus de noyau et ne présentent que très rarement des organites cellulaires. On distingue deux Embranchement après le rajout des Oxychlorobactérie comme deuxième Embranchement des microalgues Procaryotes.

➤ **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 comme le cas de d'*Anabaena_sp* (fig 05). En fonction des espèces et des conditions environnementales, les colonies peuvent former des filaments tel le cas d'*Arthrospira Plantensis* (fig 06) 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 clair (Lando, 2011).



Fig 05 : Micrographie légère des filaments d'*Anabaena sp* X100
(MICHAEL ABBEY) (Sciencesources.com)

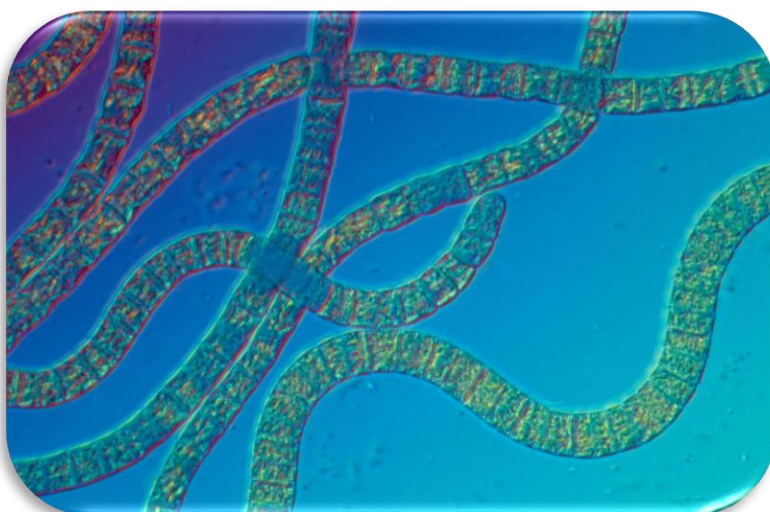


Fig 06 : Algues bleu-vert, vivantes *Arthrospira plantensis* (Spiruline) X100
(MICHAEL ABBEY) (Sciencesources.com)

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 dispersé en particules très petites. Elles prennent une teinte acajou au contact d'une solution iodo-iodurée. Les cyanophytes ne possèdent pas de forme flagellées (Iltis, 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.

➤ **Prochlorophytes** : C'est un groupe de bactéries photosynthétiques, un composant important du picoplancton. Ces organismes oligotrophes sont abondants dans les eaux tropicales pauvres en nutriments et utilisent un pigment photosynthétique unique, la divinyl-chlorophylle, pour absorber la lumière et acquérir de l'énergie. Les Prochlorophyta manquent de pigments de phycobiline rouge et bleu et ont des thylakoïdes empilés, ce qui les rend distinctement différents des Cyanobactéries (ou Cyanophyta), mais certains auteurs les considèrent comme faisant partie des Cyanobactéries, comme le groupe Prochlorales.

Le picoplancton est la fraction du plancton, composée de cellules entre 0,2 et 2 μm , qui est soit photosynthétique (picoplancton photosynthétique) soit hétérotrophe (picoplancton hétérotrophe) (fig 07). Certaines espèces sont également mixotrophes. Le picoplancton est responsable de la majorité de la productivité primaire dans les gyres oligotrophes et est différent du nanoplancton et du microplancton. Parce qu'ils sont petits, ils ont un rapport surface/volume plus important, ce qui leur permet d'obtenir des nutriments rares dans ces écosystèmes.

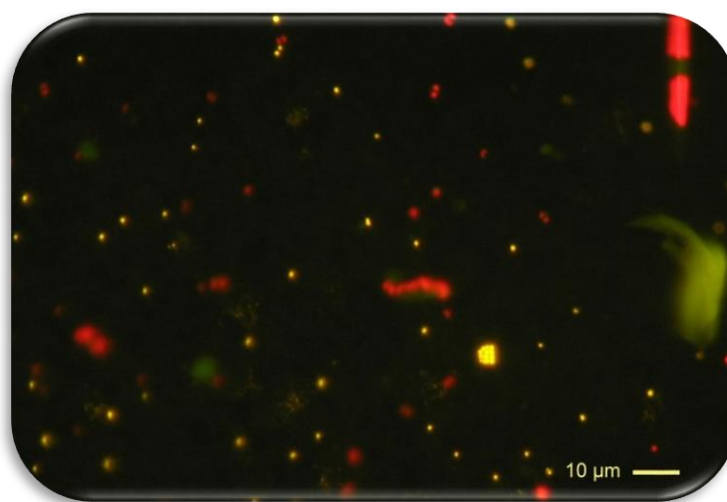


Fig 07 : Procaryotes vs. Eucaryotes : Picoplancton observé par microscopie à Épifluorescence (bio.Libretexte.org)

Les prochlorophytes sont un membre procaryote photosynthétique du groupe phytoplanctonique Picoplancton. Ces organismes oligotrophes sont abondants dans les eaux tropicales pauvres en nutriments et utilisent un pigment photosynthétique unique, la divinyl-chlorophylle, pour absorber la lumière et acquérir de l'énergie. Ces organismes manquent de pigments Phycobiline rouges et bleus et ont des thylakoïdes piqués, qui les rendent tous deux différents des Cyanophyta (Cyanobactéries). Les prochlorophytes ont été initialement découvertes en 1975 près de la Grande Barrière de Corail et au large des côtes du Mexique. L'année suivante, Ralph A. Lewin, de la Scripps Institution of Oceanography, les a assignées comme nouvelle sous-classe d'algues.

En plus de Prochlorophyta, d'autres phytoplanctons dépourvus de pigments Phycobiline ont été trouvés plus tard dans des lacs d'eau douce aux Pays-Bas, par Tineke Burger-Wiersma. Ces organismes ont été appelés Prochlorothrix. En 1986, *Prochlorococcus* a été découvert par Sallie W. Chisholm et ses collègues. Ces organismes pourraient être responsables

d'une part importante de la production primaire mondiale. Les prochlorophytes sont de très petits microbes généralement entre 0,2 et 2 μm (picoplancton photosynthétique). Ils ressemblent morphologiquement aux cyanobactéries, formellement connues sous le nom d'algues bleu-vert. Des membres de Prochlorophyta ont été trouvés sous forme de coccoïdes (sphériques), comme *Prochlorococcus*, et de filaments, comme *Prochlorothrix*.

L'abondance et l'écologie du picoplancton prochlorophyte sont bien établies à l'Atlantique Nord (Li et Wood, 1988 ; Neveux *et al.*, 1989 ; Olson *et al.*, 1990), mais ils sont beaucoup plus cosmopolites que cela. Grâce à l'analyse cytométrique de flux, ils ont démontré qu'ils sont aussi abondamment en Méditerranée (Vaulot *et al.*, 1990), et le Pacifique équatorial (Chavez *et al.*, 1991), L'Atlantique subtropical Nord (Veldhuis et Kraay, 1990), le bassin de Panama, le golfe du Mexique, les Caraïbes et du sud de la Californie (Chisholm *et al.*, 1988). Si la présence de « red-shifted » ou de la divinylchlorophylle *a* dans la colonne d'eau est indicateur de la présence de ces cellules, comme cela a été démontré pour la mer des Sargasses (Goericke, 1990) et l'Atlantique Nord (Veldhuis et Kraay, 1990), les prochlorophytes sont également en abondance dans l'Atlantique tropical (Gieskes et Kraay, 1983, 1986) et la mer de Banda (Gieskes *et al.*, 1988). Enfin, par inférence du ratio de pigments, Everitt *et al.* (1990) ont fourni des preuves de l'abondance des prochlorophytes dans l'Ouest tropical du Pacifique. Les cellules se trouvent généralement à des concentrations comprises entre 10^4 et 10^5 cells* ml^{-1} dans l'ensemble de la zone euphotique.

I.2.2.2. Les Eucaryotes : Ce sont des organismes uni ou pluricellulaires qui présentent une structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires : chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes, ... (Figure 8).

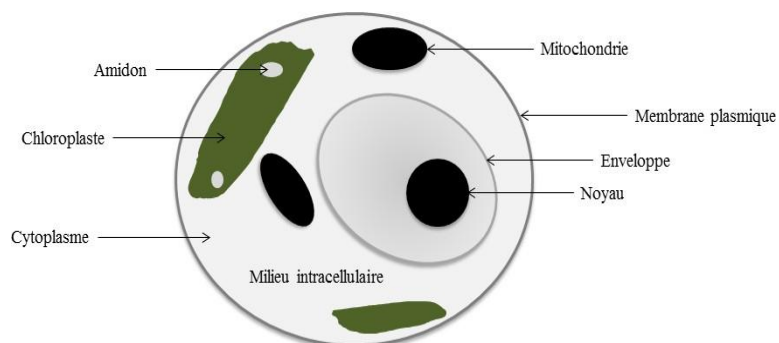


Fig 08 : Schéma d'une structure de microalgue unicellulaire (Dejoye, 2013)

➤ **Les Bacillariophytes** : appelées également les *Bacillariophycées* qui représentent le groupe majoritaire des diatomées et sont très répandues dans tous les types d'habitats. Plus de 100 000 espèces sont connues et il en existerait plus d'un million. Les *Bacillariophycées* sont unicellulaires et mesurent de 2µm à 1mm. Ils emmagasinent leurs réserves sous forme de *chrysolaminaran*, un polysaccharide, ainsi qu'en lipides. Ces espèces sont d'ailleurs reconnues pour leur contenu en acides gras et pendant plusieurs années, les scientifiques croyaient que les lipides représentaient leurs seuls composés de réserve. Les composants majeurs de ces lipides sont les triglycérides. Les microalgues telles que *Nitzschia sp.* Et *Navicula pelliculosa* (Fig 09) sont intéressantes pour la production de biocarburant en mode hétérotrophe grâce à leur taux élevé en acides gras (Chinnasamy *et al.*, 2010).



Fig 09 : Photographie d'une Bacillariophycée *Navicula*
(<http://www.plancton-du-monde.org>)

Ce 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).

➤ **Les Charophytes** : Les Mesostigmales comme les Chlorokybales sont des taxons monotypiques représentés respectivement par *Mesostigma viride* et *Chlorokybus atmophyticus* (fig 10). Ces deux algues sont unicellulaires et flagellées et ressemblent fortement à certaines Chlorophytes. Ainsi, leur position phylogénétique est-elle restée longtemps incertaine. Les phylogénies moléculaires récentes les relient aujourd'hui sans ambiguïté aux Charophytes

(Turmel et *al.*, 2007 ; Finet et *al.*, 2010).

Les premières Charophytes pluricellulaires appartiennent au groupe des Klerbsormidiales. Ce groupe comprend une trentaine d'espèces réparties dans deux genres (*Kolellia* et *Klerbsormidium*). Les Klerbsormidiales sont formées de courts filaments. Les Zygnématales, avec ses 4000 espèces réparties dans 54 genres, représentent le plus gros groupe des Charophytes (McCourt et *al.*, 2004). Leur structure peut être filamenteuse, contenant des chloroplastes organisés sous forme d'hélice comme chez *Spirogyra*, ou composées de deux cellules séparées par un isthme et entouré d'une paroi formant une structure très élaborée (Desmidiiales).

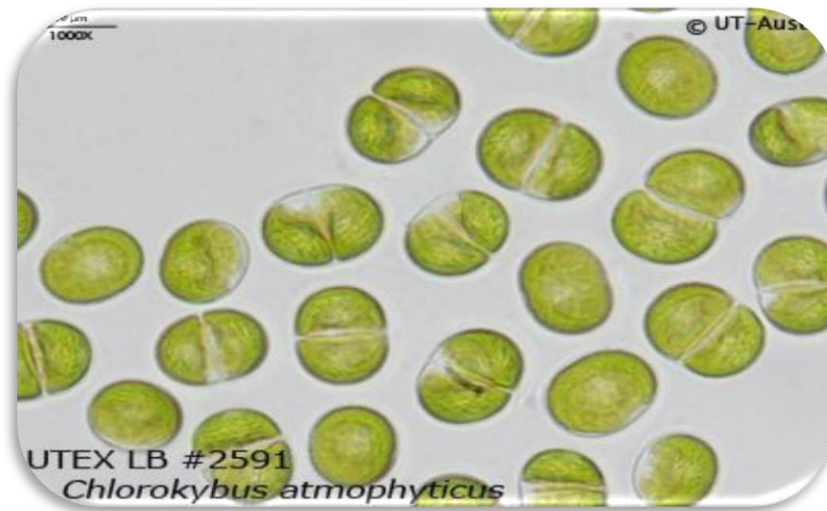


Fig 10 : *Chlorokybus atmophyticus* X100(utex.org)

➤ **Les 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.

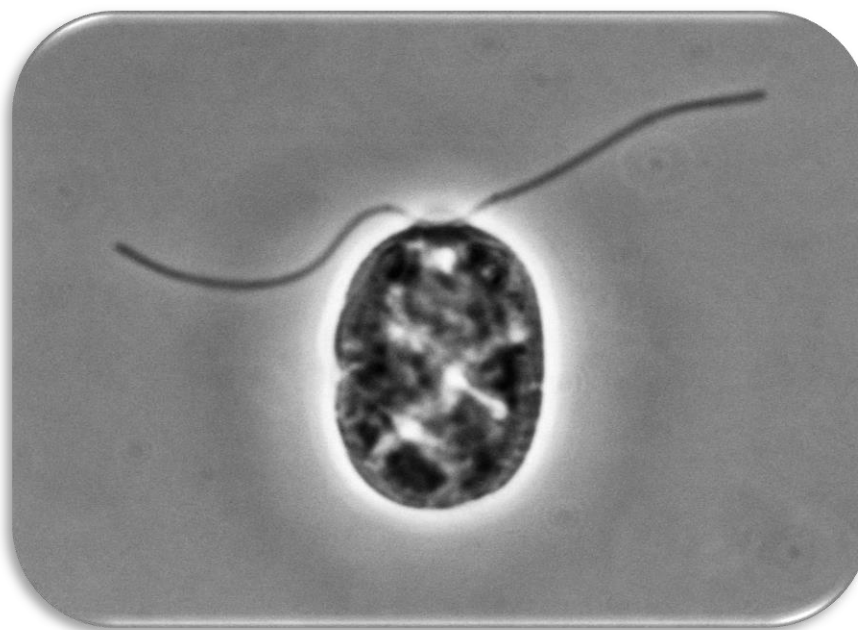


Fig 11 : Micrographie lumineuse de l'espèce d'algues vertes
Chlamydomonas reinhardtii X 2000(BIOPHOTO
ASSOCIATES)

Les Chlorophytes sont des algues vertes, majoritairement aquatiques bien que certaines comme *Pleurococcus* aient colonisé le milieu terrestre, réparties en quatre sous familles : les Prasinophyceae (e.g. *Ostreococcus*, *Micromonas*), les Trebouxiophyceae (e.g. *Chlorella*), les Ulvophyceae (e.g. *Ulva*) et les Chlorophyceae (e.g. *Chlamydomonas*, *Volvox*) (fig 11) (Becker & Marin, 2009). Si la majorité de ces algues sont unicellulaires, des formes pluricellulaires sont retrouvées chez les Ulvophyceae et les Chlorophyceae. Chez les Chlorophyceae, le cas de *Volvox* est particulièrement intéressant. En effet, cette algue se développe en colonie composée de cellules somatiques biflagellées (plusieurs milliers) et de quelques cellules germinales (± 16). Selon la théorie coloniale, cette algue a longtemps été considérée comme une forme intermédiaire de la pluricellularité. Le génome de *Volvox carteri*, récemment séquencé, ne présente pas plus de gènes que celui de l'algue Chlorophyceae unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii* suggérant que l'émergence et le maintien de la multicellularité, dans ce clade au moins, est lié au recrutement de gènes préexistants et non à l'émergence de nouvelles voies de régulation (Prochnik et al., 2010).

De plus, la pluricellularité n'est apparue que tardivement chez les Chlorophytes

suggérant une apparition indépendante de ce caractère chez les Chlorophytes et les Streptophytes. Le clade des streptophytes regroupe à la fois les plantes terrestres et les algues vertes d'eau douce, les Charophytes. Les Charophytes englobent six ordres d'algues vertes : les Mésostigmales, les Chlorokybales, les Klerbsormidiales, les Zygnématales, les Coléochaetales et les Charales.

➤ **Les 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 (Ittis, 1986).

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(fig12). 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).



Fig 12 : Photographie d'une Chrysophycée *Dinobryon*
(<http://www.microscopy-uk.org.uk>)

Ce groupe se divise en cinq classes d'après la classification ancienne qui n'est toujours pas stable à ce jour, cela est due à la diversité morphologique que physiologique des microalgues, ce dernier groupe se divise en quatre principales classes après la reclassification des Diatomées en un groupe à part. Elles se retrouvent surtout en eaux douces et on en compte environ 1000 espèces. Elles sont pourvues de chlorophylle a et c et de caroténoïdes jaunes. Elles ressemblent aux diatomées mais elles peuvent arborer plus de couleurs que ces dernières : du jaune au brun en passant par l'orange.

➤ **Les Pyrrophytes:** 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).

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 (fig14), et certains forment des parasites.

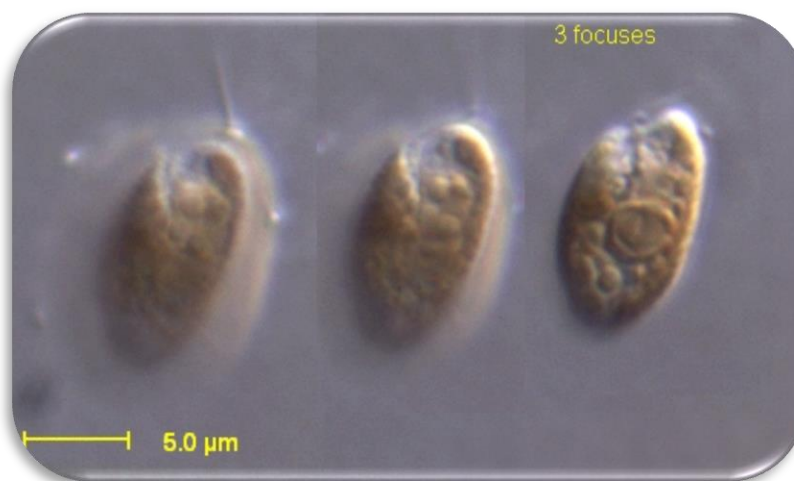


Fig 13 : *Rhodomonas Salina* Daniel Vaultot, CNRS, Station Biologique de Roscoff

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** : elles sont toutes unicellulaires, à fouets légèrement inégaux, insérés latéralement et dirigés dans le même sens, sortant d'un cytopharynx. Embranchement des Cryptophyta *Rhodomonas salina* (fig 13), Classe des Cryptophyceae sont des organismes vivants unicellulaires, photosynthétiques pour la plupart. Ce petit taxon (200 espèces) est relativement homogène et de nombreux caractères lui sont propres (*WoRS Cryptophyta* Cavalier-Smith, 1986).

Les Cryptophytes se rencontrent dans tous les types de milieux aquatiques : des milieux océaniques aux eaux douces en passant par les eaux interstitielles des milieux terrestres humides.

Certaines espèces sont devenues parasites intestinaux de métazoaires. Quelques-unes sont des endosymbiotes de Dinophytes. Certaines vivent de manière symbiotique dans l'ectoplasme des Radiolaires.

- **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 (fig 14).



Fig 14 : Micrographie optique d'un dinoflagellé *Ceratium tripos* (ERIC GRAVE) (Sciencesources.com)

➤ **Les 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).

Il existe près de 800 espèces d'Euglenophycées qui sont retrouvées généralement dans les eaux saumâtres et douces. Ces algues sont essentiellement constituées de *paramylon*, substance glucidique, et d'huile. Il est difficile de définir un mode de culture pour ces algues qui peuvent croître autant en milieu autotrophe qu'en milieu hétérotrophe notamment pour l'espèce *Euglena gracilis* (Fig 15). En absence de lumière, les Euglenophycées produisent une substance contenant des acides organiques, de l'acétate, de l'alcool et des sucres, possédant un réel intérêt pour la production d'acides gras. (Dejoye, 2013).



Fig 15 : *Euglena gracilis* X125(ABBAYE
MICHAEL)/Sciences Sources

➤ **Les Glaucophytes :** Les glaucophytes sont des petits flagellés d'eau douce, présents dans les plantes colorés en bleu par des pigments surnuméraires. Ils appartiennent à la même lignée que les algues rouges et vertes, mais en position basale. Cette lignée (Glaucophyta + Rhodophyta + Chlorobionta, c'est-à-dire le règne des Plantae ou Primoplastobiota) est caractérisée par des chloroplastes à deux membranes.

Les glaucophytes (glaucocystophytes ou glaucocystide) forment un minuscule groupe d'algues d'eau douce et terrestres se distinguant principalement par la présence de chloroplastes primitifs qui ressemblent étroitement aux cyanobactéries comme l'espèce *Glaucosystis nostochireanum* (fig 16) et retiennent une fine paroi peptidoglycane entre leurs deux membranes.

On pense que les algues vertes (à partir desquelles les plantes supérieures ont évolué), les algues rouges et les glaucophytes ont acquis leurs chloroplastes à partir de cyanobactéries endosymbiotiques. Les autres types d'algues ont reçu leurs chloroplastes par endosymbiose secondaire, en engloutissant l'un de ces types d'algues avec leurs chloroplastes.

Les glaucophytes présentent un intérêt évident pour les biologistes qui étudient le développement des chloroplastes : si l'hypothèse selon laquelle les chloroplastes primaires avaient une seule origine est correcte, les glaucophytes sont étroitement liés à la fois aux plantes vertes et aux algues rouges, et peut être similaire au type d'algue d'origine à partir duquel toutes ces algues se sont développées.



Fig 16 : *Glaucosystis nostochireanum* (Aquaportail.com)

➤ **Les 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 bleue-verte, rouge-violacée, très souvent vert pale ou vert noirâtre. Il n'existe pas des formes flagellées (fig 17) .

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.

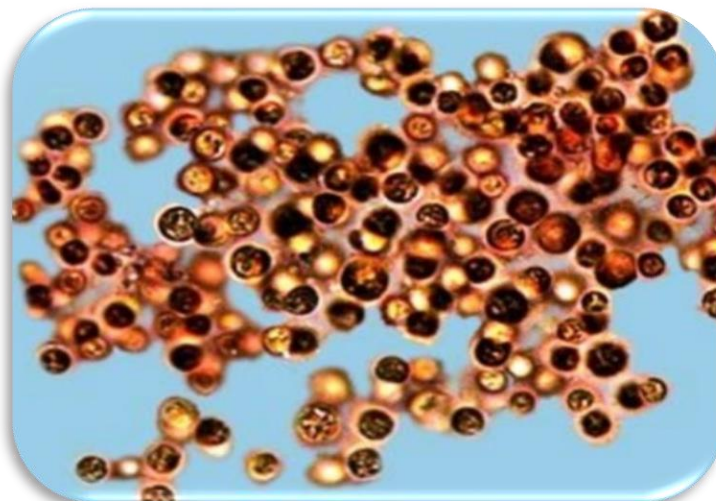


Fig 17 : Photographie d'une Rhodophycée *Rhodospirillum rubrum*
(<http://www.ecosociosystemes.fr>)

1.2. Les Microalgues

Les microalgues sont des organismes microscopiques unicellulaires photosynthétiques qui se développent dans les milieux fortement aqueux et sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone (CO_2) en un ensemble de produits organiques. On utilise le terme « micro » car la taille d'une micro-algue varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres (Dejoye, 2013).

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.

Les microalgues, ou algues microscopiques, composent le phytoplancton et sont à la base de la chaîne alimentaire marine. Elles flottent en pleine eau et leur taille varie, selon les espèces de quelques micromètres (μm) à quelques centaines de μm . Elles sont utilisées en aquaculture où elles sont à la base de l'alimentation de nombreux animaux d'élevage, comme les bivalves filtreurs. Elles leur apportent les vitamines et les acides gras polyinsaturés nécessaires à leur développement, qu'ils ne savent pas synthétiser eux-mêmes.

L'existence des microalgues et plus précisément des cyanobactéries remontent à plus de trois milliards d'années. En utilisant l'énergie solaire, elles produisirent de l'oxygène qui s'accumula lentement dans l'atmosphère primitive, atmosphère hostile riche en gaz carbonique et en méthane. L'enrichissement en oxygène de l'atmosphère primitive conduisit à la création de la couche d'ozone, qui protège la Terre des rayonnements solaires ultraviolets, et provoqua des modifications du climat et de la composition de la croûte terrestre. Ces changements ont ainsi permis une colonisation des continents par de nouvelles formes de vie animale et végétale (Dejoye.2013).

Une microalgue 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.

Les microalgues sont des organismes photosynthétiques qui se développent en suspension principalement dans des solutions aqueuses, et qui sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone le dioxyde de carbone ou « CO_2 » en un ensemble de matières organiques ou « biomasse » (Wen and Johnson, 2009).

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 (Encyclopédia Universalis)

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).

Une cellule de microalgues mesure de quelques microns à plusieurs centaines de microns. Le cytoplasme est séparé du milieu extracellulaire par une membrane plasmique. Certaines espèces présentent des structures pariétales plus ou moins complexes qui vont recouvrir cette membrane. Les parois des cyanobactéries, sont identiques à celles des bactéries Gram-négative, à savoir un peptidoglycane. Bon nombre de microalgues Eucaryotes exhibent en revanche une diversité remarquable de structures pariétales (Sialve et Steyer, 2013).

Les microalgues utilisées depuis longtemps comme source alimentaire au Tchad ou en Amérique latine (la Spiruline est en fait une cyanobactérie souvent assimilée à une microalgue), 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.

Les microalgues eucaryotes et procaryotes ont en commun la photosynthèse oxygénique. Cette réaction assure la transformation du carbone inorganique en énergie chimique en captant l'énergie lumineuse. C'est dans le chloroplaste que se réalise cette

conversion (Sialve et Steyer, 2013).

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 production de microalgues est en forte augmentation à travers le monde. La production annuelle est estimée à 6 000 tonnes par an de matière sèche (Pulz, 2001). La culture des microalgues à grande échelle peut être conduite selon deux modes, soit à l'aide de bassins ouverts à haut rendement, le raceway ou dans une enceinte transparente fermée utilisant la lumière naturelle ou artificielle, le photo-bioréacteur.

La courbe de croissance de la production mondiale des microalgues entre 1975 et 2000 est exponentielle passant de moins de 5 tonnes à 3 500 tonnes. En 2004, la production mondiale

de microalgues 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 microalgues cultivées, la production mondiale plafonne à 10 000 tonnes chaque année. Cette valeur reste négligeable en comparaison à celle de la production mondiale de macroalgues (15 millions de tonnes).

Les espèces de microalgues 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).

1.2.1. Diversité de familles et d'espèces des microalgues

Peuplant les eaux douces comme marines, les microalgues présentent une diversité plus grande que celle de toutes les plantes terrestres. Il existerait sur le globe au moins 200 000 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 microalgue 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 microalgues 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 de la chlorophylle 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 (Sylvie ,2008).

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 (Sylvie ,2008).

Les plantes aquatiques, souvent appelées macrophytes, sont des plantes visibles à l'œil nu ayant la capacité de vivre dans l'eau ou aux abords des plans d'eau. Il existe quatre catégories de plantes aquatiques ayant des caractéristiques physiques différentes.

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.

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.

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 (Sylvie ,2008).

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 (Sylvie ,2008).

Retenons ainsi que les algues sont pour la plupart 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 (Sylvie ,2008).

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 (Sylvie,2008).

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 (Sylvie ,2008).

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 (Sylvie ,2008).

Le monde des Characées ne s'offre pas au premier quidam venu. Derrière leur aspect parfois visqueux et filandreux, leur odeur quelquefois nauséabonde (*Chara vulgaris*, l'espèce la plus commune de cette famille dans le monde, a aussi porté à juste titre le nom de *Chara foetida*), leur difficulté d'accès et leur relative discrétion, se cache une beauté insoupçonnée. Ce n'est qu'après les avoir récoltées, nettoyées et, éventuellement, désincrustées de leur gangue calcaire, que l'on peut enfin admirer, sous la loupe binoculaire, la diversité et l'originalité de leur structure. Bien qu'un certain nombre de caractères soient visibles dans la nature, il est souvent nécessaire, pour en connaître l'identité, de rapporter chez soi un échantillon de ces plantes délicates. L'observateur est alors subjugué par la vivacité des couleurs des gamétanges arrivés à maturité, par la robe de mucilage pouvant les entourer, par les axes hérissés d'acicules de certaines espèces, ou par les bulbilles blanches, organes de reproduction végétative en étoiles, en ballonnets ou en forme de fraise, caractéristiques de certaines espèces.

1.4. 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.

La physiologie des microalgues peut être variable même au sein de la même espèce, dans des conditions environnementales ou des conditions de culture différentes, c'est une forme

d'adaptation à la condition.

1.5. 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 microalgues 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)

1.6. Habitat

Les microalgues occupent la plupart des niches écologiques. Si elles sont surtout présentes dans les environnements aquatiques, elles ont su également coloniser les sols et une vaste gamme de supports comme les rochers, les arbres ou encore les édifices architecturaux (Macedo *et al.*, 2009). Preuve de leur diversité d'habitats, certaines microalgues se développent dans les eaux de fonte de la glace ou de la neige et on les rencontre également dans les déserts arides à semi-arides. L'atmosphère constitue également un environnement dans lequel une diversité notable de microalgues eucaryotes et de cyanobactéries est signalée (Sharma *et al.*, 2007). Enfin, cette capacité à coloniser l'ensemble de la biosphère est une propriété qui, comme pour les bactéries non photosynthétique, leur permet de se développer dans des conditions dites « extrêmes ». C'est grâce à l'absence de structure complexe autre que la cellule et à un métabolisme orienté principalement vers la production d'énergie que les microalgues ont cette capacité à être notablement ubiquistes (Falkowski et Raven, 1997).

85 % des biotopes de la terre présentent des conditions de températures inférieures à 5°C (Margensin et Miteva, 2011). Ces milieux hébergent une diversité remarquable de microorganismes photosynthétiques psychrophiles. Parmi ceux-ci, nous citerons par exemple *Chlamydomonas nivalis*, responsable des colorations rouges sur les neiges qui présente en outre

une résistance aux radiations UV du fait d'une accumulation d'asthaxanthine dans son cytoplasme. A l'inverse, dans des conditions thermophiles, la cyanobactérie *Synechococcus* est capable de croître dans les sources d'eau chaude (60-80°C), par ailleurs alcalines. Dans des sources chaudes (38-57°C) et acides (pH 0,5-2,5), les microalgues rouges *Cyanidioschyzon*, *Cyanidium* et *Galdieria* sont les seules représentantes des Eucaryotes identifiées à ce jour capables de se développer. Parmi les espèces acidophiles, *Dunaliella acidophila* croît dans une gamme de pH de 0 à 3 (Assunção *et al.*, 2011). Dans cette vaste classe des Chlorophyceae, *Dunaliella salina*, exploitée massivement pour la production de β carotène et de glycérol, a la particularité de croître dans des conditions hypersalines proches de la saturation.

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.

A l'instar des bactéries et archae, l'adaptation à ces conditions environnementales particulières mobilise des propriétés métaboliques qui recèlent un intérêt et des enjeux potentiels en biotechnologie (Pulz et Gross, 2004).

1.7. Reproduction

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).

Les microalgues 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 microalgues 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 silicatée 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).

1.8. 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 macroalgues 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 macroalgues (dont 13,5 Mt de culture) et 7 à 10 000 tonnes de microalgues (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 eu 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).

La diversité des microalgues et leur plasticité métabolique font de ce groupe d'organismes un réservoir de composés d'intérêt nouveaux et favorise la diversification des voies de valorisation. Le nombre de publications dans le domaine des applications industrielles des microalgues a fortement augmenté au cours de cette dernière décennie ainsi que les créations d'entreprises. A titre d'exemple, le marché mondial de la microalgue du genre

Chlorella représentait en (2006) 38 milliards de dollars (Spolaore *et al.*, 2006). Certaines espèces sont déjà produites dans le monde et valorisées dans différents domaines (Tableau 2). Selon les applications, la biomasse peut être utilisée dans sa globalité ou faire l'objet d'extraction de composés à hautes valeurs ajoutées. Tout d'abord, la nutrition humaine représente une première voie de commercialisation des microalgues utilisées comme compléments alimentaires pour leur composition riche en protéines, acides gras polyinsaturés (DHA acide docosahexaénoïque et EPA acide eicosapentaénoïque), vitamines, sels minéraux ou comme colorant naturel (Spolaore *et al.*, 2006). Ces propriétés nutritionnelles sont également intéressantes en nutrition animale et notamment en aquaculture. (Benemann 1992, Borowitzka 1997, Marchetti *et al.*, 2012). Leur teneur en stérols est également importante pour le bon développement des stades larvaires de bivalves par exemple (Cardozo *et al.*, 2007). Ensuite, en cosmétologie, des métabolites d'intérêts spécifiques issus de microalgues présentent des activités valorisables et notamment anti-âge, hydratante, de protection solaire ou encore pour le soin des cheveux par exemple (Spolaore *et al.*, 2006). Ces organismes représentent également des sources de nouveaux médicaments en santé humaine. Certaines molécules possèdent des propriétés intéressantes comme par exemple des activités immunostimulantes, antitumorales, ou encore contre l'hypercholestérolémie (Skulberg 2000, Cardozo *et al.*, 2007, Amaro *et al.*, 2011).

D'autres voies d'applications potentielles des microalgues sont aujourd'hui sérieusement considérées et intéressent particulièrement les industriels. L'exploitation des microalgues dans le domaine des bioénergies présente un fort potentiel avec la raréfaction des énergies fossiles. Celles-ci accumulent de manière importante des composés carbonés utilisables comme carburant après extraction (Cadoret & Bernard, 2008). De plus, le rendement de production d'acides gras à l'hectare pour la production de bioénergie peut être 30 fois supérieur chez les algues relativement aux plantes supérieures oléagineuses (Cadoret & Bernard, 2008).

Les microalgues quant à elles ne pèsent aujourd'hui que 10 mille tonnes par an en culture contrôlée, c'est-à-dire en dehors des microalgues 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).

Tableau 2: Les organismes photosynthétiques et le marché mondial d'après **1-Spolaore et al.**, 2006, **2-Larkum et al.**, 2012, **3-Marchetti et al.**, 2012 et **4-Borowitzka et al.**, 1997) (-) =non renseigné.

Espèce produite	Production annuelle	Pays producteur	Applications ou produits	Ref
<i>Arthrospira</i>	3000 t (MS)	Chine, Inde, USA, Myanmar, Japon	Nutrition humaine, animal cosmétiques, Phycobiliprotéines	1
<i>Chlorella</i>	2000 t (MS)	Taiwan, Allemagne, Japon	Nutrition humaine, aquaculture, cosmétiques	1
<i>Dunaliella salina</i>	1200 t (MS)	Australie, Israël, USA, Chine	Nutrition humaine, cosmétiques, β -carotène	1
<i>Aphanizomenon flosaquae</i>	500 t (MS)	USA	Nutrition humaine	1
<i>Haematococcus pluvialis</i>	300 t (MS)	USA, Inde, Israël	Aquaculture, Astaxanthine	1
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	240 t DHA (huile)	USA	DHA	1
<i>Shizochytrium</i>	10 t DHA (huile) -	USA	DHA	1
<i>Botryococcus braunii</i>	-	-	Huiles	2
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	-	-	Huiles, hydrogène, méthane	2
<i>Ostreococcus tauri</i>	-	-	Huiles	2
<i>Pavlova lutheri</i>	-	-	Aquaculture, acides gras	2,4
<i>Synechocystis sp.</i>	-	-	Huiles, isoprènes	2
<i>Isochrysis affinis galbana (T-iso)</i>	-	-	Aquaculture, acides gra	3,4
<i>Chaetoceros muelleri</i>	-	-	Aquaculture	4
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	-	-	Aquaculture	4
<i>Skeletonema costatum</i>	-	-	Aquaculture	4
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	-	-	Aquaculture	4
<i>Tetraselmis spp.</i>	-	-	Aquaculture	4
<i>Nannochloropsis spp.</i>	-	-	Aquaculture	4
<i>Nitzshia spp.</i>	-	-	Aquaculture	4
<i>Navicula spp.</i>	-	-	Aquaculture	4

D'autres études ont analysé la possibilité de produire de l'énergie sous forme de biogaz directement par les cellules (Hydrogène) ou par fermentation (méthane) de la biomasse algale (Sialve et al., 2009, Mussgnug et al., 2010, Larkum et al., 2012). Malgré le fort potentiel de cette voie de valorisation en bioénergie, certains verrous technologiques et scientifiques évoqués dans la littérature restent à lever avant l'application à échelle industrielle (Cadoret & Bernard 2008, Scott et al., 2010, Collet et al., 2011). Enfin, la phycoremédiation représente une voie d'application de plus en plus étudiée et reflète la volonté de concevoir des procédés écologiquement responsables. L'utilisation des microalgues comme agent biologique dépolluant d'effluents liquides ou gazeux, urbains ou industriels permettrait en effet de réduire les pollutions environnementales (De Godos et al., 2010, Sydney et al., 2010, Park et al., 2010).

1.8.1. Composition biochimique

Les besoins nutritifs des microalgues sont similaires à ceux des plantes supérieures (Becker, 1994). Redfield (1934) a proposé une composition élémentaire C:N:P de 106:16:1. Cette composition est relativement constante dans le milieu naturel. Défini par Vonshak (1986) le milieu de culture devra satisfaire les besoins en éléments majeurs (ou macroéléments) C, H, N, O, P, S et en microéléments encore appelés éléments traces. Le tableau suivant (Tableau 3) indique des ordres de grandeurs pour les éléments majeurs constitutifs des microalgues.

Tableau 3 : Eléments majeurs constitutifs des microalgues (Sialve et Steyer, 2013)

Elément	Composition cellulaire µg/mg du poids sec	Elément	Composition cellulaire µg/mg du poids sec
C	176-650	Mg	0,5-75
O	205-330	Fe	0,2-34
H	29-100	Zn	0,005-1
N	10-140	Mn	0,02-0,24
Na	0,4-47	Si	0-230
K	1-75	B	0,001-0,25
P	0-80	Mo	0,0002-0,001
S	1,6-16	Cu	0,006-0,3
		Co	0,0001-0,2

Les microalgues 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 microalgues 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 microalgues est une des principales raisons pour les considérer comme une source non conventionnelle de protéines dans l'alimentation humaine et animale (pisciculture) (Sassi, 2011).

Enfin, le fractionnement biochimique se répartit suivant 4 familles de molécules : protéines, lipides, sucres et acides nucléiques (Tableau 4). Cette composition dépend des espèces et des conditions de culture et de la disponibilité du gaz carbonique et des nutriments N, P.

Tableau 4 : Répartition de la Composition biochimique d'une cellule de microalgue

Compartiment	Fonction	Ordre de grandeur (% massique)
Protéines	Structure et métabolisme	40-60
Lipides	Structure et réserve énergétique	5-60
Sucres	Structure et réserve énergétique	8-30
Acides Nucléiques	Support, vecteur et régulateur de l'information génétique	5-10

Le carbone est le constituant majeur des microalgues (Van den Hende et *al.*, 2012). Si, vis-à-vis de cet élément, la plupart des microalgues mobilisent un métabolisme exclusivement photoautotrophe (utilisation de lumière comme source d'énergie et du carbone inorganique), d'autres présentent un métabolisme hétérotrophe (utilisation du carbone organique en absence

de lumière) voire mixotrophe (métabolismes photoautotrophe et hétérotrophe conjugués), simultanément ou séquentiellement (Bumbak et *al.*, 2011 ; Becker, 1994).

Dans le cas du métabolisme photoautotrophe, le carbone inorganique pourra être introduit dans la culture sous forme gazeuse (CO₂) ou directement dans le milieu de culture sous la forme de carbonate (HCO₃⁻). Par rapport à d'autres mélanges gazeux (d'origine industrielle), l'air est relativement peu concentré en CO₂ (de l'ordre de 390 ppmv) et un apport supplémentaire va favoriser une croissance non limitée par le carbone et permettre d'atteindre des productivités plus importantes. Les effluents gazeux industriels issus de combustion constituent un gisement en carbone inorganique intéressant d'un point de vue économique et environnemental. En considérant que le carbone compte pour 50 % de la biomasse sèche des microalgues, nous pouvons en effet calculer, à partir de la stœchiométrie de la photosynthèse, que 1,8 g de CO₂ permettra de produire environ 1 g de biomasse sèche (Sialve Et Steyer , 2013).

La mixotrophie se définit comme la capacité des organismes à assimiler à la fois du carbone inorganique et du carbone organique. Le taux de croissance spécifique global sera sensiblement égal à la moyenne des taux de croissance obtenu dans les deux types trophiques. Cette propriété métabolique avantageuse est exploitée dans les filières industrielles de production de microalgues et de co-produits à haute valeur ajoutée (Lee, 2004).

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*.

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 écloséries à la fin des années 1970 (Laura, 2011). Les microalgues 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).

La culture de microalgues est soumise à l'influence de plusieurs paramètres environnementaux physiques ou biologiques qui sont dépendants des caractéristiques intrinsèques de l'espèce algale et de la géométrie du système de production. Ces paramètres affectent non seulement l'activité photosynthétique et la productivité en biomasse, mais également le comportement physiologique et métabolique des microalgues dans la culture (Richmond, 2004). Ce sont la lumière, la température, le pH, la salinité, les éléments nutritifs, la concentration de l'oxygène dissous et la présence d'éléments toxiques (Kumar et al., 2010).

D'autres paramètres liés au fonctionnement hydrodynamique du réacteur, tels que le temps de séjour, la vitesse du transfert gazeux et le degré d'homogénéité du milieu, peuvent jouer sur la disponibilité des nutriments et de l'énergie lumineuse (Kumar et al., 2010).

Dans certains cas, micro- et macroalgues 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 microalgue

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 Plantensis*) 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.

Depuis des millénaires, macroalgues et microalgues sont récoltées pour un usage alimentaire. Utilisée par les Mayas, la Spiruline est par exemple encore récoltée et consommée par les habitants des bords du lac Tchad. Si certains pigments sont utilisés comme colorants alimentaires (β -carotène, phycobiliprotéines), la contribution à la nutrition humaine des sociétés modernes reste essentiellement confinée à la nutraceutique (Milledge, 2011).

Le phytoplancton en tant que producteur primaire des milieux aquatiques est par ailleurs tout « naturellement » exploité comme ressource nutritive pour l'aquaculture (Spolaore et al., 2006). Dans cette filière majeure de la production mondiale, les microalgues sont utilisées directement pour subvenir aux besoins des stades larvaires des mollusques bivalves et des crustacés (Muller-Feuga et al., 2003) ou indirectement comme complément alimentaire et comme substrat pour le zooplancton, base alimentaire de nombreuses espèces aquacoles. A l'exception de la Spiruline, la faible digestibilité de ces cellules, due à une paroi pseudo-cellulotique, rend toutefois difficile la consommation de cette ressource protéique par les animaux terrestres (Becker, 1994)

A l'instar des plantes supérieures, un certain nombre de métabolites d'intérêt sont

extraits de la dizaine d'espèces exploitées industriellement à l'heure actuelle. Parmi ceux-ci, les caroténoïdes sont utilisés comme antioxydants (Astaxanthine) et comme colorants à usage alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (β -carotène, phycobiliprotéines) (Sialve et Steyer, 2013).

Les lipides constituent également une très large classe de molécules que la plupart des microalgues peuvent accumuler dans d'importantes proportions de leur poids sec. Les acides gras polyinsaturés – qui dans le milieu naturel se retrouvent concentrés dans les organismes marins en position inférieure dans la chaîne trophique – appartiennent à la classe des oméga-3 et oméga-6 comme les DHA et EPA. Egalement, des molécules élaborées par des diatomées, dinoflagellées et cyanobactéries font l'objet de travaux de recherche car elles présentent des propriétés anticancéreuses (Folmer et *al.*, 2010). D'autres composés aux propriétés antifongiques, antibactériennes, antivirales et antihistaminiques comptent également parmi les molécules à intérêt pharmaceutique.

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 CO₂ anthropique dans l'objectif premier de traiter ce CO₂. 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 CO₂ en sortie d'usine par les microalgues. Il arguait que la rentabilité pouvait être plus rapidement atteinte en couplant la fixation du CO₂ 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

La lumière solaire est la forme d'énergie la plus abondante et la plus distribuée sur terre. Ce flux continu constitue la ressource énergétique qui va permettre l'incorporation du carbone dans les biomasses photosynthétiques. A l'échelle de la terre, le flux carboné issu de ce métabolisme est presque équitablement réparti entre le phytoplancton et les plantes supérieures (Falkowski et Raven, 2007). Lors de son trajet du soleil vers la surface terrestre, le spectre lumineux est partiellement absorbé en traversant l'atmosphère pour atteindre une énergie de l'ordre de 1000 W.m². La chlorophylle « a » est le pigment le plus utilisé pour intercepter cette énergie et présente deux pics maximaux d'absorption à respectivement 400-450 et 650-700 nm (Fig 18).

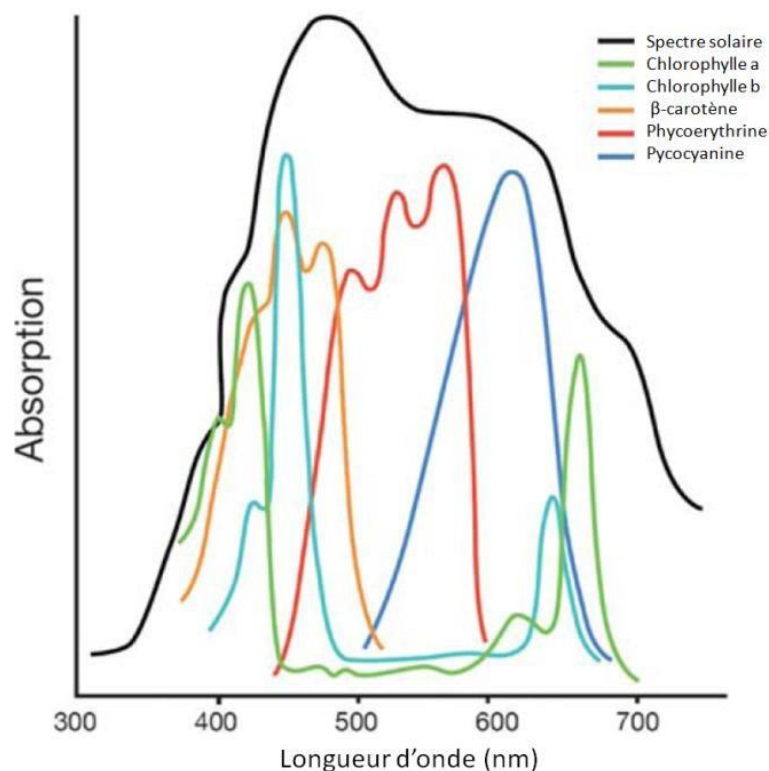


Fig 18 : Comparaison des spectres d'absorption de la chlorophylle et des pigments accessoires par rapport au spectre solaire (Williams et Laurens, 2010)

L'efficacité photosynthétique se définit comme la fraction de l'énergie solaire convertie en énergie chimique par les organismes photosynthétiques. En considérant (i) qu'une mole de CO_2 assimilée et convertie en sucre simple a un pouvoir calorifique de 475 KJ et (ii) que cette conversion requiert 10 photons (8 photons utilisés et 2 perdus au cours de la réaction, soit 10×217 KJ) et enfin (iii) que seul 45 % du spectre peut être capté par les pigments photosynthétiques, le rendement théorique de la photosynthèse est de l'ordre de : $475/2170 \times 45\%$, soit environ 10 % (Sialve et Steyer, 2013).

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 là 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 (Cadoret & Bernard, 2008).

Cependant, l'efficacité photosynthétique mesurée dans les systèmes de production en conditions extérieures s'étend de 2 % pour les procédés de culture les plus « simples » à presque 7 % pour des procédés particulièrement optimisés (Béchet et *al.*, 2013). Cette différence et la grande disparité observée dans la littérature est imputable à de nombreux facteurs : efficacité du transfert radiatif (diffusion atmosphérique, transmission dans la cellule), conditions de cultures (température, apport de CO₂, concentration en O₂ et présence d'autres inhibiteurs), turbulences et contaminations biologiques éventuelles (Williams et Laurens, 2010). Dès lors, la projection de l'efficacité synthétique vers une productivité surfacique doit inviter à une extrême prudence. Ce fait est soumis à une controverse déterminante. En effet, les enjeux associés aux perspectives économiques autour du potentiel – toutefois avéré – de ces organismes motivent des extrapolations du laboratoire à la production de masse qui se révèlent risquées (Walker, 2009).

1.9.5. Les microalgues comme ressource énergétique

La production d'énergie à partir de microalgues est sans aucun doute le moteur de

l'engouement et des activités de recherches croissantes mobilisées autour du potentiel offert par ces organismes depuis le début du XXI^{ème} siècle. A l'instar des gisements de biomasses mobilisés dans les filières bioénergies, et du fait d'une expression phénotypique métabolique identique aux plantes supérieures, les travaux portant sur la valorisation énergétique des microalgues concernent pour l'essentiel les mêmes filières (Fig 19). D'autres voies sont également explorées, comme la production directe d'hydrogène et l'utilisation de ces organismes dans des piles microbiennes.

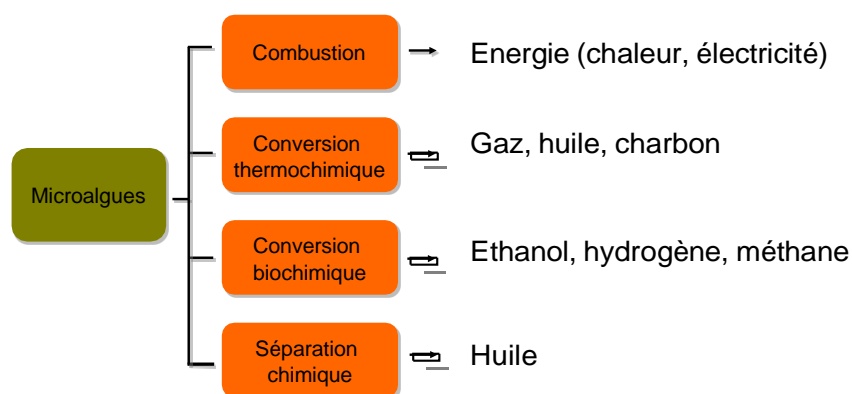


Fig 19 : Les quatre principaux processus de valorisation énergétique de la biomasse de microalgues

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 5). Il faut noter qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de démonstrateur industriel permettant de valider de tels taux.

Tableau 5 : Comparaison de diverses sources possibles de biodiesel (Chisti, 2007).

Type de culture	Productivité théorique d'huile (L/ha)
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

A titre illustratif, la biomasse sèche peut servir à produire de l'énergie par combustion directe (Kadam, 2002). Liquéfaction, pyrolyse ou hydrogénation de ces organismes permettent de produire un biocarburant gazeux ou une « huile » brute par conversion thermochimique (Mac Kendry, 2002 ; Miao et Wu, 2004). Méthane et éthanol peuvent être produits par conversion biochimique à partir respectivement de toute la biomasse ou de la fermentation des sucres accumulés dans la cellule (Sialve et *al.*, 2009). Cette filière de conversion permet également de produire de l'hydrogène par fermentation de tout ou partie de la cellule (Carver et *al.*, 2011 ; Mussnug et *al.*, 2010).

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 Algeria). 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. Le projet Partisano Biotech Algeria, avec 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 a été 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 regrouper trois grands groupes industriels

deux Algériens (groupe des sociétés Hasnaoui (Sodéa), Groupe Dennouni(Sinal) et une Société Espagnol Partisano Bioteck et des laboratoires de recherches universitaires locaux et étrangers.

Ce projet prend corps sur le constat que l'énergie est moins coûteuse que l'autre rive de la méditerranée et que les zones littorales humides présentent un écosystème particulièrement favorable au développement de l'algoculture. Malheureusement le projet a été abandonné après le départ du partenaire espagnol et du directeur technique de la société et que le groupe Hasnaoui a jugé que le projet n'est pas bénéfique à court terme, après le départ de l'équipe scientifique.

Les partenaires du projet PBA s'attachent à démontrer la faisabilité technico-économique d'une filière de production et valorisation des microalgues natives 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 Sociétés Hasnaoui) à Sidi Bel Abbas. Cet outil, devrait permettre l'étude de la production des différentes souches de microalgues et la valorisation de la biomasse en aliment de bétail, aliments aquacoles, produit pharmaceutique, complément nutritif pour humain et la cosmétique.

A l'instar de ce projet d'autres projets similaires ont été déployés à travers le territoire algérien afin de subvenir au besoin exponentiel du marché surtout en termes de Spiruline.

Chapitre 2

Présentation des zones d'étude

La question de l'environnement occupe aujourd'hui une place éminente dans l'agenda international, notamment en raison de ses relations complexes aux sociétés humaines, de la globalisation des menaces qui pèsent sur ses grands équilibres et des nécessaires et salutaires réponses que nous imposent sa grande vulnérabilité (DGF, 2016).

Élément singulier d'un environnement qui embrasse l'ensemble de la planète, les zones humides présentent la même vulnérabilité : leurs fonctions écologiques essentielles sont altérées, leur valeur économique, culturelle, scientifique et récréative lourdement affectée et leur existence sérieusement menacée (DGF, 2016).

En Algérie, les zones humides – qui représentent des infrastructures naturelles où l'eau est le facteur déterminant - sont indispensables, voire vitales, en raison des services écosystémiques qu'elles procurent. Réservoir d'eau douce dans un pays au climat sec et à la sécheresse récurrente et plus ou moins intense, les zones humides sont, en effet, d'un apport important en biens et services liés à la biodiversité, permettent de maîtriser les crues, rechargent les nappes souterraines et concourent à l'atténuation des effets du changement climatique (DGF, 2016).

Et parce que leur rôle de régulateur du régime des eaux est menacé, qu'elles risquent de ne plus être les habitats précieux d'une flore et d'une faune caractéristiques, les zones humides font l'objet de la conservation nationale articulée à des actions internationales conçues et mises en œuvre dans le cadre de la Convention Ramsar, ratifiée par l'Algérie en 1982 (DGF, 2016).

2.I.1. Généralités sur les zones humides

Selon la « Convention relative aux zones humides d'importance internationale particulièrement comme habitats des oiseaux d'eau », ou Convention de Ramsar (Iran, 1971), « les zones humides sont des étendues de marais, de fagnes, de tourbières ou d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres »(manuel de la convention de Ramsar, 2006).

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 (manuel de la convention de Ramsar, 2006).

Ces espaces de vie ont une très grande valeur et offrent de nombreux services écosystémiques « tels que la biodiversité, l'approvisionnement en eau, l'épuration de l'eau, la régulation du climat, la maîtrise des crues, la protection des littoraux, des fibres utiles, l'inspiration culturelle et spirituelle et le tourisme. » (INCN, 2021).

Les zones humides constituent cependant des écosystèmes fragiles en raison, notamment, des activités anthropiques et des effets néfastes du changement climatique.

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 (Le manuel de la convention de Ramsar, 2013).

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.

Les zones humides sont les écosystèmes les plus productifs, les plus riches en biodiversité malgré leur faible place sur la planète. Mais elles sont aussi les plus menacées de destruction. Leur disparition entraînera une réduction dramatique de la biodiversité, mais aussi des inondations et une perturbation inquiétante du cycle de l'eau. L'eau, dont la canicule de l'été a montré qu'elle était une ressource indispensable mais pouvant être rare (Le manuel de la convention de Ramsar, 2013).

Les archéologues avancent que l'association étroite entre l'homme et les zones humides, est fort ancienne. Les objets découverts dans les sols détrempés du monde entier, illustrent l'utilisation intensive que l'homme faisait des zones humides, et témoignent de la richesse immense des ressources naturelles de ces zones humides, qui ont fait vivre des populations humaines pendant des millénaires. De nos jours, dans tous les pays, des communautés maintiennent encore ces liens étroits, et leurs activités quotidiennes sont rythmées par les cycles des zones humides (Saifouni, 2009).

Naturellement, cette relation entre les zones humides et l'homme, ne s'arrête pas à la

valeur des ressources naturelles ou des services vitaux que fournissent les zones humides, elle comprend le riche patrimoine culturel, qui à évolué depuis très longtemps ; il est temps que la communauté qui se préoccupe de la conservation et de l'utilisation rationnelle des zones humides, accorde a ce patrimoine toute l'attention qu'il mérite (Le manuel de la convention de Ramsar, 2002).

2.I.1.1. Définition d'une zone humide

Définition d'une zone humide au sens de la convention de Ramsar :

Au sens de la convention de Ramsar, autrement dit :

1. Une zone humide est une région où l'eau est le principal facteur, qui contrôle le milieu naturel et la vie animale et végétale associées. Elle apparaît là où la nappe phréatique arrive près de la surface ou affleure, ou encore, là où des eaux peu profondes, recouvrent les terres (Le manuel de la convention de Ramsar, 2002).

2. Une zone humide c'est aussi toute zone de transition entre les systèmes terrestres et aquatiques où la nappe phréatique est proche de la surface du sol, ou dans laquelle cette surface est recouverte d'eau peu profonde, de façon permanente ou temporaire ;

3. Enfin, on entend par zone humide, des terrains exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre, de façon permanente ou temporaire ; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année (Saifouni, 2009).

2.I.1.2. Caractéristiques générales des zones humides

Une zone humide est caractérisée par :

- Le degré de la salinité de l'eau, celle-ci peut être douce, saumâtre ou salée ;
- Le niveau d'eau (élevé, faible et variable) ;
- La durée de submersion : une zone humide peut être permanente ou temporaire ;
- Présence ou absence de végétation hygrophile ;
- Composée d'espèces adaptées à la submersion ou aux sols saturés d'eau ;
- La nature de la zone humide (naturelle / artificielle) ;
- La stabilité de l'eau dont les zones humides continentales comprennent :
 - Eaux dormantes : étangs, lacs, lagunes, mares, retenues collinaires et barrages ;
 - Eaux courantes : fleuves, rivières, ruisseaux et leurs sources ;
- Zones inondables et / ou hygromorphes : bois marécageux, forêts alluviales ou humides, aulnaies, roselières, saulaies, marécages, prairies alluviales ou humides, ripisylves, plaines et

vallées alluviales.

2.I.1.3. Composition d'une zone humide

En général, les milieux humides se composent de trois parties, la première comprend des terres hautes, soit des zones sèches qui abritent des arbres, des plantes herbacées et de nombreux autres types de végétation. La deuxième partie est constituée d'une bande riveraine, il s'agit d'une lisière de terre et de végétation entre les terres hautes et les zones d'eau de faible profondeur. La troisième partie d'un milieu humide est la zone aquatique, celle-ci peut être profonde et comporter une grande superficie d'eau libre, ou elle peut être peu profonde, sans aucune étendue d'eau libre, on y trouve des joncs, des carex et une grande variété de plantes aquatiques (fig 20) (Saifouni, 2009).

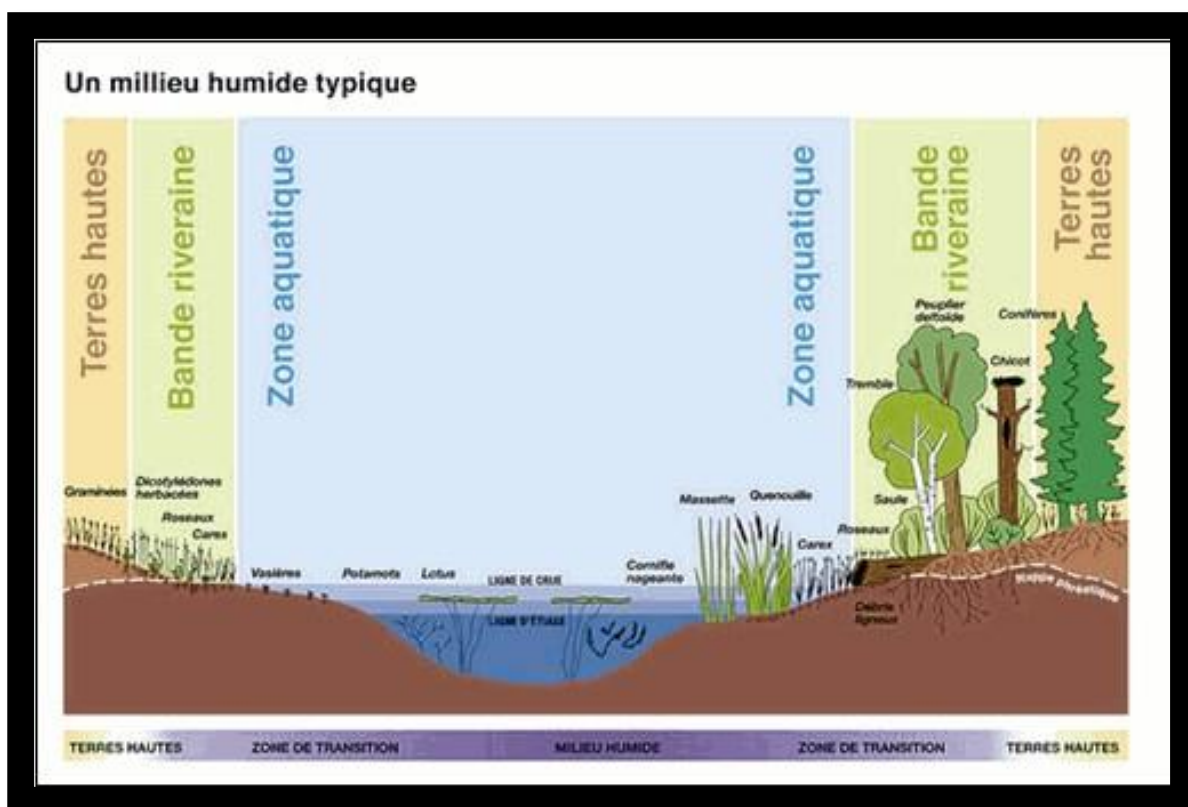


Fig 20 : Composition d'une zone humide (Saifouni, 2009).

Les milieux humides font partie d'un bassin versant, qui est l'ensemble d'un territoire drainé par un cours d'eau et ses affluents. Ces derniers sont de vastes systèmes hydrologiques au sein desquels l'eau s'écoule vers une même rivière, un même lac ou un même océan (Saifouni, 2009).

2.I.1.4. Types de zones humides

Un milieu humide peut être de nature organique ou minérale, le sol des milieux humides organiques comporte une grande quantité de tourbe ou de matière végétale, les milieux humides minéraux comportent beaucoup d'eau, très peu de tourbe et moins de végétation que les milieux humides organiques.

a- Les milieux humides organiques

Les milieux humides organiques renferment beaucoup moins d'eau libre que les milieux humides minéraux. En général, les milieux humides organiques sont des écosystèmes moins productifs que les milieux humides minéraux. L'eau dans ces habitats, n'interagit pas beaucoup avec les sols et c'est pourquoi elle est pauvre en nutriments.

b- Les milieux humides minéraux

Les milieux humides minéraux se caractérisent par des sols riches en minéraux et une vie animale et végétale abondante. Les eaux libres, qui proviennent de différentes sources (eaux souterraines, précipitations, ruissellement, par exemple), attirent une faune très variée. Les milieux humides minéraux sont des systèmes très productifs. Les eaux libres, souvent riches en nutriments, abritent de nombreuses espèces végétales et animales, dont des insectes et des poissons. D'autres animaux, comme les Oies, les Canards et d'autres espèces de sauvagine migratrice, ont également besoin de l'eau libre de ces habitats (Saifouni, 2009).

2.I.1.5. Fonctionnement des zones humides

a) Espace et fonctionnalité d'une zone humide

Toute zone humide exerce un effet sur son environnement, notamment par la dynamique de l'eau et de la végétation. Cet effet a des conséquences positives pour la collectivité.

Un milieu humide fonctionne différemment selon la façon dont il interagit avec les habitats environnants, en particulier selon la façon dont l'eau entre et sort, et selon la profondeur de l'eau.

L'alimentation en eau des milieux humides provient de différentes sources :

- l'eau souterraine ;
- la pluie ;
- l'eau de ruissellement provenant de la fonte des neiges et des précipitations ;
- les ruisseaux.

Les zones humides absorbent l'eau provenant de nombreuses sources différentes durant les périodes de précipitations, et elles la libèrent lentement au cours des périodes plus sèches. Ces habitats contribuent ainsi à réduire les inondations, à atténuer les effets des sécheresses et à recharger les nappes phréatiques.

L'eau qui s'écoule vers un milieu humide à partir d'un terrain plus élevé doit passer par des terres hautes et des bandes riveraines.

Une fois que l'eau a atteint la zone aquatique, son niveau peut varier. Certains milieux humides, sont inondés en permanence, tandis que d'autres ne le sont que durant certaines périodes de l'année.

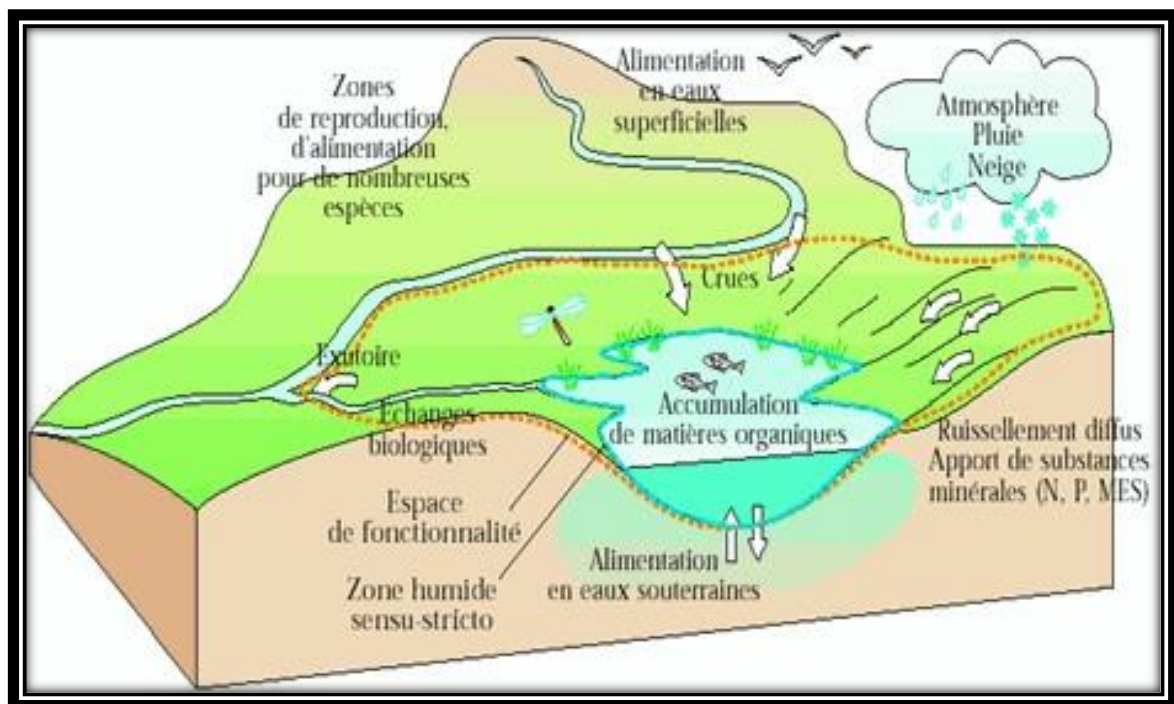


Fig 21 : Une zone humide et son espace de fonctionnalité (Saifouni, 2009).

Le fonctionnement hydrologique des zones humides peut être décrit par l'intermédiaire du bilan de l'eau (ensemble des entrées et des sorties d'eau). Ce bilan conditionne la saturation en eau du sol et le développement d'espèces végétales et animales spécifiques. Les apports en eau indispensables au bon fonctionnement des zones humides proviennent des précipitations et des écoulements de surface et souterrains.

Toute modification de la dynamique des écoulements de surface par des travaux de terrassement, d'endiguement, de canalisation ou de drainage peut donc remettre en cause le

bilan hydrique des zones humides. La compréhension du fonctionnement des zones humides nécessite donc d'élargir l'échelle d'analyse aux terrains environnants et plus généralement à l'ensemble du bassin versant.

Si le bilan de l'eau est déterminant, le bon fonctionnement des zones humides ne doit pas être uniquement réduit à la question de l'eau. Le fonctionnement biologique de ces écosystèmes à très forte productivité est très dépendant de leur connectivité au sein du paysage.

b) Rôles et utilité des zones humides

Les zones humides sont des écosystèmes dont les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques rendent un nombre de services irremplaçables et cela gratuitement et de façon durable.

b.1. Rôles physiques et hydrologique

- Les zones humides retardent et diminuent les débits de crues.
- En retardant les étiages, elles maintiennent la vie des rivières.
- Elles favorisent le rechargement des nappes phréatiques.
- En plaine, elles constituent les champs naturels d'expansion des crues.
- Elles favorisent un microclimat local tempéré.
- Elles contiennent les forces érosives des écoulements de surface.

b.2. Rôle filtrant et chimique

- La structure des sols et la végétation fixent les particules diluées ou en suspension : sédiments, nitrates, métaux lourds...
- L'activité bactérienne dégrade les polluants organiques présents dans les eaux de ruissellements.
- Les zones humides sont des pièges à carbone fonctionnels (plusieurs tonnes à l'hectare).

b.3. Rôle biologique

- Les zones humides sont reconnues comme les écosystèmes terrestres les plus riches et les plus productifs :
- Avec seulement 3 % du territoire français, elles abritent 30 % des espèces menacées dont 50% des oiseaux ;

- Sur des surfaces dix fois moins importantes que les zones agricoles et forestières voisines, elles présentent une diversité d'habitats naturels bien supérieure.
- Les zones humides sont nécessaires au cycle de reproduction de nombreuses espèces : amphibiens, oiseaux...
- Elles constituent un élément structurant des trames vertes et bleues.

b.4. Intérêt patrimonial

- **Intérêt scientifique** : En conservant en profondeur, des pollens, des diatomées, des restes de végétaux et d'animaux, des charbons de bois, elles constituent des archives naturelles qui permettent de reconstituer l'évolution des paysages, des sociétés humaines et l'histoire des climats.
- **Intérêt paysager** : Les atteintes portées au paysage (banalisation, dégradation) ont révélé que les zones humides pouvaient être ancrées dans la mémoire, les pratiques et les valeurs collectives et ainsi constituer un patrimoine culturel et identitaire.
- **Intérêts culturels et historiques** : La mise en valeur traditionnelle des marais a généré un ensemble de pratiques spécifiques dont la mémoire est digne d'être conservée : récolte de la blache, vannerie, artisanats divers, etc.
- **Espèces et habitats patrimoniaux** : Le caractère remarquable de la flore et de la faune qui y survivent, souvent lié à leur rareté, confère aux zones humides une fonction patrimoniale renforcée.

b.5. Ressources économiques passées et présentes

Au-delà de la protection des sols, des paysages et surtout de la ressource en eau, les zones humides produisent des sols, des végétaux et des animaux qui ont pu au cours de l'histoire, ou peuvent encore, être exploités par l'homme. Elles ont souvent constitué un complément aux activités agricoles (fourrage lors des périodes sèches, blache pour le paillage des vignes, chaume et argile pour la construction traditionnelle, tourbe, produits de la pêche, osiers, ressources médicinales comme les plantes et les sangsues.

Toutefois, ces fonctions de ressource doivent aujourd'hui être restreintes aux usages qui ne remettent pas en cause l'intégrité de la zone humide, c'est-à-dire la production de fourrage ou les surfaces de pâturage qu'elles offrent.

2.I.2. Les zones humides en Algérie

Les zones humides méditerranéennes regroupent une grande variété d'habitats naturels : deltas des fleuves, lacs et marais (eau douce, saumâtre ou salée), rivières permanentes ou oueds, forêts inondables des bordures de fleuves, oasis ou bien salines et lacs de barrage (Boubekeur, 2021).

La diversité biologique de la région méditerranéenne est exceptionnellement élevée du fait de sa situation entre trois continents, sa géologie, son climat varié et la richesse de ses habitats (Boubekeur, 2021).

Les zones humides méditerranéennes abritent une diversité d'espèces animales et végétales endémiques dont beaucoup sont rares et menacées. Elles accueillent également d'importantes populations d'oiseaux. On estime à deux milliards les oiseaux migrateurs de 150 espèces qui les utilisent comme sites étapes, pendant leur migration entre l'Eurasie et l'Afrique, pour nicher ou hiverner (Boubekeur, 2021).

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).

L'Algérie se caractérise par une importante diversité de paysages, d'habitats et d'écosystèmes, parmi lesquels, on trouve les zones humides (Saifouni .2009).

La partie Nord-Est de l'Algérie, une des plus arrosées du pays, renferme deux complexes lacustres d'eau douce, de marais de ripisylves, et de plaines d'inondation particulièrement importantes de par leur superficie, alors que la frange Nord-Ouest, soumise à un régime pluviométrique moins important, se caractérise surtout par des plans d'eau salés. Les Hautes plaines et les plaines steppiques, situées à l'intérieur des terres, se caractérisent par une pluviométrie très faible, accentuée par une sécheresse estivale très prononcée, renferment principalement des Chotts et des Sebkhass, des lacs salés continentaux de très faible profondeur qui, sur le plan quantitatif, constituent le type de zone humide le plus important d'Algérie. Plus au Sud, dans la zone désertique, caractérisée par une très faible pluviométrie, existe un réseau hydrographique fossile extrêmement ramifié représenté en

surface par des lits d'oued et des Oasis. Enfin, dans les grands massifs montagneux de l'Atlas Saharien, se trouvent de nombreuses autres zones humides appelées Guelta, qui sans doute, constituent des sites importants pour l'avifaune traversant le Sahara (DGF, 2001).

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).

Les zones humides algériennes, siège donc d'une biodiversité remarquable, abritent une trentaine d'espèces de poissons d'eau douce et 786 espèces de plantes aquatiques. Ces milieux, malgré leurs énormes services écologiques et économiques parfaitement reconnus aujourd'hui, n'échappent malheureusement pas à une dynamique de destruction sans pareille, qui menace l'existence d'un nombre élevé d'espèces floristiques et faunistiques (DGF, 2004).

Les zones humides algériennes, y compris celles d'importance internationale, ont fait l'objet de quelques études avifaunistiques, marquant leurs intérêts pour les oiseaux d'eau (Jacobs et Ochando, 1970 et Scott, 1980 in Chalabi, 1990).

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, 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. Sebkheth 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 et cela le 18 décembre 2009, vue l'importance des zones humides dans le cycle de l'eau, l'Algérie a encore inscrit trois autres sites comme zones humides d'importance

international ce qui porte le nombre final a 50 cites(Tableau 6). Oum Lâaguareb (36° 49' 23" N- 8° 11' 53" E) dans la wilaya de Tarf a l'extrême est Algérien d'une superficie de 729 ha .Le Lac du barrage de Boughezoul (35° 41' 56" N-2° 47' 35" E) dans la wilaya de Medea d'une superficie de 9058 ha , et enfin l'île de Rachgoun (35° 19' 19" N-1° 28' 48" O) dans la wilaya d'Ain témouchent a l'ouest Algerien d'une superficie de 66 ha (fig 22).

Tableau 6 : Liste des sites Ramsar en Algérie (Wikipedia.org)

Numéro du site Ramsar	Site Ramsar	Wilaya	Date D'inscription	Superficie Km ²	Altitude	Coordonnées
1	Réserve intégrale du lac Oubeïra	El Tarf	4 novembre 1983	22,00	25 - 28	36° 50' 49" nord, 8° 23' 13" est
2	Réserve intégrale du lac Tonga	El Tarf	11 avril 1983	27,00	2 - 4	36° 51' 22" nord, 8° 30' 04" est
3	Réserve naturelle du lac des Oiseaux	El Tarf	22 mars 1999	1,20	10	36° 46' 55" nord, 8° 07' 26" est
4	Chott ech Chergui	Saïda	2 février 2001	8 555,00	985 - 1 000	34° 16' 08" nord, 0° 33' 25" est
5	Chott el Hodna	M'Sila, Batna	2 février 2001	3 620,00	390 - 400	35° 26' 06" nord, 4° 41' 53" est
6	Chott Merouane et oued Khrouf	El Oued	2 février 2001	3 377,00	-40 - 40	33° 53' 28" nord, 6° 10' 34" est
7	Grande Sebkhia d'Oran	Oran	2 février 2001	568,70	80 - 110	35° 31' 30" nord, 0° 47' 13" ouest
8	Complexe de zones humides de la plaine de Guerbès-Sanhadja	Skikda, El Tarf	2 février 2001	421,00	0 - 190	36° 52' 48" nord, 7° 18' 04" est

9	Vallée d'Iherir	Illizi	2 février 2001	578,9186	1 100 - 1 400	25° 19' 34" nord, 8° 28' 48" est
10	Gueltates d'Issakarassène	Tamanrasset	2 février 2001	351,00	2 000	23° 23' 20" nord, 5° 42' 43" est
11	Marais de la Macta	Mascara	2 février 2001	445,00	0 - 9	35° 38' 53" nord, 0° 06' 18" ouest
12	Oasis d'Ouled Saïd	Adrar	2 février 2001	254,00	238 - 301	29° 26' 46" nord, 0° 17' 53" est
13	Oasis de Tamantit et Sid Ahmed Timmi	Adrar	2 février 2001	957,00	252 - 282	27° 45' 29" nord, 0° 19' 37" ouest
14	Aulnaie de Aïn Khiair	El Tarf	4 juin 2003	1,80	0 - 3	36° 47' 56" nord, 8° 18' 58" est
15	Chott Zahrez Chergui	Djelfa	4 juin 2003	509,85	827 - 840	35° 12' 58" nord, 3° 31' 59" est
16	Chott Zahrez Gharbi	Djelfa	4 juin 2003	522,00	827 - 840	34° 56' 02" nord, 2° 48' 07" est
17	Chott Melhir	El Oued, Biskra , Khenchela	4 juin 2003	5 515,00	-35 - -9	34° 15' 11" nord, 6° 30' 43" est
18	Grotte karstique de Ghar Boumâaza	Tlemcen	6 avril 2003	200,00	1 070	34° 40' 55" nord, 1° 22' 26" ouest
19	Gueltates Afilal	Tamanrasset	6 avril 2003	209,00	2 100	23° 08' 42" nord, 5° 43' 34" est
20	Lac de Fetzara	Annaba	4 juin 2003	120,00	10 - 40	36° 47' 17" nord, 7° 30' 32" est
21	Cirque de Aïn Ouarka	Naâma	6 avril 2003	23,50	1 058	32° 43' 59" nord, 0° 10' 01" est

22	Marais de la Mekhada	El Tarf	6 avril 2003	89,00	0 - 1	36° 47' 06" nord, 8° 00' 29" est
23	Oasis de Moghrar et de Tiout	Naâma	4 juin 2003	1 955,00	970 - 1 033	32° 41' 53" nord, 0° 24' 11" ouest
24	Réserve Naturelle du Lac de Béni-Bélaïd	Jijel	4 juin 2003	6,00	2 - 3	36° 52' 44" nord, 6° 06' 29" est
25	Réserve naturelle du lac de Réghaïa	Alger	6 avril 2003	8,42	4 - 35	36° 47' 06" nord, 3° 20' 35" est
26	Tourbière du lac Noir	El Tarf	6 avril 2003	0,05	15	36° 51' 18" nord, 8° 12' 25" est
27	Chott Aïn El Beïda	Ouargla	12 décembre 2004	68,53	142 - 146	31° 58' 52" nord, 5° 19' 16" est
28	Chott El Beïdha-Hammam Essoukhna	Sétif, Batna	12 décembre 2004	122,23	874 - 887	35° 55' 16" nord, 5° 49' 08" est
29	Chott Oum El Raneb	Ouargla	12 décembre 2004	71,55	126	32° 02' 20" nord, 5° 23' 31" est
30	Chott Sidi Slimane	Ouargla	12 décembre 2004	6,16	50	33° 17' 31" nord, 6° 02' 53" est
31	Chott Tinsilt	Oum El Bouaghi	12 décembre 2004	21,54	792	35° 52' 44" nord, 6° 28' 34" est
32	Dayet El Ferd	Tlemcen	12 décembre 2004	33,23	1 075 - 1 550	34° 29' 56" nord, 1° 14' 24" ouest
33	Garaet Annk Djemel et El Merhsel	Oum El Bouaghi	12 décembre 2004	181,40	830 - 844	35° 47' 38" nord, 6° 48' 25" est
34	Garaet El Taref	Oum El Bouaghi	12 décembre 2004	334,60	809 - 830	35° 40' 55" nord, 7° 07' 55" est
35	Garaet Guellif	Oum El Bouaghi	12 décembre 2004	240,00	840 - 860	35° 47' 24" nord, 6° 58' 52" est

36	Lac de Télamine	Oran	12 décembre 2004	23,99	50 - 220	35° 44' 10" nord, 0° 22' 59" ouest
37	Réserve intégrale du lac Mellah	El Tarf	12 décembre 2004	22,57	-6 - 0	36° 53' 46" nord, 8° 19' 26" est
38	Salines d'Arzew	Oran, Masca ra	12 décembre 2004	57,78	60 - 339	35° 41' 28" nord, 0° 19' 23" ouest
39	Oglat Ed Daïra	Naâma	12 décembre 2004	234,30	1 140	33° 18' 07" nord, 0° 54' 04" ouest
40	Sebkha de Bazer	Sétif	12 décembre 2004	43,79	910 - 917	36° 02' 56" nord, 5° 41' 02" est
41	Sebkhet El Hamiet	Sétif	12 décembre 2004	25,09	898 - 902	35° 54' 58" nord, 5° 33' 32" est
42	Sebkhet El Melah	Ghardaïa	12 décembre 2004	189,47	367 - 478	30° 30' 22" nord, 2° 55' 34" est
43	Garaet Timerganine	Oum El Bouaghi	18 décembre 2009	14,60	843	35° 39' 58" nord, 6° 57' 07" est
44	Marais de Bourdim	El Tarf	18 décembre 2009	0,59	15 - 16	36° 48' 00" nord, 8° 15' 11" est
45	Sebkha Ezzemoul	Oum El Bouaghi	18 décembre 2009	67,65	786 - 800	35° 52' 34" nord, 6° 33' 00" est
46	Lac Boulhilet	Oum El Bouaghi	18 décembre 2009	8,56	795 - 843	35° 43' 55" nord, 6° 46' 12" est
47	Vallée de l'oued Soummam	Béjaïa	18 décembre 2009	124,53	170 - 1 890	36° 36' 11" nord, 4° 45' 43" est
48	Oum Lâagareb	El Tarf	5 juin 2011	7,29	17	36° 49' 23" nord, 8° 11' 53" est
49	Lac du barrage de Bougezoul	Médéa	5 juin 2011	90,58	630 - 650	35° 41' 56" nord, 2° 47' 35" est

50

Île de Rachgoun

Aïn
Témouchent

5 juin 2011

0,66

68

35° 19' 19" nord,
1° 28' 48" ouest

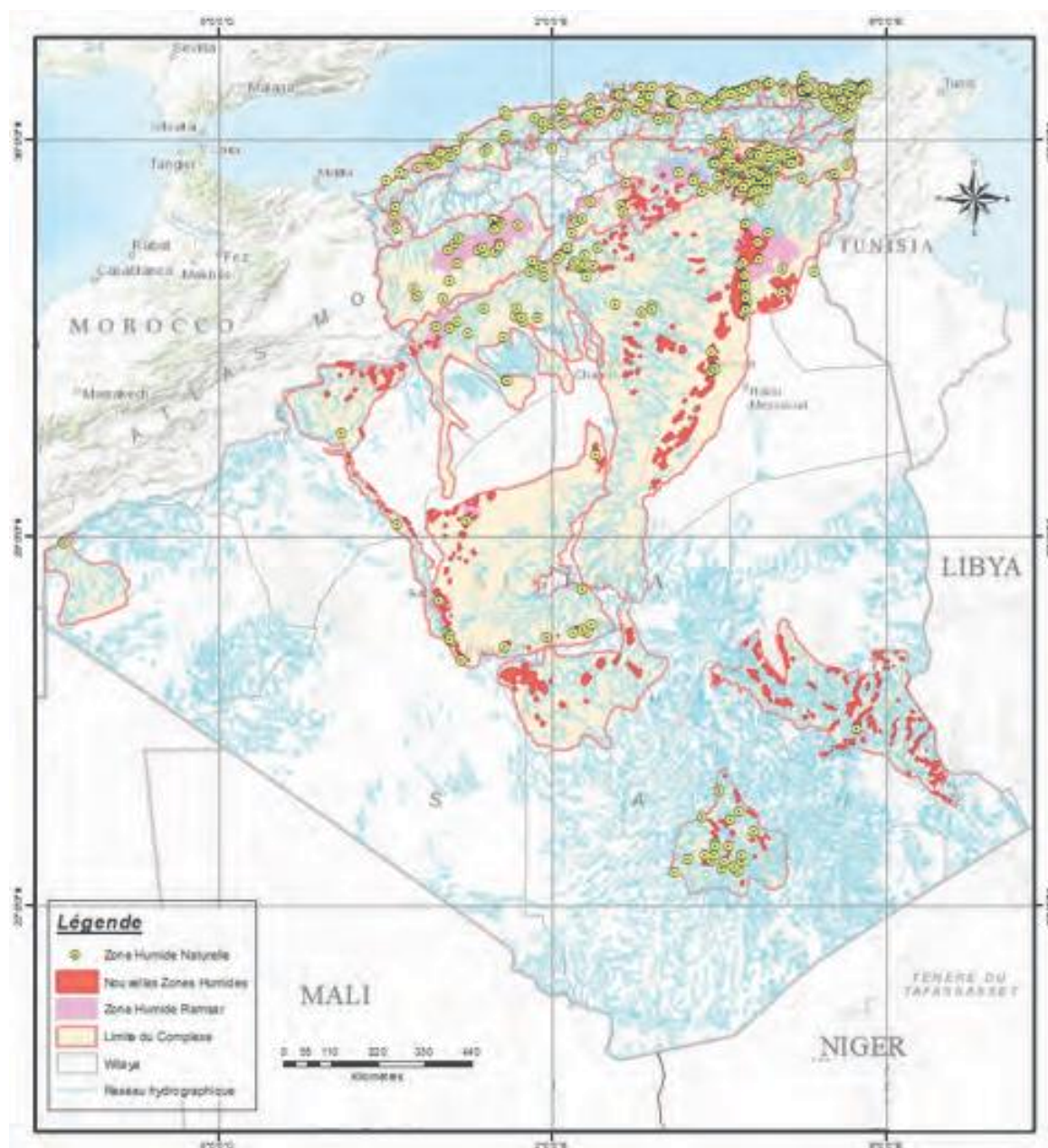


Fig 22 : Carte des complexes et sous complexes des zones humides(DGF, 2016)

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. Aujourd'hui, nous savons que les zones humides jouent un rôle important dans les processus vitaux, entretenant des cycles hydrologiques et accueillant une flore importante, des poissons et des oiseaux migrateurs. Pourtant, tout comme les forêts tropicales, de nombreuses menaces pesant sur elles, les zones humides sont détruites à un rythme sans précédent. Elles sont privées de leur eau par des pompages excessifs ou par la construction de barrages, elles sont même complètement drainées au profit de l'agriculture. Durant la colonisation, cela a été le cas pour de nombreuses zones humides en Algérie, le lac Haloulla dans la Mitidja, qui a totalement disparu, ou les marais de la Macta, le lac de Fetzara et le lac Tonga qui ont subi plusieurs tentatives d'assèchement heureusement échouées. Récemment, le lac des oiseaux, le lac noir et le marais d'El Kennar ou Em'Ridj ont fait l'objet de tentatives d'assèchement. Le lac noir est sec depuis de nombreuses années. De nombreuses zones humides sont le réceptacle à ciel ouvert des rejets d'eaux usées. Le marais de la Macta a été retenu comme réceptacle pour le dépôt des boues " non polluantes " selon une récente étude d'impact, issues du désenvasement du barrage de Fergoug. Enfin, la Sebkhia d'Oran fait l'objet d'une " étude d'aménagement " pour être le réceptacle, après traitement, des eaux usées de la ville d'Oran et des agglomérations environnantes. (DGF ,2004)

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. Aujourd'hui, avec les nouvelles connaissances, le nombre de zones humides dépasse le millier si l'on inclut oueds, grottes, oasis, daya, et zones côtières, non comprises dans le premier inventaire. (DGF ,2004)

2.II.1. Présentation de la zone d'étude

2.II.1.1. Présentation générale de la Salines d'Arzew

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 (Boumezeur, 2005).

Le site fait partie de la wilaya d'Oran, daïra de Bethioua et de la commune de Boufatis, la superficie du site est de 5.778 ha situé entre la latitude 35°40'00'' et une longitude de 0°17'30''(Fig 22), présente une physionomie monotone d'habitats peu diversifiés caractérisant en

général les milieux salés (Fig 23), il fait partie des zones humides de l'ouest algérien. Ce complexe accueille de grands effectifs d'oiseaux migrateurs pendant toute la période d'hivernage ou uniquement aux passages en migration (Conservation des Forêts, Oran, 2017).



Fig 22 : Image satellitaire des salines d'Arzew, wilaya d'Oran (Google earth, 2021).



Fig 23 : Les salines d'Arzew, wilaya d'Oran (Kerfouf, 2020).

2.II.1.2. Ecologie de la zone d'étude

Le site joue un rôle important dans la recharge, le renouvellement et l'alimentation des nappes phréatiques. Les eaux de ruissellement favorisent le captage des sédiments et la prévention contre l'érosion hydrique.

Ce site accueille 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.

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 le plus abondant est *Artemia salina* (fig 24) (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 dangereuse (Hassaine, 2014), Ils sont aussi caractérisés par des espèces pionnières (Tremblin, 2000). Ces espèces peuvent jouer un rôle important dans le réseau trophique locorégional (El Madani, 1998) et notamment attirer une importante avifaune aquatique (Baaziz , 2012) .



Fig 24 : *Artémia Salina* (©Doukani, 2020).

2.II.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 » (Le manuel de la Convention de Ramsar, 2013).

Les salines d'Arzew appartiennent aux catégories des zones humides continentales, et correspondent à une Sebkhah ou lac salé, saisonnier (Fig 25).



Fig 25 : Vue globale des Salines d'Arzew (©Doukani, 2020).

2.II.1.3.1. Critères de Ramsar pour la Classification des salines d'Arzew et leur justification

Le texte de la Convention de Ramsar (Article 2.2) 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

. 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 (Manuel de la Convention de Ramsar, 2013) (DGF, 2004).

❖ 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) (DGF, 2004).

2.II.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).

2.II.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) (DGF, 2004).

B. Caractéristiques écologiques

Le site présente une physionomie monotone d'habitats peu diversifiés caractérisant en général les milieux salés (fig 26), il fait partie du complexe de zones humides de l'ouest algérien qui englobe principalement la Sebkha 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) (DGF, 2004).



Fig 26 : Les Salines d'Arzew Desséché (©Doukani, 2021).

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 par les effectifs qu'elles présentent, il s'agit du Flamant rose (*Phoenicopterus ruber roseus*) (fig 27 et fig 28) et du Tadorne de Belon (*Tadorna tadorna*) (tableau N°7). Les Limicoles constituent un grand groupe dont le nombre en hivernage ou en passage est souvent très important. 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 nombre élevé de rapaces est justifié par le plan d'eau et les vastes étendues de cultures qui l'entourent. Le site héberge également un nombre important de passereaux et familles apparentées de granivores et d'Alaudidés, Colombidés et de Laniidés (Tableau.8 et 9), beaucoup plus inféodées aux cultures et autres milieux environnants qu'au plan d'eau (DGF, 2004).



Fig 27 : Une Volée de Flamant Rose (*Phoenicopterus ruber roseus*)(©Doukani, 2020)

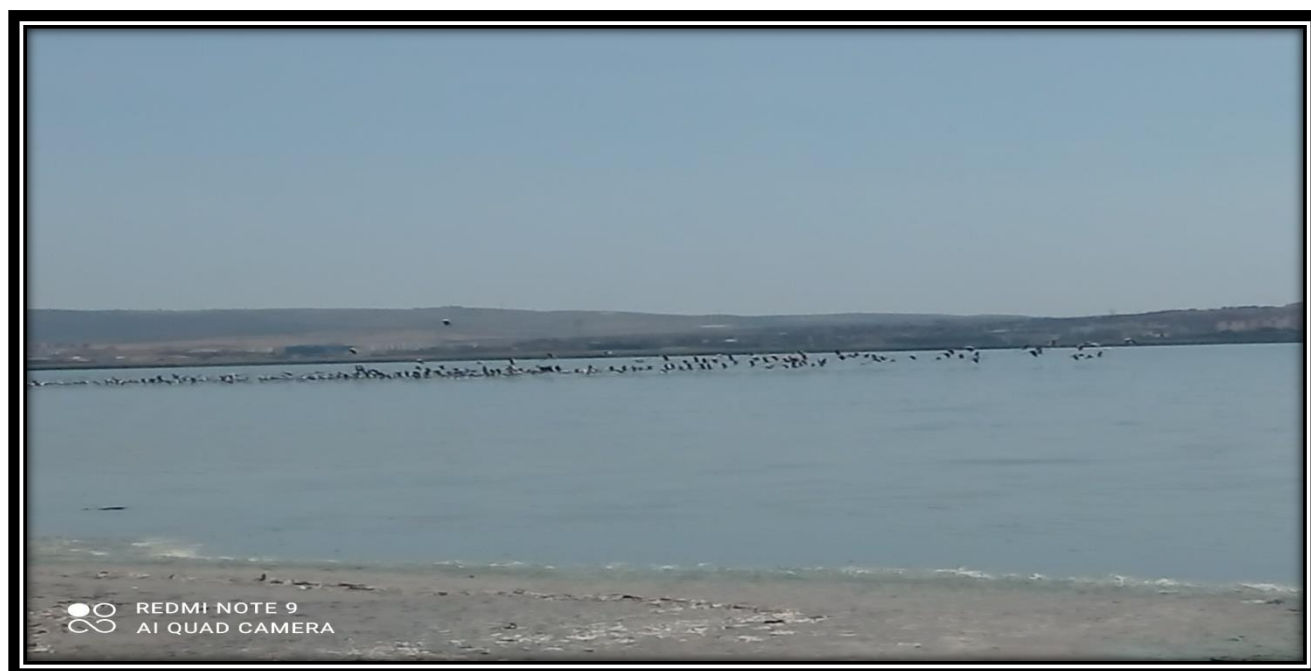


Fig 28:Une Volée de Flamant Rose au décollage(*Phoenicopterus ruber roseus*)(©Doukani, 2020)

Tableau 7 : Liste des oiseaux d’eaux observés au niveau des Salines d’Arzew (C.D.F Oran, 2015).

Famille	Especies	Noms Francais	nombre
PHOENICOPTERIDAE	<i>Phoenicopterus roseus</i>	Flamant rose	90
ANATIDAE	<i>Tadorna tadorna</i>	Tadorne de belon	1425
CHARADRIIDAE	<i>Charadrius dubius</i>	Petit Gravelot	04
TOTAL			1519

Tableau 8 : Diversité spécifique de l’avifaune(Conservation des forêts Oran, 2015).

Famille	Espèce	Famille	Espèce
1. Ardeidae	4	16. Sternidae	4
2. Ciconiidae	1	17. Columbidae	3
3. Phenicopteridae	1	18. Hirundinidae	3
4. Anatidae	7	19. Laniidae	2
5. Accipitridae	7	20. Turdidae	2
6. Falconidae	1	21. Sylviidae	2
7. Phasianidae	1	22. Passeridae	1
8. Rallidae	1	23. Frindillidae	2
9. Gruidae	1	24. Motacillidae	4
10. Recurvirostridae	2	25. Corvidae	1
11. Burhinidae	1	26. Alaudidae	3
12. Glareolidae	1	27. Meropidae	1
13. Charadriidae	4	28. Apididae	2
14. Scolopacidae	16	29. Emberizidae	1
15. Laridae	5		

Tableau 9 : Liste des oiseaux d'eaux observés au niveau des Salines d'Arzew (Conservation des forêts Oran, 2015).

	Nom scientifique	Nom commun	Statut
1	<i>Ardea cinerea</i>	Héron cendré	Hivernant
2	<i>Bubulcus ibis</i>	Héron gardeboeufs	Nicheur
3	<i>Egretta garzetta</i>	Aigrette garzette	Hivernant
4	<i>Platalea leucordia</i>	Spatule blanche	Hivernant
5	<i>Ciconia ciconia</i>	Cigogne blanche	Nicheur
6	<i>Plegadis falcinellus</i>	Ibis falcinelle	Hivernant
7	<i>Phoenicopterus ruber</i>	Flamant rose	Hivernant
8	<i>Anser anser</i>	Oie cendrée	Hivernant
9	<i>Anas penelope</i>	Canard siffleur	Hivernant
10	<i>Anas platyrhynchos</i>	Canard colvert	Hivernant
11	<i>Anas clypeata</i>	Canard souchet	Hivernant
12	<i>Tadorna ferruginea</i>	Tadorne casarca	Hivernant
13	<i>Tadorna tadorna</i>	Tadorne de Belon	Hivernant
14	<i>Marmaronetta angustirostris</i>	Sarcelle marbrée	Hivernant
15	<i>Fulica atra</i>	Foulque macroule	Nicheur
16	<i>Hieraaetus pennatus</i>	Aigle botté	Nicheur
17	<i>Milvus migrans</i>	Milan noir	Nicheur
18	<i>Elanus caeruleus</i>	Elanion blanc	Hivernant
19	<i>Neophron percnopterus</i>	Vautour percnoptère	Nicheur
20	<i>Circus aeruginosus</i>	Busard des roseaux	Hivernant
21	<i>Circus pygargus</i>	Busard cendré	Nicheur
22	<i>Falco tinnunculus</i>	Faucon crécerelle	Nicheur
23	<i>Buteo ruffinus</i>	Buse féroce	Nicheur
24	<i>Coturnix coturnix</i>	Caille des blés	Nicheur
25	<i>Grus grus</i>	Grue cendrée	Hivernant
26	<i>Himantopus himantopus</i>	Echasse blanche	Nicheur/passager
27	<i>Recurvirostra avocetta</i>	Avocette élégante	Hivernant
28	<i>Burhinus oedicephalus</i>	Oedicnème criard	Nicheur
29	<i>Glaréola pratincola</i>	Glaréole à collier	Nicheur/Passager
30	<i>Charadrius dubius</i>	Petit gravelot	Passager
31	<i>Charadrius alexandrinus</i>	Gravelot à collier int.	Nicheur
32	<i>Pluvialis squatarola</i>	Pluvier argenté	Passager
33	<i>Gallinago gallinago</i>	Bécassine des marais	Hivernant
34	<i>Vanellus vanellus</i>	Vanneau huppé	Hivernant
35	<i>Limosa limosa</i>	Barge à queue noire	Hivernant
36	<i>Calidris canutus</i>	Bécasseau maubèche	Passager
37	<i>Calidris alba</i>	Bécasseau sanderling	Passager
38	<i>Calidris temminckii</i>	Bécasseau de Temminck	Hivernant/Passager
39	<i>Calidris ferruginea</i>	Bécasseau coccorli	Passager
40	<i>Calidris minuta</i>	Bécasseau minute	Hivernant/Passager
41	<i>Calidris alpina</i>	Bécasseau variable	Hivernant/passager
42	<i>Numenius arquata</i>	Courlis cendré	Hivernant/passager
43	<i>Philomachus pugnax</i>	Combattant varié	Hivernant/Passager
44	<i>Tringa erythropus</i>	Chevalier arlequin	Passager

45	<i>Tringa stagnatilis</i>	Chevalier stagnatile	Passager
46	<i>Tringa nebularia</i>	Chevalier aboyeur	Hivernant/Passager
47	<i>Tringa totanus</i>	Chevalier gambette	Hivernant/Passager
48	<i>Tringa ochropus</i>	Chevalier culblanc	Passager
49	<i>Tringa glareola</i>	Chevalier sylvain	Hivernant/Passager
50	<i>Larus ridibundus</i>	Mouette rieuse	Hivernant
51	<i>Larus minutus</i>	Mouette pygmée	Hivernant
52	<i>Larus cachinnans</i>	Goéland leucophée	Nicheur
53	<i>Larus fuscus</i>	Goéland brun	Hivernant
54	<i>Larus genei</i>	Goéland railleur	Hivernant
55	<i>Sterna nilotica</i>	Sterne hansel	Hivernant
56	<i>Sterna sandvicensis</i>	Sterne caugek	Hivernant
57	<i>Chlidonias hybridus</i>	Guifette moustac	Passager
58	<i>Chlidonias niger</i>	Guifette noire	Passager
59	<i>Streptopelia senegalensis</i>	Tourterelle maillée	Nicheur
60	<i>Streptopelia turtur</i>	Tourterelle des bois	Nicheur
61	<i>Streptopelia decaocto</i>	Tourterelle turque	Nicheur
62	<i>Apus apus</i>	Martinet noir	Nicheur/Passager
63	<i>Apus pallidus</i>	Martinet pâle	Nicheur/Passager
64	<i>Merops apiaster</i>	Guêpier d'Europe	Nicheur/Passager
65	<i>Upupa epops</i>	Huppe fasciée	Nicheur
66	<i>Jynx torquilla</i>	Torcol	Nicheur
67	<i>Calandrella rufescens</i>	Alouette pispolette	Nicheur
68	<i>Alauda arvensis</i>	Alouette des champs	Nicheur
69	<i>Galerida cristata</i>	Cochevis huppé	Nicheur
70	<i>Riparia riparia</i>	Hirondelle des rivages	Passager
71	<i>Hirundo rustica</i>	Hirondelle rustique	Nicheur/Passager
72	<i>Delicon urbica</i>	Hirondelle de fenêtres	Nicheur/Passager

D. Flore remarquable

La végétation naturelle halophile (fig 29), presque absente, est composée de touffes de *Chamaerops humilis* sur les talus, de *Juncus sp.*, *Sueda sp* (fig 30) et de quelques sujets de *Tamarix sp.* sur les bords. Le plan d'eau est entouré par des cultures sur la majeure partie de son périmètre. 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 sp.* et *Arthrocnemum sp.*) qui colonisent les terres immergées dès le retrait de l'eau (DGF, 2004).



Fig 29 : Végétations Halophiles à l’abord des Salines d’Arzew (©Doukani, 2019).



Fig 30 : *Suaeda.sp* au bord du canal Salines d’Arzew (©Doukani, 2021).

2.II.1.6. Valeurs sociales et culturelles

Les Salines d’Arzew sont exploite par la société national du sel ENASEL qui a pour vocation d’exploité les gisements de sel. Son domaine d’activité est principalement de développer, produire, distribuer et commercialisation le sel alimentaire et industriel et plusieurs types des sels chimiques. Avec une panoplie de sous-produit (Berrabah, 2017).

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).

Chapitre 3

Présentation de *Dunaliella Salina*

3.1 Les Microalgues, une matière première à fort potentiel

Les microalgues, groupe d'organismes polyphylétiques, présentent une diversité taxonomique importante. Au cours de l'évolution, différentes lignées sont apparues dont l'origine est expliquée par la théorie de l'endosymbiose basée sur l'étude des plastes (Fig 32). Tout d'abord, une première endosymbiose d'un procaryote photosynthétique (Cyanobactérie) par un eucaryote primitif expliquerait l'apparition des Plantae comprenant les chlorophytes (lignée verte) à l'origine des végétaux supérieurs, les glaucocystophytes et les rhodophytes (lignée rouge). D'autres endosymbioses sont apparues au cours de l'évolution et font encore aujourd'hui l'objet de discussions opposant principalement deux théories. Celles-ci s'opposent notamment concernant le nombre d'endosymbioses et la nature des cellules ancestrales impliquées. La première hypothèse et la plus controversée aujourd'hui dans la littérature est appelée « the Chromalveolate hypothesis » (Cavalier, 1999).

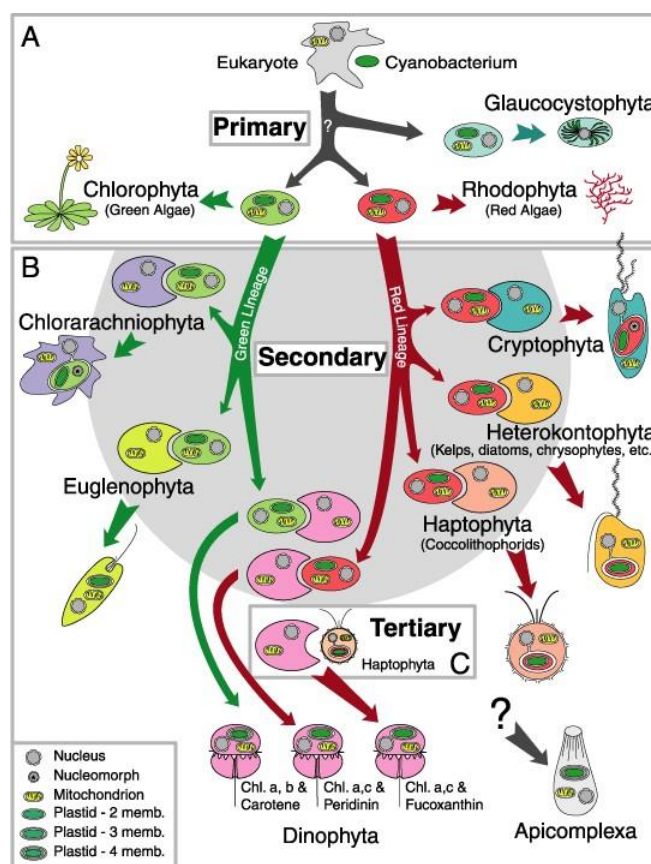


Fig 32 : Représentation schématique de l'origine des Plantae et des Chromalvéolates expliquant l'apparition de différentes lignées d'algues au cours de l'évolution par endosymbioses

Une endosymbiose secondaire entre une algue rouge et un eucaryote aurait formé l'ancêtre de tous les Chromalvéolates à l'origine des cryptophytes, des haptophytes, des straménopiles,

des ochrophytes (hétérokontophytes) et des dinoflagellées. Cependant, les différences observées au sein de ces groupes ne peuvent être complètement expliquées par cette hypothèse (Baurain *et al.*, 2010). Une autre théorie, présentée dans la (Fig 33), et appelée « the independent acquisition hypothesis » explique l'origine des Chromalvéolates par une série d'endosymbioses (Baurain *et al.*, 2010). Plusieurs dizaines de milliers à millions d'espèces de microalgues vivaient aujourd'hui sur la planète (Andersen, 1992). Ces organismes présentent des physiologies variées et sont réparties dans les différents groupes taxonomiques des eucaryotes.

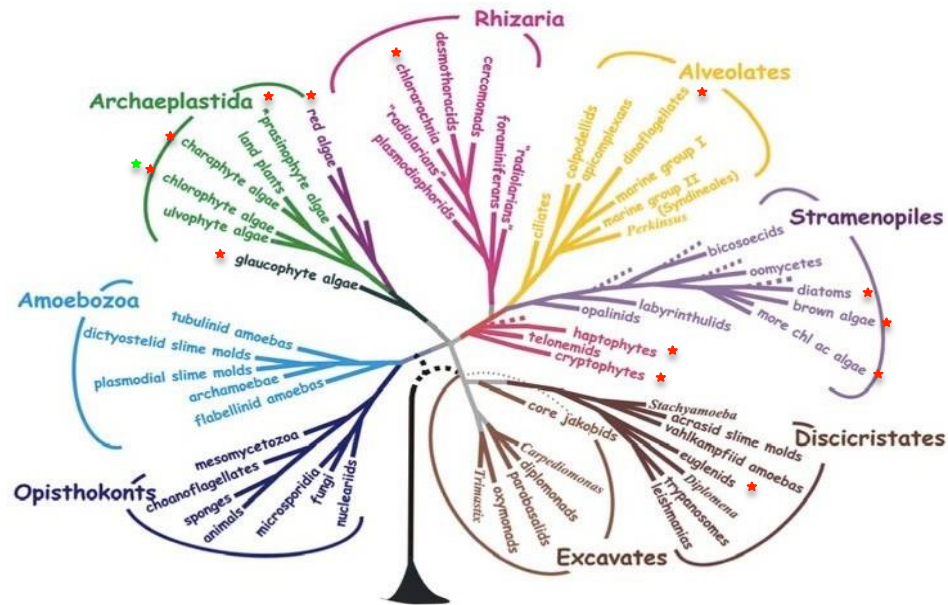


Fig 33 : Arbre phylogénétique présentant les principaux groupes d'Eucaryotes et basé sur des techniques de Phylogénie moléculaire et des études ultrastructurales (Baldauf, 2008) ; Positionnement taxonomiques : ★ = microalgues, ★ = *Dunaliella salina*.

3.1.1. *Dunaliella salina*

Les microalgues du genre *Dunaliella* sont des Chlorophycée (lignée verte) appartenant à l'ordre des Chlamydomonadales et à la famille des Dunaliellaceae (Polle *et al.*, 2009). Ce genre a été décrit pour la première fois en 1905 par Teodoresco qui, comme de nombreux scientifiques, étudiait l'origine des colorations orangées de systèmes aquatiques hypersalés (Teodoresco, 1905). *Dunaliella salina* est une algue verte unicellulaire (Oren, 2005), bi-flagellée (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). Selon les souches et les conditions environnementales, cette espèce présente des cellules sphériques, ovoïdes ou pyriformes et des tailles variées autour de 5 à 25 μm pour le grand axe et de 3 à 13 μm pour le petit axe (Polle *et al.*, 2009), 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). Parmi les 28 espèces du genre *Dunaliella* décrites à ce jour, *D. salina* est une microalgue halotolérante répertoriée sur l'ensemble des continents à l'exception des continents arctiques et antarctiques (Oren, 2005). Mobile, *D. salina* possède deux flagelles et dispose d'un unique chloroplaste cupuliforme pourvu d'un pyrénioïde central. La paroi cellulosique est absente, cependant les cellules sont recouvertes d'une enveloppe fine vraisemblablement de nature glycoprotéique. L'absence de paroi chez cette espèce facilite probablement son polymorphisme (Borowitzka & Siva, 2007). *D. salina* est connue pour sa capacité de stockage de β -carotène (jusqu'à 8 % du poids sec) au sein de vésicules spécifiques ou granules. L'abondance de ces vésicules au sein de la cellule est responsable d'un changement de pigmentation de la cellule du vert à l'orange. Lors de blooms phytoplanctoniques, la concentration cellulaire importante entraîne alors une coloration orangée du milieu (Kleinegris *et al.*, 2010).

3.1.1.1. 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* Oren, 2005). D'autres espèces ont été ajoutées ultérieurement au genre, notamment grâce à des études approfondies par Lerche (1937) et Butcher (1959) (tableau 10). 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 hypersalines. *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 10 : Les espèces du genre *Dunaliella* sélectionnées (Oren, 2005)

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 enchlora</i>	„
<i>Dunaliella minuta</i>	„
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Butcher, 1959
<i>Dunaliella primorcta</i>	„
<i>Dunaliella quartolecta</i>	„
<i>Dunaliella polyporpha</i>	„

3.1.1.2. Environnement naturel

Dunaliella salina est naturellement présente dans les marais salants et les mers à forte salinité (Polle *et al.*, 2009) (fig 33, fig 34). Elle est par exemple présente sur le site des salines d'Arzew : l'étude illustrée dans cette thèse est effectuée avec une souche isolée dans ces marais. Elle est l'un des organismes eucaryote les plus tolérants aux conditions environnementales extrêmes.



Fig 34 : Lit de Séchage de sel du complexe ENASEL dans les Salines d'Arzew (Kerfouf, 2020)



Fig 35 : Canal déverseur du circuit de lavage ENASEL des Saline D'Arzew(©Doukani, 2021)

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 micro-crevette, aliment principal des flamants roses, est le principal prédateur de *Dunaliella salina* avec certains ciliés et autres protozoaires.

3.1.1.1. 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 (fig 36). Ses dimensions moyennes sont de 11 µm de longueur et 6 µm de largeur. Elle est de forme ovoïdale et son volume varie entre 50 et 100 µm³ (Mishra *et al.*, 2008). 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 au 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. *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 β-carotène sorte que les cellules apparaissent 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 classée comme une espèce comestible de phytoplancton (micro-algues). Aucune étude toxicologique humaine formelle n'a été menée 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 (Borowitzka, 1991).

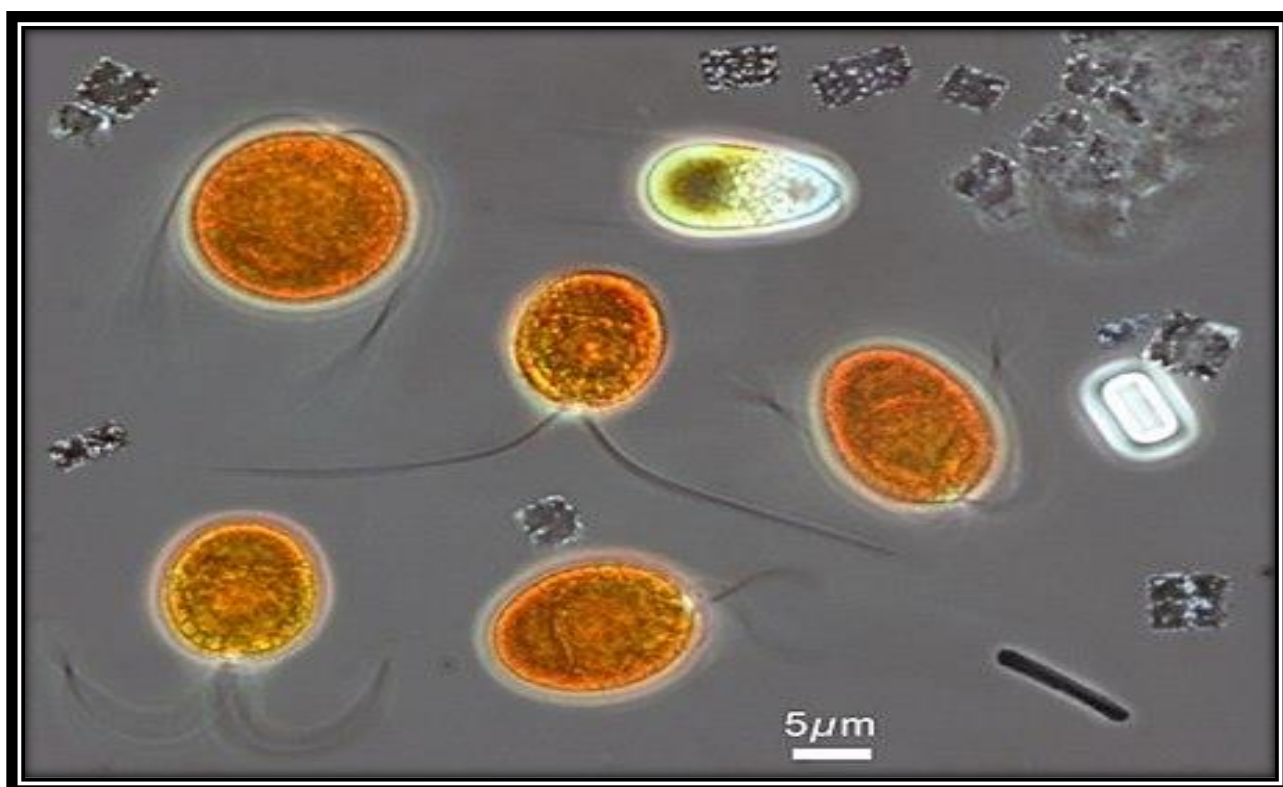


Fig 36 : *Dunaliella salina* sous ces différentes formes (Wikipedia.org)

3.1.1.4. Caractère halophile

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

3.1.1.5. 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 qu'une forme d'adaptation. 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 pourraient conférer à *Dunaliella salina* des propriétés intéressantes pour sa récolte (De Philippis et al., 2001 ; Suresh Kumar et al., 2007 ; Mishra et al., 2010). 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.

3.1.1.6. Photo-attraction - Phototaxie

Dunaliella salina à 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).

3.1.2. 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 (fig 37). 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 concentration 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 Fig 33 (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).

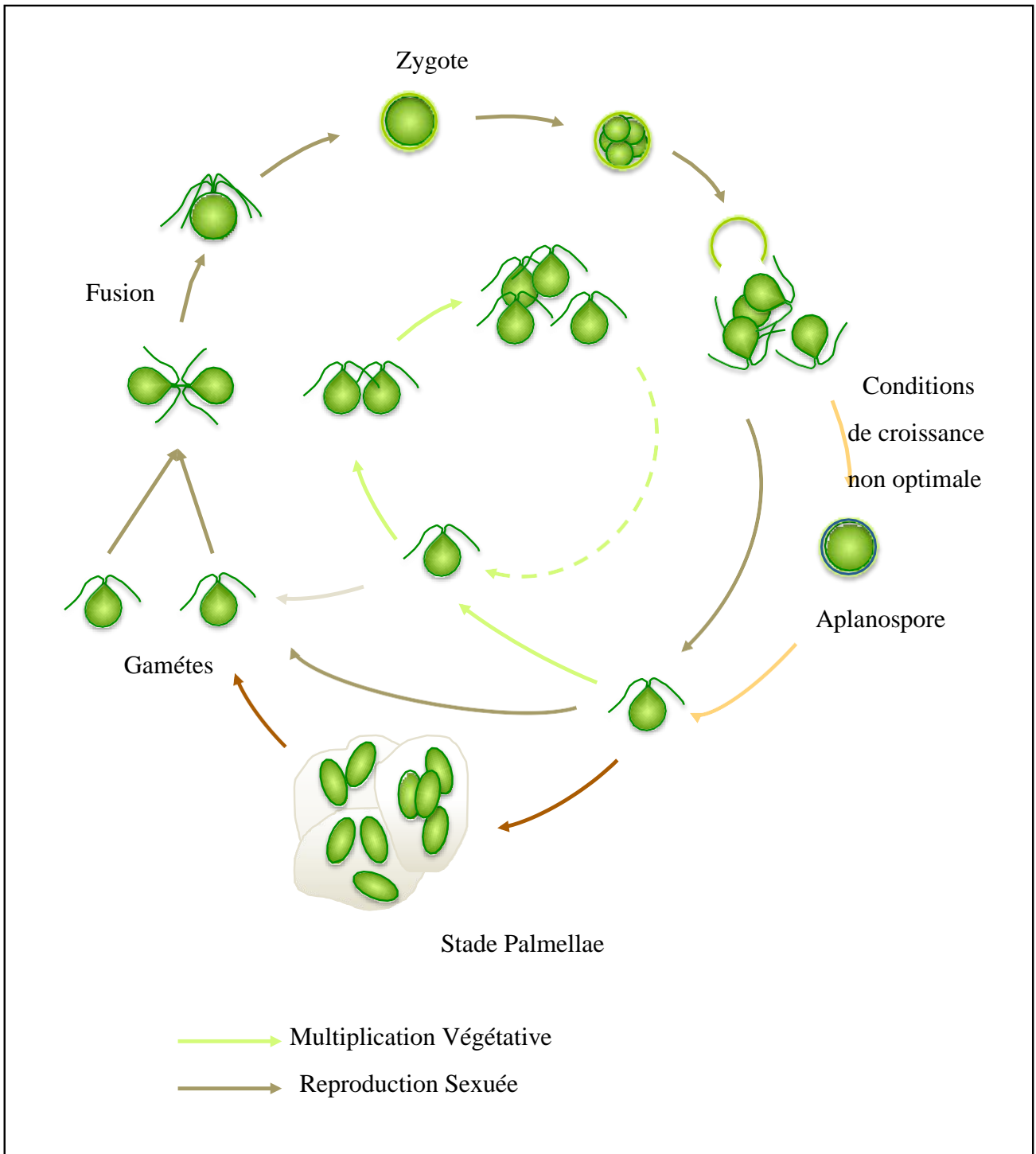


Fig 37 : Représentation schématique des différents stades du cycle de vie de l'espèce *Dunaliella salina* (Dejoye, 2013)

3.1.3. Besoins fondamentaux et physiologie

3.1.3.1. Nutriments

L'activité autotrophe des microalgues requière l'acquisition d'éléments minéraux pour la croissance des cellules dont les besoins varient en fonction des espèces. D'une manière générale, les microalgues nécessitent un apport en carbone (C), azote (N), phosphore (P) et parfois en silice (Si) selon les espèces. 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^+ est la source d'azote optimale pour la croissance de *Dunaliella salina*. Il est cependant montré qu'un apport en azote sous forme NO^- peut permettre d'accroître dans certaines conditions la production de glycérol (Giordano, 2001). Au delà d'une certaine concentration, les ions NH^+ deviennent toxiques pour la culture, c'est pourquoi l'apport d'azote par NO^- est souvent privilégié (communication personnelle avec des spécialistes de la culture de *Dunaliella salina*). Leur concentration optimale est d'environ 0,02 à 0,025 g.l^{-1} K_2HPO_4 (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. Les deux cations de magnésium et du calcium sont nécessaires pour la croissance et *Dunaliella* peuvent tolérer un large rapport de ($\text{Mg}^{2+} : \text{Ca}^{2+}$) allant de 0,8 à 20,0. Pour *D. tertiolecta* un rapport de 4 pour ($\text{Mg}^{2+} : \text{Ca}^{2+}$) a été signalée comme optimale (McLachlan in Borowitzka, 1990)

Tout *Dunaliella sp* 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 élevée 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). D'après les travaux de Redfield, ces macroéléments sont présents dans la biomasse

planctonique avec les ratios suivants 106 :16 :1 pour C : N :P et 106 :15 :16 :1 pour C : Si : N :P concernant les diatomées. Outre les macroéléments, des microéléments sont également nécessaires comprenant de nombreux métaux (Harrison & Berges, 2005). La culture de nombreuses espèces impose l'ajout de vitamines, composés organiques, qui sont des co-facteurs d'enzymes clés du métabolisme (Croft et al., 2006). *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). Croft et al., ont montré que sur 306 espèces de taxonomie différentes, 50% de l'échantillon avaient un besoin obligatoire en vitamines B12 (cyanocobalamine), 22% en B1 (thiamines) et 5% en B7 (biotine). A ce titre, ces microalgues sont des espèces auxotrophes dites vitamines-dépendantes. Les autres peuvent s'en affranchir par la mise en place de systèmes enzymatiques spécifiques vitamines-indépendants (Croft et al., 2005). L'hétérotrophie peut également être pratiquée chez certaines microalgues. A l'obscurité, l'énergie lumineuse est alors remplacée par le catabolisme de composés organiques carbonés tels que des sucres ou des acides organiques (Perez-Garcia et al., 2011). La culture des microalgues nécessite que l'ensemble des éléments nutritifs nécessaires soit apporté par les milieux d'enrichissement. La connaissance de ces besoins représente donc une information déterminant la cultivabilité d'une espèce.

La culture de *Dunaliella salina* ne présente pas d'exigence particulière. Cette microalgue est cultivable sur une grande variété de milieux de composition différente jusqu'au plus simple appelé ES et composé uniquement d'un mélange d'azote, de phosphore et de manganèse (Subba Rao, 2009). En revanche, ce milieu ultra simplifié est utilisé en dilution dans une culture d'eau de mer naturelle, source potentielle de microéléments pour les cellules. La croissance en hétérotrophie de cette microalgue a déjà été répertoriée dans la littérature à partir de milieu complexe contenant notamment du glucose et du tryptone (Gladue & Maxey, 1994). En revanche, la croissance notée dans ces conditions était faible. 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.

3.1.3.2. Conditions de croissance

Si l'ensemble des sels nutritifs est présent dans le milieu, les facteurs écophysologiques doivent être favorables pour permettre la croissance des microalgues. Il s'agit principalement des facteurs lumière, température, pH et salinité. Chaque espèce sélectionnée et adaptée à son environnement a développé au cours de l'évolution des préférences concernant ces paramètres. Considérant un facteur isolé, chaque espèce se développe de manière optimale pour une valeur donnée du paramètre. En s'écartant de ce préférence, les conditions sont moins favorables à la croissance. Celle-ci diminue plus ou moins rapidement en fonction de la valence écologique de l'espèce considérée. Les facteurs influençant la physiologie des microalgues peuvent aussi agir en synergie : l'effet physiologique d'un facteur A est différent en fonction de l'intensité du facteur B. Marchetti et al., (2012) ont justement observé des interactions significatives de facteurs agissant sur la croissance de la microalgue fourrage *Isochrysis affinis galbana* : interactions pH-température et pH-éclairage.

La lumière représente la source d'énergie pour les organismes photosynthétiques et est, par conséquent, un facteur écophysologique très important pour leur survie dans un milieu. L'éclairage influence fortement la photosynthèse tels qu'illustré dans la (Fig 38). La photosynthèse brute représente la somme de la photosynthèse nette et de la respiration. Pour des valeurs d'éclairage faibles et jusqu'au point de compensation, la photorespiration est plus importante que la photosynthèse brute. Il n'y a alors pas de photosynthèse nette et donc pas de croissance. Au delà du point de compensation, la photosynthèse augmente linéairement avec l'éclairage. Cependant, pour des valeurs d'éclairage plus importantes, on observe une perte de linéarité jusqu'au recrutement de la totalité des sites collecteurs se traduisant par une activité photosynthétique maximale P_{max} . En condition supra-optimale, un phénomène de stress lié au trop fort éclairage et appelée photoinhibition est observé entraînant une diminution de l'activité photosynthétique (Vonshak & Torzillo, 2004).

Outre la photosynthèse, les facteurs environnementaux et notamment la nature du facteur limitant affectent d'autres activités métaboliques et ainsi la composition biochimique des microalgues (Hu, 2004). Une limitation par l'azote favorisera le stockage de carbone sous forme de triglycérides par exemple (Weldy & Huesemann, 2007). Une étude de l'effet de ces

facteurs représente donc une étape indispensable pour la valorisation des microalgues afin d'optimiser les rendements de production en biomasse et du ou des composé(s) d'intérêt.

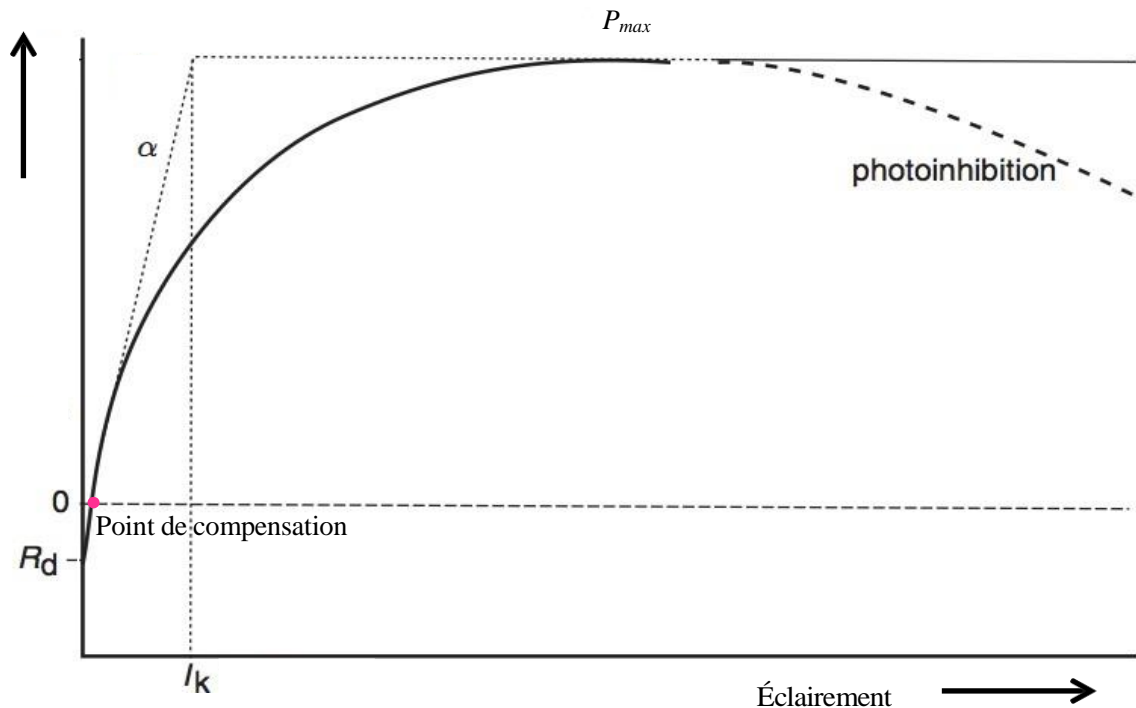


Fig 38 : Représentation schématique de l'influence de l'éclairement sur la photosynthèse chez les microalgues (Vonshak & Torzillo, 2004).

Dunaliella salina est une espèce remarquable du point de vue de sa valence écologique puisque cette espèce est capable de supporter de larges gammes de variations de nombreux facteurs environnementaux. Tout d'abord, *D. salina* est connue pour vivre à des salinités très importantes jusqu'à saturation (environ 35 %) grâce à la mise en place de mécanismes osmotiques protecteurs (Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009). Cette espèce supporte de larges gammes de salinités jusqu'à des salinités pratiquement nulles, faisant d'elle l'espèce eucaryote la plus euryhaline. Selon les souches, il semblerait que la salinité optimale oscille entre 5 et 15 % (Cifuentes *et al.*, 2001). Ensuite, *D. salina* est une espèce capable de croître à des éclairements variés de 50 à 1500 $\mu\text{mol. Photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ avec une croissance maximale atteinte à 800 $\mu\text{mol. Photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Baroli & Melis, 1996). L'optimum thermique se situe quant à lui entre 20 et 40°C selon les souches et les conditions environnementales (Subba Rao, 2009). Sa capacité de croissance à température élevée augmente par exemple avec la

salinité, mettant en évidence l'interaction entre ces deux facteurs chez cette espèce. Enfin, cette espèce supporte également une large gamme de pH entre 5,5 et 10 avec un optimum situé entre 7 et 8 (Subba Rao, 2009). Le métabolisme de *D. salina* est également fortement influencé par certains paramètres environnementaux. La particularité de cette espèce est d'accumuler en grande quantité du β -carotène (jusqu'à 10% du poids sec) au sein de granules intracellulaires (Jin & Polle, 2009). La synthèse de ce composé lui permettrait de résister aux forts éclaircissements par absorption d'une partie du spectre lumineux. La caroténogénèse est favorisée en condition de stress intense pour les cellules et particulièrement en condition de fort éclaircissement mais aussi de forte salinité, limitation nutritive (azote, phosphore, soufre et fer) et forte température (Oren, 2005 ; Jin & Polle, 2009 ; Subba Rao, 2009 ; Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009). Dans ces conditions pour lesquelles la croissance est très faible, une synthèse d'acides gras accompagne la caroténogénèse (Lamers *et al.*, 2010). Une autre particularité chez cette espèce est l'accumulation de glycérol particulièrement en condition de fortes salinités. Ce composé serait impliqué dans la capacité de *D. salina* à résister aux contraintes osmotiques en conditions de stress salin (Oren, 2005).

Partie 2

Ingénierie des microalgues

Chapitre 1

Généralités sur les photobioréacteurs

Chapitre 1 Généralités sur les Photobioréacteurs

1.1. Qu'est-ce qu'un Photobioréacteur

Un photobioréacteur est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture. En son sein, une réaction biochimique de photosynthèse a lieu dans le but de produire de la biomasse végétale à partir de microalgues, de CO₂ et de lumière.

La notion de photobioréacteur date déjà de quelques décennies. Les premiers systèmes clos sont apparus à la fin des années 40, mais faute de moyens techniques leur développement a été interrompu et les cultures ont continué à être réalisées en bassins rudimentaires. Dans les années 80, les recherches ont repris activement et de nombreux photobioréacteurs ont été réalisés et expérimentés avec des formes géométriques diverses.

1.2. Conception et problématique générale

Le principe du fonctionnement des photobioréacteurs est le suivant : au sein d'une enceinte confinée, le bioréacteur, des microorganismes photosynthétiques sont cultivés, dans des conditions contrôlées, à l'aide des substrats nécessaires à leur croissance et d'un apport d'énergie lumineuse. Les interactions biologiques ayant lieu en milieu fermé, il est indispensable de maîtriser les conditions de cultures appliquées dans le photobioréacteur. Il faut en particulier gérer l'accès au nutriment et le processus d'homogénéisation du milieu, et effectuer un suivi de la température et du pH.

Les utilisations des photobioréacteurs sont variées et dans le cas présent ils sont restreints uniquement à la production de biomasse en système clos.

1.2.1. La lumière et le photobioréacteur

La particularité d'un photobioréacteur tient, en plus des besoins habituels communs à tous les bioréacteurs, à la nécessité de fournir une énergie photonique aux microorganismes à cultiver (ici les microalgues), cet apport étant incontournable pour la réalisation de la photosynthèse.

D'un point de vue technologique, l'enceinte du système doit donc être transparente et être conçue de façon à fournir une intensité lumineuse suffisante, mais non létale, pour les microalgues.

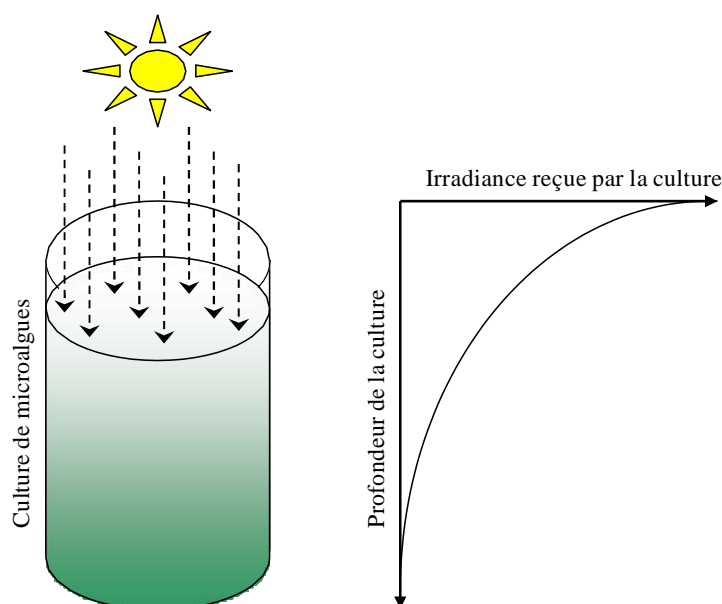


Fig 39 : Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de microalgues.

La notion d'irradiance disponible

La croissance des microorganismes (microalgues), et donc la production de biomasse, dépend de la quantité de lumière reçue par chaque microalgue.

Deux facteurs sont à distinguer :

- D'une part, la quantité et la qualité de la lumière émise par le dispositif d'éclairage (intensité, spectre d'émission des sources lumineuses et nombre de ces sources).
- D'autre part, la quantité et la qualité de la lumière réellement disponible pour les microalgues au sein du photobioréacteur : celle-ci étant différente du flux lumineux incident du fait des pertes par absorption et diffusion qui ont lieu en traversant la culture et les parois du réacteur.

L'irradiance réellement disponible pour la culture est fonction de la concentration cellulaire. Globalement, celle-ci est atténuée de façon exponentielle en fonction de la profondeur de culture. Ce phénomène dit d'auto-ombrage (absorption et diffusion de la lumière par les microalgues) raréfie le rayonnement lumineux et rend hétérogène la distribution en énergie photonique au sein du procédé (Fig 39).

La distribution hétérogène de l'irradiance selon l'épaisseur de la culture conduit à des cinétiques locales de croissance :

- En surface, du fait d'une intensité lumineuse trop forte, une zone de photoinhibition peut apparaître et entraîner la dégradation des photosystèmes I et II (PSI et PSII) des antennes collectrices de la chlorophylle a et l'apparition de pigments accessoires,
- En profondeur, des effets d'auto-ombrage peuvent conduire à une photoalimantation avec un manque d'énergie ou même à un basculement vers un mécanisme respiratoire (Fig 39).

Concevoir un photobioréacteur suppose donc une réflexion poussée sur les conditions d'accès à la lumière.

1.2.2. L'hydrodynamique au sein des photobioréacteurs

L'homogénéisation de la culture est importante pour que les diverses réactions se déroulant au sein du photobioréacteur aient lieu. Des systèmes d'agitation et d'aération du milieu sont à mettre en place pour favoriser le mélange. Cependant cela entraîne des effets antagonistes car si ces systèmes améliorent les transferts, ils peuvent aussi fragiliser le matériel biologique.

Les différentes phases en présence au sein d'un photobioréacteur doivent être mélangées afin de favoriser l'accès à la lumière et les transferts liquide-liquide et gaz-liquide, de limiter la formation de zones de photolimitation et de photoinhibition (cinétiques locales de croissance) et d'éviter l'encrassement des parois (biofilm)(fig 40a).

L'hydrodynamique (turbulence, bulles, cisaillement...) est un facteur potentiellement stressant pour la croissance des cellules. Elle peut perturber voire modifier l'état physiologique cellulaire au-delà d'un certain seuil et/ou une certaine fréquence. Cela peut se traduire par l'excrétion de polysaccharides (Morineau-Thomas *et al.*, 2002), par l'altération physique de la cellule (Fig 40 b), ou par la destruction cellulaire (Fig 40 c) (Vandanjon *et al.*, 1999). Il est à noter également que le bullage peut provoquer des perturbations de l'état physiologique des cellules et de la croissance (Sanchez Miron *et al.*, 1999). Différents facteurs peuvent en être responsables : les forts cisaillements au niveau de l'injecteur de gaz, l'entraînement des cellules par flottation et l'éclatement des bulles à la surface (Sanchez Miron *et al.*, 1999 ; Barbosa 2003).

En conséquence, un compromis hydrodynamique est à rechercher, pour assurer d'une part, un mélange suffisant, et d'autre part préserver l'intégrité cellulaire.

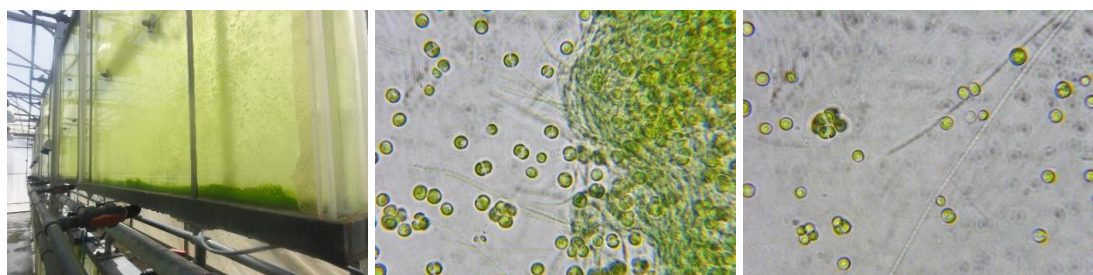


Fig 40 : Photos de gauche à droite : a) Agglomération de cellules de *Nanochloropsis salina* (©Doukani 2014). b) Segmentation de cellules *Nanochloropsis salina* et de *Anabaena* (©Doukani 2014). c) Effets du passage dans une pompe chez *Dunaliella Salina* (©Doukani 2016).

1.3. Conclusions pour la conception d'un photobioréacteur

Le photobioréacteur à construire devra impérativement intégrer les contraintes classiques d'un bioréacteur fonctionnant en continu et surtout, celles liées à l'accès à la lumière. Destiné à une application aquacole et plus particulièrement à la production de microalgues halophyte à destination de la consommation humaine et animal, cosmétologie et usage médical, il sera nécessairement clos pour un contrôle de la microbiologie (la qualité biologique de la biomasse). Sa géométrie dépendra principalement du volume visé pour la culture et du type de microalgues à cultiver. Pour ces raisons, il n'existe pas une géométrie prédéfinie de photobioréacteur. Les types existants peuvent être classés en plusieurs catégories et seront détaillées dans les paragraphes suivants.



Fig 40 : Géométrie du photobioréacteur plat (©Doukani 2016).

Chapitre 2

Engineering des photobioréacteurs

Chapitre 2 TECHNOLOGIES DE PHOTOBIOREACTEURS

Ce chapitre présente différentes alternatives technologiques en vue d'optimiser la productivité des photobioréacteurs et leurs applications en fonction de la géométrie retenue, plane ou cylindrique. Dans un second temps, l'accent est porté sur les systèmes d'agitation utilisés en donnant les utilisations courantes en fonction du volume de culture et de la géométrie considérée.

2.1 Les deux formes géométriques les plus courantes

Abordons en premier la géométrie du photobioréacteur car c'est de ce critère que dépend principalement la problématique de l'accès à la lumière.

Au regard de la littérature, deux familles de photobioréacteurs se dégagent au point de vue géométrique : les photobioréacteurs plats (géométrie plane) et les photobioréacteurs tubulaires (géométrie cylindrique). Pour chacune de ces deux familles des variantes existent, liées à des besoins spécifiques.

Dans les paragraphes suivants, un bilan des principales caractéristiques de ces photobioréacteurs sera dressé : géométrie, dimensions, volumes, épaisseur de la culture, système d'éclairage et type de mise en circulation utilisé pour la culture.

2.1.1 Les photobioréacteurs plats

Un photobioréacteur plat se compose de deux panneaux parallèles transparents pour laisser passer la lumière, de surfaces variables et entre lesquels réside une mince couche de culture d'une profondeur (épaisseur) de quelques centimètres (Fig 42).

2.1.2 Les photobioréacteurs cylindriques

Un photobioréacteur cylindrique se compose d'un ou plusieurs tubes transparents, de diamètres et longueurs variables, de configurations diverses et au sein desquels circule la culture (fig 43).



Fig 42 : Photobioréacteur Plat (©Doukani 2016).



Fig 43 : Photobioréacteur Cylindrique (©Doukani 2016).

Pour les photobioréacteurs cylindriques, les variantes de configuration sont multiples (Tredici 2004) :

- Un tube large et vertical formant une colonne,
- Deux tubes de diamètres différents agencés l'un dans l'autre formant une chambre annulaire,
- Un tube placé au sol et de diamètre modéré mais de longueur importante agencés sous forme de serpent,
- Un tube de petit diamètre et de longueur importante enroulé

hélicoïdalement autour d'une tour,

- Plusieurs tubes de petit diamètre agencés parallèlement et à la verticale.

Les photobioréacteurs cylindriques sont largement répandus car leur conception est simple et facile à redimensionner vers des volumes importants de plusieurs centaines de litres (Tsygankov, 2001), : ci-après, plusieurs de ces photobioréacteurs sont décrits et illustrés.

Les photobioréacteurs de type colonne

Le photobioréacteur cylindrique de type « scobalit » est un système classique qui est très répandu dans l'aquaculture. Ce photobioréacteur se compose d'une colonne verticale, dont la dimension varie tant en hauteur qu'en diamètre.

En général, les dispositifs utilisés dans les écloseries font 2 m de haut pour environ 30-50 cm de diamètre et sont éclairés latéralement par des tubes fluorescents (Tredici, 1999).

Les photobioréacteurs de type annulaire

Les photobioréacteurs annulaires sont des photobioréacteurs cylindriques agencés d'une manière particulière : ils sont fabriqués à partir de deux tubes de diamètres différents emboîtés l'un dans l'autre pour constituer ainsi un espace annulaire dans lequel circule la culture (Fig 43).

La variante annulaire est intéressante du point de vue de la distribution de la lumière artificielle que l'on peut situer au centre du système de tubes (fig 44). Cependant, ce type de géométrie est plutôt complexe et difficile à extrapoler car elle occupe une surface importante au sol pour un volume de culture restreint.

Les photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement

La configuration tubulaire se présente sous forme de boucles, ou serpentins, qui laissent passer la lumière entre les interstices des boucles (Fig 45) (Fernandez *et al.*, 2001).

Dans les années 1980, Gudin et Chaumont, notamment, ont mis au point ce type de photobioréacteur en forme de serpent au sol, dont la culture circule à l'aide d'une pompe et d'une zone airlift afin de limiter les dommages cellulaires (Gudin et Chaumont,



Fig 44 ; Photobioréacteur annulaire (©Doukani 2016).

1983 ; Tredici, 1999). Par la suite des améliorations y ont été introduites avec un système de balles en plastique permettant un auto-nettoyage des parois des tubes rigides (Tredici, 1999). L'ensemble de ce photobioréacteur est d'un coût prohibitif et nécessite une maintenance trop importante pour pouvoir être aisément commercialisé (Tredici, 1999).



Fig 45 : photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement(researchgate.net)

Les photobioréacteurs tubulaires agencés verticalement

Les photobioréacteurs tubulaires qui utilisent l'énergie solaire nécessitent de grandes

surfaces au sol. Afin de restreindre cet encombrement, des photobioréacteurs à structure verticale ont été conçus : ils utilisent généralement des tubes de diamètre relativement faible (inférieur à 200 mm).

Le photobioréacteur « Biocoil » est un photobioréacteur tubulaire dont les tubes sont enroulés autour d'une structure verticale (Fig 46), ce qui offre l'avantage de pouvoir utiliser une grande longueur de tube (donc un grand volume de culture) tout en occupant une surface réduite (Tredici et Zittelli, 1998 ; Richmond, 2000).

D'autres photobioréacteurs cylindriques utilisent des tubes connectés les uns aux autres par des tubulures (Cell Pharm Bioactive Product <http://home.bt-webworld.com/cellpharm/> ; Tredici, 1999 ; Pulz, 2001).



Fig 46 : photobioréacteurs tubulaires agencés sur structure vertical (ifremer.fr)

Cette configuration reprend celle inventée par J. Pirt (brevet anglais n° 2.118.572, 1983), grâce aux investisseurs des sociétés Photo Bioreactors Ltd., créées en Grande Bretagne (1986) et en Espagne (1989). Ce photobioréacteur cylindrique est constitué de 50 tubes de polyéthylène, de 50 m de long et de 12 mm de diamètre. Il possède une longueur totale de 125

km ou de 200 km, la circulation de la culture y est réalisée par airlift (Tredici, 1999).

Les longueurs de tubes sont au cœur de la problématique des photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement ou verticalement. Dans les photobioréacteurs tubulaires horizontaux, le flux doit être maintenu régulier et uniforme pour permettre une circulation homogène de la culture le long des tubes : il est directement dépendant de la longueur et du nombre des tubes disposés en parallèle (Tsygankov, 2001).

Malgré un gain de place indéniable, ces structures verticales ou horizontales (de serpentins à plat ou enroulés) sont sujettes à des problèmes d'encrassement et de limitations en termes de transferts gazeux (Tredici et Zittelli, 1998).

Contrairement aux photobioréacteurs de type colonne, les échanges gazeux sont moindres :

1. l'évacuation de l'oxygène produit par la culture est souvent problématique et peut s'avérer limitant voire inhibant (Tsygankov, 2001). L'accumulation d'oxygène dissous dans ces tubes horizontaux peut entraîner une inhibition de la croissance cellulaire et des dommages dus à la photooxydation (Montecino *et al.*, 2001). D'après Tredici (2004), cette concentration en oxygène peut atteindre 8 à 10 mg.l⁻¹.min⁻¹ dans des photobioréacteurs tubulaires de 1 cm de diamètre. Ce phénomène varie en fonction de l'intensité solaire (Montecino *et al.*, 2001), mais il demeure aussi en lumière artificielle. La capacité de désorption de l'oxygène dissous est directement liée au coefficient volumique de transferts des gaz (k_La) : il est très faible dans ce type de géométrie (Tredici, 2004). Ainsi, les difficultés majeures rencontrées lors de l'utilisation de ces photobioréacteurs sont un mauvais mélange, une mauvaise distribution de la culture le long des tubes, un mauvais contrôle de la température, un encrassement des tubes et, en général, l'absence d'un système de pilotage approprié (Tredici, 1999).

Un compromis sur la vitesse de circulation est à trouver pour éviter des dépôts sur les parois des tubes (Acien Fernandez *et al.*, 2001) et pour optimiser le mélange et les transferts et échanges de CO₂/O₂ sur toute la longueur du système (Olaizola, 2003).

Assez régulièrement, d'après Tredici (1999), les problèmes rencontrés lors de la conception des prototypes, (notamment celui de la société Photo Bioreactors Ltd. Créé en 1991), n'ont pas été résolus avant le passage du pilote à un photobioréacteur à une échelle dix pour leur commercialisation. Dans ce cas précis, ceci a entraîné la fermeture de la société

avant même qu'elle puisse en débiter la production, puis l'abandon de ce photobioréacteur faute de repreneur (Sanchez Miron *et al.*, 1999 ; Tredici, 1999). D'autre part, sous le soleil, le matériel s'est rapidement dégradé (Tredici, 1999).

2.2. Caractéristiques des principaux types de photobioréacteurs

2.2.1. Eclairage

L'éclairage des photobioréacteurs, en extérieur, peut simplement être naturel en utilisant la lumière solaire : les panneaux sont alors généralement installés horizontalement ou de façon inclinée pour améliorer l'utilisation de l'irradiance solaire (Grobbelaar et Kurano, 2003).

Une variante consiste, pour certains photobioréacteurs cylindriques, à placer les photobioréacteurs sur des surfaces réfléchissantes afin d'accroître, par réflexion, l'incidence du rayonnement (Sanchez Miron *et al.*, 1999).

D'autres moyens ont aussi été expérimentés, utilisant la lumière naturelle (Ogbonna *et al.*, 1999 ; Suh et Lee, 2003) aussi bien que celle artificielle au sein des photobioréacteurs plats (2002) ou cylindrique (Borowitzka, 1996) : ils utilisent un harnais de fibres optiques (ou réseau de gaines transparentes) disposé au centre de la chambre du réacteur. Ce système de conduction lumineuse accentue la diffusion de la lumière au cœur du milieu de culture (Tsygankov, 2001).

A l'intérieur, les photobioréacteurs peuvent être placés sous serre, mais souvent des sources lumineuses artificielles sont utilisées, telles que des tubes fluorescents (de type : « cool white » ou lumière du jour).

Placés verticalement ou horizontalement, ils sont souvent agencés sous forme de murs de tubes horizontaux ou verticaux (Applied Photosynthetics Ltd. www.campus-venture.co.uk/apl; Tredici, 1999).

2.2.2. Dimensions des photobioréacteurs

Les photobioréacteurs plats sont généralement des réacteurs de petits volumes pour un usage en laboratoire (Richmond et Cheng Wu, 2001 ; Ogbonna, 2003). Ces photobioréacteurs plats ont des dimensions variables car le nombre des panneaux qui les composent peut-être démultiplier (Tredici, 1999) comme celui de 500 L constitué de plusieurs unités. L'épaisseur de la culture, au sein de chacun des panneaux, peut varier de 1 cm à 17 cm (Ogbonna, 2003). Néanmoins, il est rare que la surface de chacun des panneaux excède un mètre carré (ex :

photobioréacteur plat alvéolaire 100 x 170 cm de Zhang *et al.*, (2001)) car au-delà la pression exercée par le milieu de culture peut courber les parois (contraintes mécaniques).

Les volumes importants peuvent être composés d'unités de culture rangées verticalement et connectées entre elles par un réseau de conduites équipé de pompes (Tredici et Materassi, 1992). Par exemple, il existe un photobioréacteur plat composé de 42 unités, d'un volume de 6 m³ compacté sur une surface de 100 m² (avec un rapport surface sur volume de 60 m⁻¹) (Pulz et Scheibenbogen, 1998), et dont les unités sont commercialisées par la société B. Braun Biotech Int. (Tredici, 1999).

Les photobioréacteurs cylindriques d'étude utilisés en laboratoire ont un volume de l'ordre de quelques litres (Watanabe *et al.*, 1995 ; Sahle Demessie *et al.*, 2003) mais peuvent atteindre facilement quelques dizaines de litres (García Camacho *et al.*, 2000 ; Sanchez Miron *et al.*, 2000), voire des volumes plus importants.

En production industrielle (usages aquacole ou agroalimentaire), les photobioréacteurs cylindriques ont des volumes qui oscillent entre quelques centaines de litres, en intérieur (Applied Photosynthetics Ltd. www.campus-venture.co.uk/apl), et quelques milliers de litres en extérieur (Pulz, 2001 ; Olaizola, 2003). Selon Tzygankov (2001), pour obtenir des volumes importants, la connexion de plusieurs unités de photobioréacteurs cylindriques entre elles reste la méthode la plus efficace.

2.2.3. Régulation

Tout comme en bioréacteur, un suivi et un contrôle de grandeurs caractérisant la croissance est nécessaire telles que le dégagement d'oxygène, la consommation de dioxyde de carbone, l'augmentation du pH...

Une régulation est mise en place afin d'assurer une optimisation des cultures. Le minimum requis pour un photobioréacteur industriel est le contrôle des conditions de culture à savoir le pH et la température. En laboratoire la régulation peut s'avérer plus poussée et des périphériques sont alors ajoutés pour permettre un suivi expérimental.

Contrôle du pH

Le réajustement et la régulation du pH de la culture sont majoritairement obtenus à l'aide de CO₂ distribué conjointement à de l'air ou bien séparément (Chisti et Moo-Young, 2001 ; Ogbonna, 2003), quel que soit le système d'agitation. A noter que l'aération et le mélange du milieu de culture en scobalits (photobioréacteur à colonne) s'effectuent par un

bullage simple d'air enrichi entre 2 et 5% de CO₂.

Contrôle de la température

Les moyens de contrôle et systèmes de régulation de la température des photobioréacteurs en extérieur comme en intérieur sont variés : ils peuvent être entourés d'une enveloppe d'eau froide placée à la base du procédé (Sanchez Miron *et al.*, 2000) où la régulation thermique pour les photobioréacteurs plat est réalisée par une circulation d'eau dans des compartiments adjacents aux panneaux de la chambre de culture (Degen *et al.*, 2001 ; Bosma et Wijffels, 2003 ; Grobbelaar et Kurano, 2003). Une variante de ce système est l'utilisation de tubes à écoulement d'eau placés au sein même de la culture (Hu *et al.*, 1998).

Plus particulièrement, à l'extérieur, des jets d'eau permettent le contrôle de la température par évaporation (Tredici, 2004). La régulation thermique peut se faire également en immergeant le photobioréacteur dans un bassin rempli d'eau (Fernandez *et al.*, 2001), ou encore en aménageant autour de lui un système d'ombrage (Tredici, 1999).

Quant à l'intérieur, les petits volumes sont généralement placés dans des pièces climatisées (Zittelli *et al.*, 2000).

L'adjonction de systèmes périphériques

Le suivi et la surveillance d'une production en continu, nécessitent des appareils périphériques afin d'assurer le contrôle des cultures. Ainsi, la synthèse de biomasse nécessitera la mise en place d'une alimentation contrôlée (par des pompes), régulière et suffisante des matières premières utilisées (substrats), et d'un soutirage des produits de transformation (biomasse).

2.3. Techniques d'agitation et de mise en circulation

2.3.1. Description des systèmes d'agitation

Injection de gaz

Le système le plus basique et le moins coûteux consiste à injecter du gaz sous forme de bulles en fond de réacteur appelé alors colonne à bulles (Fig 47 a) : les mouvements complexes de la phase liquide sont simplement induits par la population de bulles.

Dans les systèmes de type airlift (Fig 48), l'injection de gaz est réalisée seulement dans une zone localisée du réacteur, une zone de redescente du liquide étant spécialement prévue. La phase liquide est mise en mouvement naturellement, par différence de poids de

colonnes d'eau entre les zones aérée et non aérée.

Différentes configurations de réacteurs airlifts existent (Fig 47 b-d). Dans tous les cas, aucun système mécanique n'est mis en œuvre, ce qui confère une simplicité de concept et un gain énergétique.

Ces modes de fonctionnement permettent également de fortement aérer le milieu et ainsi de ne pas être limitant en terme de transferts gaz-liquide (apport du dioxyde de carbone et élimination de l'oxygène dissous).

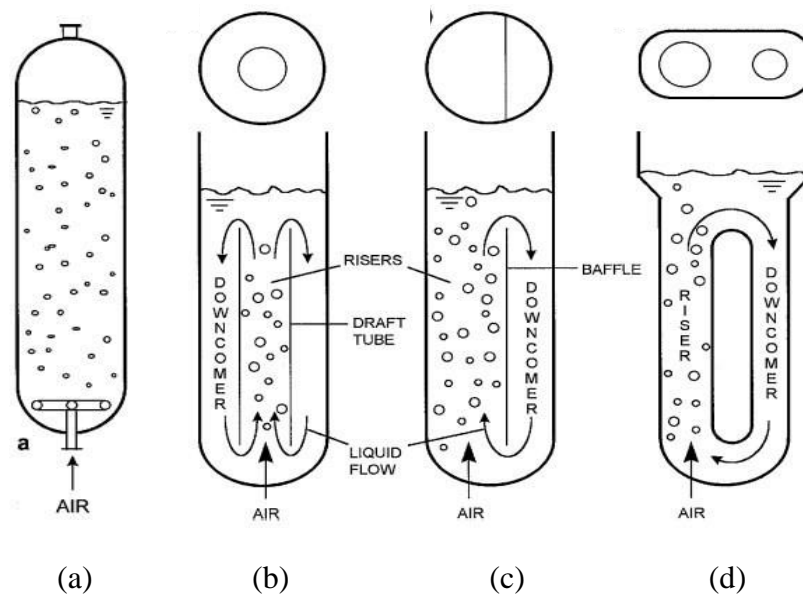


Fig 47 : Schémas de colonne à bulle (a), de photobioréacteurs airlift à chambres annulaires (b) à paroi interne (c) et à boucle externe (d) (Chisti et Moo-Young, 2001).

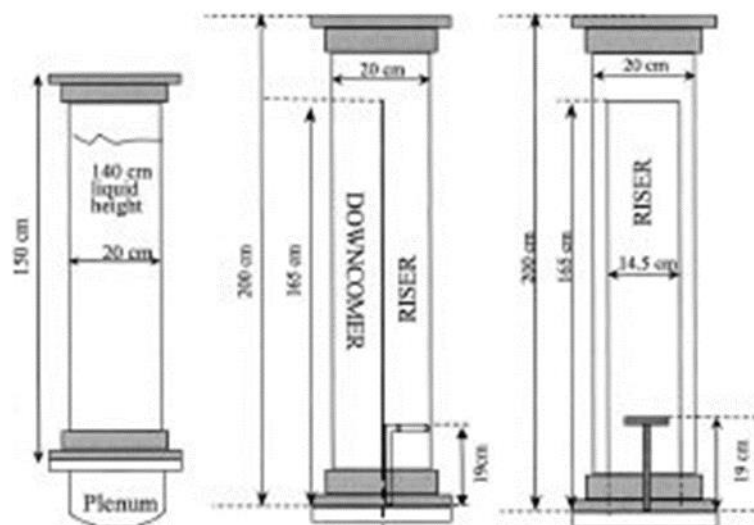


Fig 48 : Configurations de types airlift (Luo et Al Dahhan, 2004).

Enfin, un système d'évacuation des gaz doit être prévu (évents). A noter qu'au niveau de la zone d'échappement du gaz, l'éclatement des bulles en surface peut entraîner une zone de salissure où s'accumulent les cellules mortes propices aux développements bactériens.

Pompe

Les pompes sont des dispositifs externes de mise en circulation largement répandus. Elles sont insérées dans le circuit d'alimentation du photobioréacteur, généralement sur les canalisations, et permettent de connecter les unités de photobioréacteurs entre elles.

Il est important de souligner que ces dispositifs peuvent avoir un effet néfaste sur les cellules, en particulier celles sensibles aux stress hydrodynamiques (Fig 40) (Jaouen *et al.*, 1999 ; Vandanjon *et al.*, 1999).

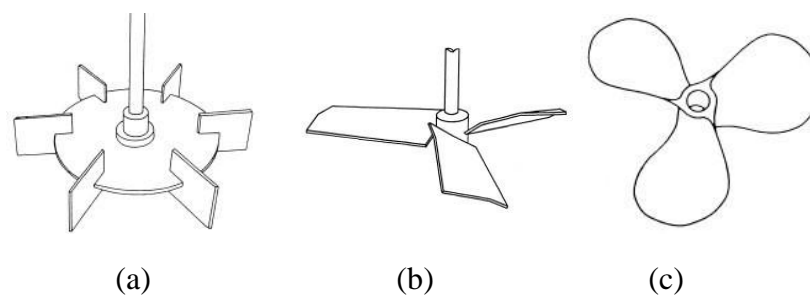


Fig 49 : Différents mobiles d'agitation : (a) Turbine à disque Rushton, (b) hélice hydrofoil, (c) hélicmarine (Chisti et Moo-Young, 2001).

Mobiles d'agitation

Les mobiles d'agitation (hélice, turbine) sont des dispositifs technologiques internes d'agitation mis en rotation par des moteurs (Fig 49). Quelle que soit leur forme, le diamètre des mobiles d'agitation correspond généralement à un tiers de celui du cylindre lorsqu'il s'agit de favoriser le dégazage. Lorsqu'il s'agit de mélanger le milieu, il est réduit entre 0,5 et 0,6 fois celui du photobioréacteur (Chisti et Moo-Young, 2001). Ces dispositifs sont utilisés dans les photobioréacteurs cylindriques verticaux ou horizontaux, les photobioréacteurs plats ayant une chambre de culture d'épaisseur en général trop faible.

Les turbines (Fig 49 a) sont efficaces pour homogénéiser le milieu (mouvement de convection) mais ne permettent pas généralement d'éviter la formation de dépôts (salissures) en parois.

Dans le cas de cultures de cellules sensibles à l'hydrodynamique, des hélices marines de large diamètre (Fig 49 c) sont utilisés à des vitesses de rotation faibles (Chisti et Moo-Young, 2001). Cependant, pour les grands volumes (quelques dizaines de litres), il est nécessaire d'augmenter la vitesse de rotation des hélices pour vaincre les pertes de charges (photobioréacteur tubulaire) ce qui n'est pas toujours bien supporté par tous les microorganismes.

Des systèmes à hélices peuvent provoquer des cisaillements et des taux de turbulence élevés qui perturbe la physiologie des cellules de flagellés. C'est le cas des cellules d'*Isochrysis affinis galbana* (t-Iso) dont la sensibilité à l'action mécanique d'une turbine a été mise en évidence au laboratoire PBA d'IFREMER : soumises à une vitesse de rotation supérieure à 130 rpm, les cellules perdent leurs flagelles. Il suffit cependant d'en diminuer la vitesse pour que les microalgues retrouvent leurs appendices (Bougaran, 2004).

Partie 3

Etude Expérimentale

Chapitre 1

Méthodologie

L'objectif de ce travail en premier lieu est d'obtenir les conditions biotiques et abiotiques de la croissance de la microalgue *Dunaliella salina*, pour parvenir aux conditions optimales de la croissance, pour cela la première des choses est de récolter les données sur les conditions de développement en milieu naturel en prenant en compte les paramètres qui influent d'une façon directe sur le développement de cette microalgue à savoir :

- La Température
- Les Précipitations
- Salinité
- Irradiation Solaire

Le paramètre Nutriment qui représente la dissolution des éléments nutritifs (N.P) n'est pas pris en compte car, à un certain niveau de concentration de salinité il est impossible à ces éléments de se dissoudre dans l'eau saturé en sel, on les considère comme des ressources inutilisables par la microalgue.

Cette partie rappelle sur la nécessité de mesurer les paramètres et d'observer les états de croissance morphologique de cette microalgue, d'où la nécessité de faire des prélèvements tous les quinze jours à partir des premières pluies à savoir le mois de septembre et observer avec précision les moments d'apparition et de disparition de cette microalgue, ces prélèvements peuvent durer jusqu'au mois d'avril, avec l'accélération de l'évaporation et l'augmentation rapide de la salinité au point de saturation.

Pour plus de précision le paramètre Salinité est mesuré sur place, à l'aide d'un appareil de mesure de la salinité digitale un multi-paramètre portable, la température est enregistrée par un mouchard, les deux autres paramètres sont prélevés à la station météo de l'ENASEL.

Les données récoltées sont traduites en moyenne mensuelle et enregistrées en tableaux, annuelle à partir de 2014 jusqu'à 2021.

Le deuxième volet de notre travail consiste à la recherche, la conception et l'étude d'un nouveau photobioréacteur spécifique à la production de *Dunaliella salina*. Pour cela ont

a procédé à la réalisation d'une maquette d'étude et d'instrumentation afin de mettre en valeur les recherches antérieures.

Chapitre 1 MAQUETTE D'ETUDE ET INSTRUMENTATION

1.1 Spécifications de la maquette

Les étapes précédentes ont permis d'effectuer certains choix préliminaires en adéquation avec le cahier des charges. Pour répondre aux besoins de modularité et de simplicité de conception du système, une géométrie de type mixte panels et tubes annulaires verticales a été retenue. La maquette d'étude fig (X), d'un volume de 60 L, forme une boucle de circulation airlift, constituée de deux panels d'un volume de 56 L et deux tubes l'un induit dans l'autre chacun d'un mètre de longueur et de 200 mm et 300 mm de diamètre, respectivement connectées entre elles par un système de recirculation en tube PVC. L'inconvénient majeur d'une géométrie tubulaire où la circulation du liquide est axiale est d'engendrer au fil du temps un encrassement des parois du tube (biofilm). Afin de pallier ce défaut, les deux annulaires sont utilisés pour des métabolite sans lumière.

1.1.1. Nomenclature des pièces de la maquette

La maquette d'étude réalisée par la société PLANCTONID ATLANTIC est conçue de façon à conserver une certaine souplesse afin de tester différentes configurations. La maquette est composée de plusieurs pièces dont la nomenclature est définie sur la fig (X1) où sont situés notamment les panelles, les annulaires du métabolisme, le bassin du stress et le système de décantation.

Sa conception permet à la fois de prendre en compte les besoins spécifiques aux études physiques (hydrodynamique) et biologiques (cultures). Les modifications apportées en cours d'études, seront explicitées dans les paragraphes suivants.

1.1.2. Les Panels

Les panels sont fabriqués en pmma transparent d'une épaisseur de 10 mm et d'une superficie de 1m², chaque panel est constitué de deux plaque en pmma de 1m² assemblé autour d'une structure en PVC massif de tel que ça constitue un genre d'aquarium d'une épaisseur étudié et bien définie, l'accrochage se fait à l'aide d'un système de suspension en inox, sur une structure métallique qui permet une liberté de mouvement en cas de force

éolienne ou mouvement sismique, les panels sont confectionné de façon à avoir une trappe démontable ou cas où nous somme confronté à des colmatages important, la panel comporte des ouverture au niveau de la base et au niveau de la trappe supérieure pour connecter le système de recirculation de la culture, des trous de dégazage et des connexion pour le système d'aération en plus d'une prise pour échantillonnage.

1.1.3. Les Annulaires

Pour faciliter l'évacuation des gaz et limiter l'encombrement au coin mort, les tubes du photobioréacteur ont une orientation verticale. L'injection d'air en fond de tube crée une différence de poids d'eau entre les tubes, mettant ainsi en circulation la phase liquide. La modularité en volume du photobioréacteur sera réalisée par l'adjonction de deux panels l'une superposé l'une sur l'autre connecté par un système de recirculation.

Le choix initial de tubes de 1000 mm de hauteur a été retenu pour faciliter le maniement de la maquette mais fera ensuite l'objet d'études pour déterminer la longueur à retenir sur le prototype final.

1.1.4. Le système de recirculation par pulsation

La génération et l'entretien du mouvement tourbillonnaire sont réalisés en connectant les tubes en bas des panels par des systèmes approprié avec des vannes de régulation de débits pour réguler l'écoulement entre l'entrée et la sortie qui permettent d'introduire la phase liquide tangentiellement en entrée de panel et donc de générer un mouvement tourbillonnaire (Fig). La vitesse d'injection du fluide dans les panels est proportionnellement réduite et assuré par des pompes magnétiques a pulsation ce qui évite les cassures mécaniques au niveau des flagelles. Chaque panel dispose de sa pompe de recirculation afin d'avoir un contrôle sur la concentration pour chaque phase optique.

L'augmentation du nombre de panels se fait pour les deux phase supérieur et inférieur, les panels sont alimentés par la même pompe de recirculation, la jonction se fait en parallèle afin de garantir une bonne distribution du débit d'écoulement.

1.1.5. La distribution d'air

Différents types d'aérateurs d'air ont été testés afin d'évaluer leur impact sur le mouvement tourbillonnaire et sur les transferts gaz-liquide. Quatre modes d'injection sont mis

en place pour test (Fig) :

- Un capillaire horizontal (5 mm de diamètre) centré sur l'axe vertical de symétrie du tube et des panels et placé au fond,
- Un capillaire horizontal (5 mm de diamètre) centré sur l'axe vertical de symétrie du tube et des panels mais placé à mi-hauteur à l'aide d'une canule,
- Une membrane élastique perforée, placée en fond de tube et des panels,
- Un capillaire horizontal (5 mm de diamètre) micro perforé situé à la base du tube et des panels,

L'injection capillaire centrale à mi-hauteur permet d'obtenir des conditions ne « détériorant » le mouvement que sur la partie supérieure du tube et des panels ascendants.

L'injection membranaire est séduisante car génératrice de fines bulles homogènes en taille, favorisant les transferts gaz-liquide. Ces membranes sont classiquement utilisées dans le traitement des eaux.

1.2. Les équipements périphériques de la maquette d'étude

Régulation du pH et de la température lors des cultures

Pour la régulation du pH on utilise un système simple pour l'aquaculture portant une sonde et un système d'alimentation réglable qui contrôle un système d'injection de et de compression de CO₂ ce système combine un mélangeur air gaz comprimé, l'injection se fait par le système d'aération. Pour plus tard un automate ou un logiciel (utilisant une interface numérique) contrôle en continu de l'injection de CO₂ et permet de réguler le pH (consigne de 7,2). En effet, les équilibres carboniques sont sans cesse modifiés lors de la croissance des microalgues qui, en consommant les formes chimiques de HCO₃⁻ et de CO₃²⁻, tendent à alcaliniser le milieu. Une injection de CO₂ co-courant à l'air, permet de diminuer le pH et ainsi de rééquilibrer ces équilibres.

Pour la régulation de la température, les cultures sont menées en conteneur thermorégulées, afin d'être maintenue à $27,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.

Régulation du débit d'air

Les débits d'air sont contrôlés et varient dans une gamme établie entre $(0,1 \text{ et } 1,6) \pm 0,2 \text{ Nl.min}^{-1}$. Le débit d'air est mesuré par un débitmètre à bille relié à un manomètre de

précision (1 bar maximum) pour mesurer la pression de travail (nécessaire à la conversion en $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$). L'air comprimé est généré par un compresseur à vis passant par un système de filtration de particule et système de séchage.

Système d'éclairage

L'éclairage artificiel est réalisé par un mur de lumière composé d'un ensemble de tubes à leds types « lumière du jour ». Les tubes sont disposés horizontalement le long d'un mur et espacés de 10 cm ; l'irradiance reçue est fonction du nombre de tubes allumés et est comprise entre 80 et 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. La mesure de l'irradiance de surface est effectuée à l'aide d'un luxmètre.

1.3. Techniques mises en œuvre pour l'optimisation du photobioréacteur

1.3.1. Optimisation de la lumière

Différentes pistes ont été explorées pour améliorer l'accès à la lumière par les cultures et pour uniformiser l'éclairage sur l'ensemble de la surface. Cependant, dès qu'il s'agit de grandes surfaces (supérieures à 1 m^2), ceci demeure encore délicat.

Ce paragraphe offre un panorama de solutions possibles.

Les solutions pour améliorer l'exploitation lumineuse

L'optimisation de l'utilisation de l'énergie lumineuse au sein du photobioréacteur passe par la résolution des problématiques liées, d'une part, à la géométrie et au volume de l'enceinte, et, d'autre part, aux procédés et techniques mis en œuvre pour l'agitation et la mise en circulation de la culture.

La géométrie adaptée de notre prototype de photobioréacteur à privilégier un rapport élevé de la surface éclairée sur le volume de culture, tout en limitant l'encombrement et en restant en adéquation avec les objectifs de concentration en biomasse souhaitée et de besoins physiologiques de *Dunaliella salina* cultivés. Un compromis sur le diamètre pour l'annulaire et l'épaisseur pour les panels était donc à développer.

Pour optimiser la pénétration de la lumière à travers la colonne de la culture on a procédé à l'utilisation de plusieurs épaisseurs des panels tout en mesurant la quantité de lumière qui pénètre la colonne d'eau en concentration maximale de la culture ont utilisé l'irradiation limite de l'oxydation.

Les procédés et techniques d'agitation et de mise en circulation de la microalgue

Dunaliella Salina au sein de la culture se devais de favoriser au maximum l'accès de chacune des cellules algales à une irradiance adéquate, alternance maximale entre zones éclairées et zones sombres, insi minimiser la formation de dépôts sur les parois causé par l'excès d'irradiation favorisant ainsi la formation d'un biofilm, très négatif pour la pénétration de la lumière dans le milieu.

Angle d'inclinaison

Pour les photobioréacteurs plats et cylindriques, des études ont été réalisé sur l'inclinaison idéale des photobioréacteurs en fonction du degré d'incidence des rayons du soleil.

Pour améliorer l'apport de lumière à la culture, un projet de photobioréacteur tournesol et en développement où les modules sont surélevés et sont connectés les uns aux autres en cascade et ont la capacité de se déplacer automatiquement afin de modifier l'angle d'inclinaison de façon à obtenir une capture maximale de l'irradiance solaire.

Par le jeu de la diffusion de la lumière et en fonction du degré d'inclinaison des rayons solaires, il est possible d'éclairer l'ensemble des parois du photobioréacteur afin d'en optimiser la production selon les saisons Ainsi, ont obtiennent un dédoublement du flux lumineux capté.

Pour notre prototype la démarche a suivre est de produire sous abris avec lumière artificielle, dans le but de multiplier la microalgue *Dunaliella Salina* a des concentrations basses en salinité afin d'avoir une vitesse de multiplication rapide par une reproduction sexuée.

Pour la phase de concentration des biomolécules la culture est mise en bassin à faible profondeur, et exposé a des températures et des irradiations importantes afin d'augmenter progressivement la salinité et la captation de la lumière pour synthétiser du β -carotène et du glycérol.

Epaisseur de la culture

L'intérêt d'une couche de culture de faible épaisseur se justifie si le flux incident de lumière est maîtrisé afin d'éviter tout phénomène de photo-inhibition.

Lors de l'optimisation des photobioréacteurs plats, la nécessité de tester deux épaisseur de culture de quelques centimètres, une plus épaisse que l'autre afin d'avoir une concentration visuelle de démarrage assez consistante pour éviter toute sorte de

photooxydation, la deuxième la plus mince pour augmenter d'avantage la concentration cellulaire de l'étage supérieur donc l'exploitation de la lumière par la culture, en limitant la zone d'atténuation; celle-ci est d'autant plus importante que le rapport de la surface irradiée par rapport au volume de culture.

Optimisation de L'espace

Le choix de cette variante de photobioréacteur plat consiste en une juxtaposition des panneaux verticalement et leur utilisation en série de deux et plus afin de les éclairés par les deux faces, restreignant ainsi l'encombrement (Fig 50).



Fig 50 : Disposition Verticale de trois étages de Photobioréacteur Crevillante Alicante

(© Doukani 2019)

Cette variante de photobioréacteur plat, modulaire, a été introduite de manière indépendante par l'équipe de Partisano Biotech Algérie sous la coupe du directeur scientifique Pr CRISTIAN Gomis. C'est notamment le cas du photobioréacteur plat modulaire (Fig 51) composé de panneaux amovibles éclairés par des panneaux lumineux intercalés.



Fig 51 : Disposition Horizontale d'une batterie de Photobioréacteur Plats Port de Saint-Nazaire Nantes (© Doukani 2021)

1.4. Optimisation des paramètres et test du prototype

Pour les tests dynamiques du prototype et afin d'optimiser les paramètres de production de la biomasse. Nous avons procédé à des tests dynamiques en répétant les expériences afin de fixer les valeurs optimales applicable à notre prototype pour cela on a choisi quatre paramètres à optimiser en plus du facteur constant qui présente le temps

1-La Température

2-L'Intensité lumineuse

3-La Salinité

4-La Concentration des Nitrates

5-Le Temps de séjour

Dans chaque paramètre nous avons choisie deux valeurs en prenant en considération les études préalables et la réalisabilité de ces expériences, ce qui nous a permis de réaliser 16 expériences en variant à chaque fois une valeur de chaque paramètre, ces expériences nous ont permis de fixer les valeurs optimums pour les quatre paramètres au même temps.

Chapitre 2

Résultat et Discussion

Détermination des paramètres de déclenchement des mécanismes de concentration du β -carotène

Les équipements installés au sein de l'Unité de ENASEL Arzew limitrophe avec la saline d'Arzew nous ont permis de récolter sur plusieurs années des informations concernant les paramètres agissant directement sur l'apparition, la croissance, la concentration et la disparition de cette microalgue.

Le cycle de vie de la microalgue *Dunaliella Salina* passe par plusieurs étapes dans le milieu naturel. Dans les salines la microalgue apparaît avec les premières pluies hivernales qui tendent à diluer les saumures au niveau des salines, *Dunaliella Salina* atteindra la pleine croissance sexuée dans les salinités les plus faible enregistré après les chutes massives des pluies.

Avec l'augmentation de la température et de l'irradiation solaire le volume de la saline a tendance à régresser du fait de l'évaporation, donc entraînant l'augmentation progressive de la salinité au fur et à mesure ,de la pression osmotique exercé sur les membrane de la microalgue *Dunaliella Salina* ,cette dernières a le pouvoir de contrarier ces conditions écologique très rude par plusieurs forme d'adaptation ,parmi elles la concentration de la β -carotène un pigment naturelle qui la protège contre l'irradiation solaire et de la glycérol afin de résister a la forte pression osmotique exercé par la forte salinité qui peut arriver a 35% au point ou le sel devient insoluble dans cette saturation.

Ce passage d'un état a un autre est difficile pour ne pas dire impossible a réaliser, pour cela et pour arriver a combinée les trois paramètres qui influent sur cette forme d'adaptation ont a récolté sur plusieurs années de 2015 à 2021 les données de la température, des précipitations de l'irradiation solaire et de l'évolution de la salinité afin de simuler les conditions naturelles et arriver à les appliquer sur un modèle expérimentale. Les données sont illustrées dans les tableaux qui suit :

Tableau 11 : Données Climatique Arzew 2015 (© Doukani 2022)

	janv. 2015	fev. 2015	mars 2015	avr. 2015	mai 2015	juin 2015	juil. 2015	août 2015	sept. 2015	oct. 2015	nov. 2015	dec. 2015	Année Complète
Tempé. maxi Extrême	20,8	18,4	26,3	28,2	27,6	30,6	35,9	36,6	34,3	32,8	26,3	21,2	36,6
Tempé. maxi Moyennes	16	15,4	18	20,3	22,1	24,7	28,9	29,1	26,6	24	19,8	18,4	21,9
Tempé. moy Moyennes	12,6	13	14,6	17,8	20	22,3	26,5	27	24	21	16,7	14,6	19,2
Tempé. mini Moyennes	9,3	10,6	11,2	15,3	17,9	19,9	24	24,9	21,4	18	13,5	11	16,4
Tempé. mini Extrême	5,8	4,9	5,9	12,6	15,2	17,1	22,4	21,3	17,8	13,75	9,7	8	4,9
Tempé. maxi minimale	11,5	11,7	14,2	16,4	18,75	21,1	23,4	26,6	22,7	20,1	11,2	16,3	11,2
Tempé. mini Maximale	17,3	14,5	16,1	18,6	22,3	23,2	27,2	28	25,2	24,4	17,2	13,7	28
Cumul Précips	52	56	15	4	2	4	0	4	2	40	37	0	216
Max en 24h de précips	30	15	10	2	2	4	0	4	2	28	13	0	30
Max en 5j de précips	51	25	15	3	2	4	0	4	2	34	33	0	51
Moyenne ≥ 1 de précips [?]	10,4	4,3	7,5	1,3	2	4	0	4	2	10	6,2	0	5,2
DJU Chaud	168.5	141	118.5	35.6	12.7	0.1				11.5	60.1	102.1	650.1 Moy: 72
DJU Froid	1		12.4	29.5	74.8	130.2	262.5	279.1	180.4	104.8	19.9	4.1	1098.7 Moy: 100

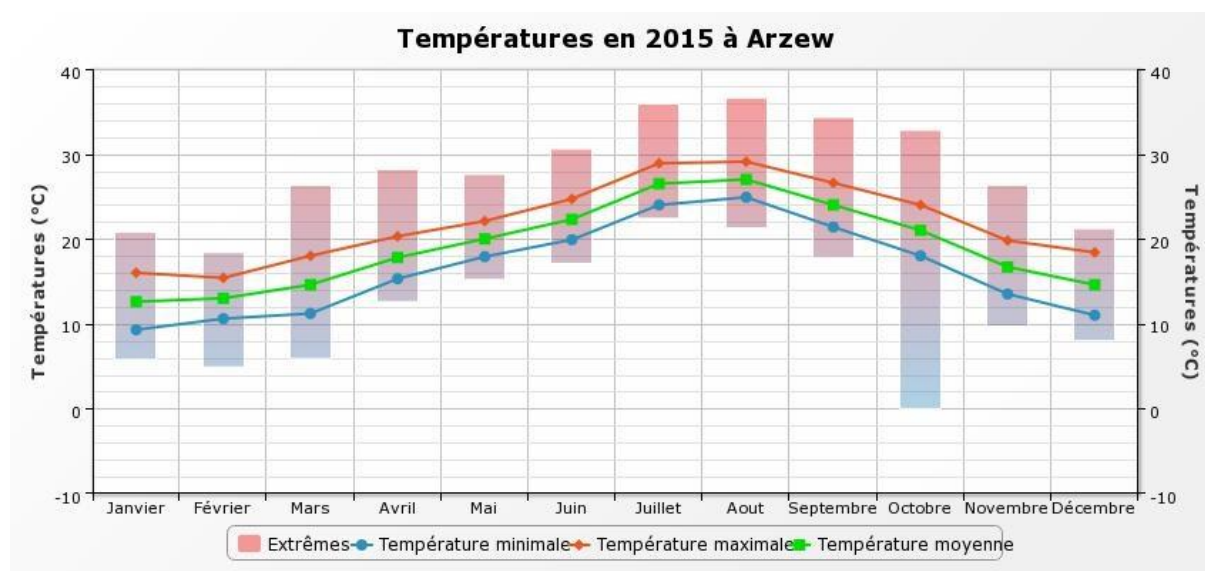


Fig. 52 : Températures à Arzew 2015 (© Doukani 2022)

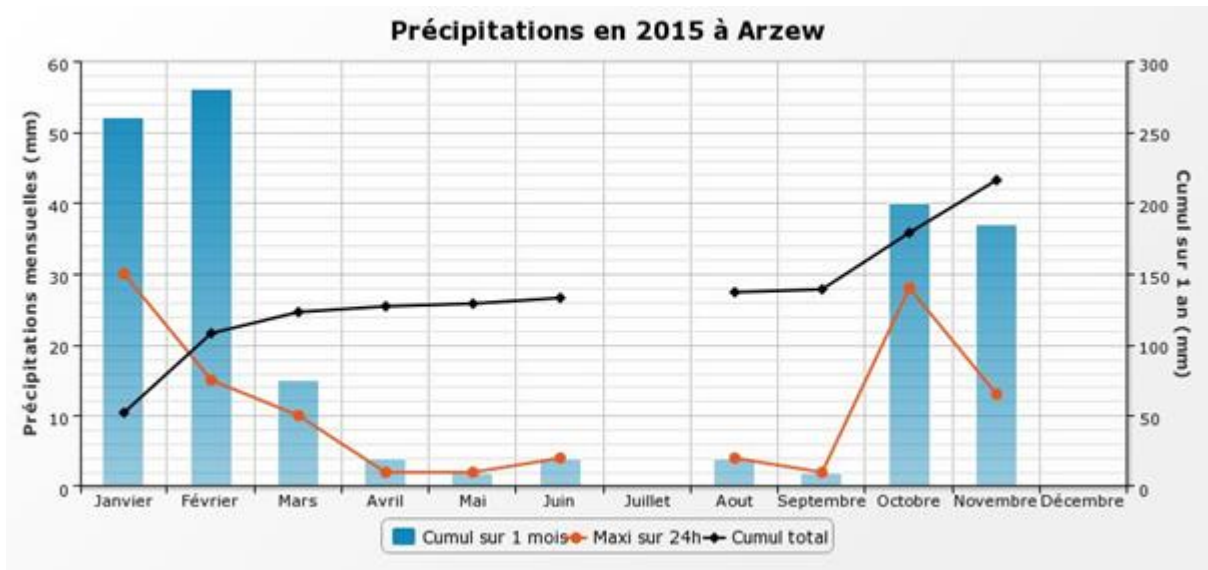


Fig. 53 : Précipitations à Arzew 2015 (© Doukani 2022)

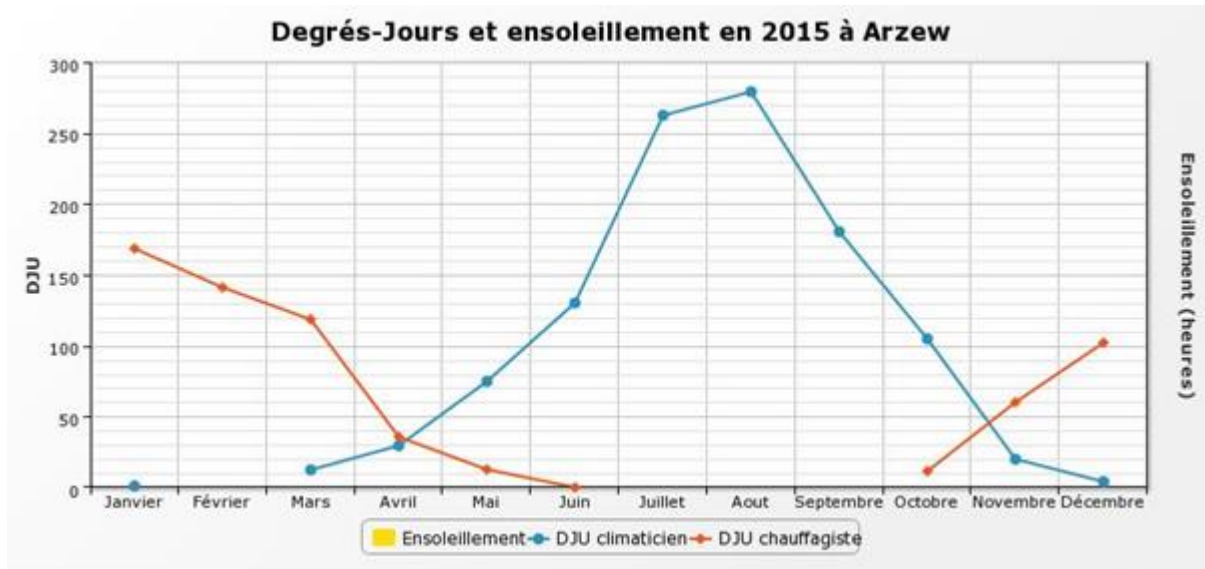


Fig. 54 : DJU et ensoleillement à Arzew 2015 (© Doukani 2022)

Tableau 12 : Données Climatique Arzew 2016 (© Doukani 2022)

	janv. 2016	fev. 2016	mars 2016	avr. 2016	mai 2016	juin 2016	juil. 2016	août 2016	sept. 2016	oct. 2016	nov. 2016	dec. 2016	Année complète
Tempé. maxi extrême	24,3	23,4	22,9	25,6	30,8	35,6	34,6	37	32,7	36	29,1	22	37
Tempé. maxi moyennes	18,4	18,2	17,9	20,2	22,8	26,2	26,7	27,5	27,1	25,9	21,1	17,2	22,4
Tempé. moy moyennes	15,3	15,4	14,5	17,2	19,8	23,3	24,5	25,3	24,5	22,7	17,7	14,7	19,6
Tempé. mini moyennes	12,2	12,7	11	14,2	16,8	20,4	22,4	23,2	21,9	19,5	14,3	12,1	16,7
Tempé. mini extrême	5,7	6,2	7,1	8,6	11,4	17,1	18,1	19,3	17,5	15,3	10,5	7,9	5,7
Tempé. maxi minimale	14,3	12,2	14,1	15,7	18	22,2	23,2	23,4	24,3	21,8	16,7	14,4	12,2
Tempé. mini maximale	16,5	18,4	15,8	17,8	21,3	26,7	25,4	27,7	24,6	25,8	19,8	17,1	27,7
Cumul Précips	31	46	52	44		5				6	54	38	276
Max en 24h de précips	13	20	18	18		5				4	25	10	25
Max en 5j de précips	13	32	32	44		5				6	28	28	44
Moyenne ≥ 1 de précips [?]	10,3	7,7	8,7	14,7		5				3	6	4,8	7,5
DJU (chauffagiste)	96	86,3	116,4	47,6	13,7	0,1			0,1	2,1	47,3	107	516,6 Moy: 52
DJU (climaticien)	10,8	11,7	6,3	23,8	69,3	159,1	196,8	227,5	195,8	147,8	37,4	3,3	1089,6 Moy: 91

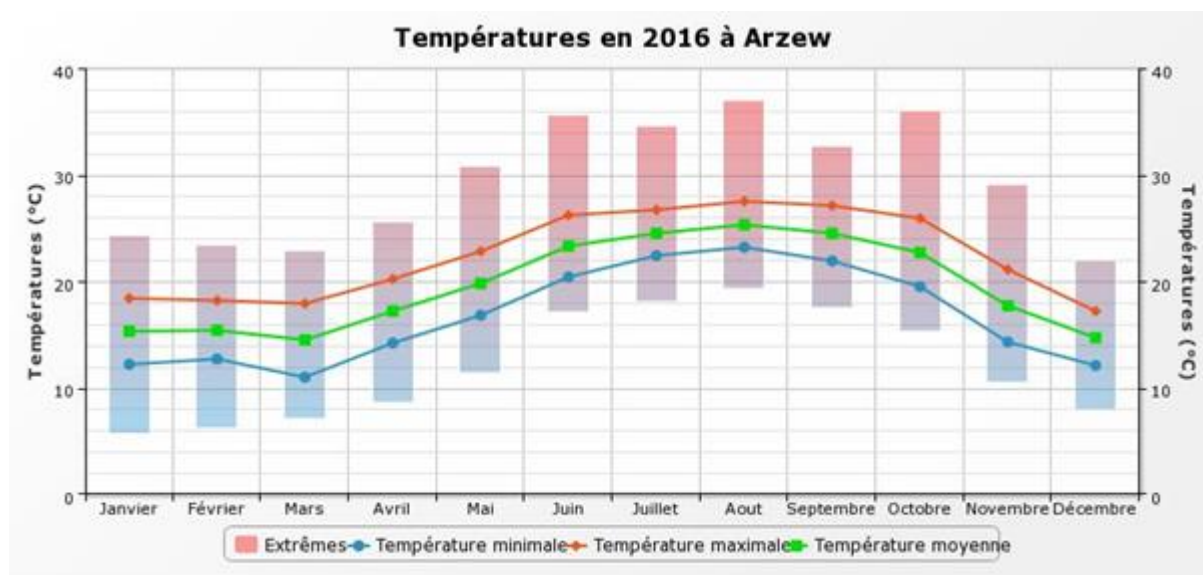


Fig. 55 : Températures à Arzew 2016 (© Doukani 2022)

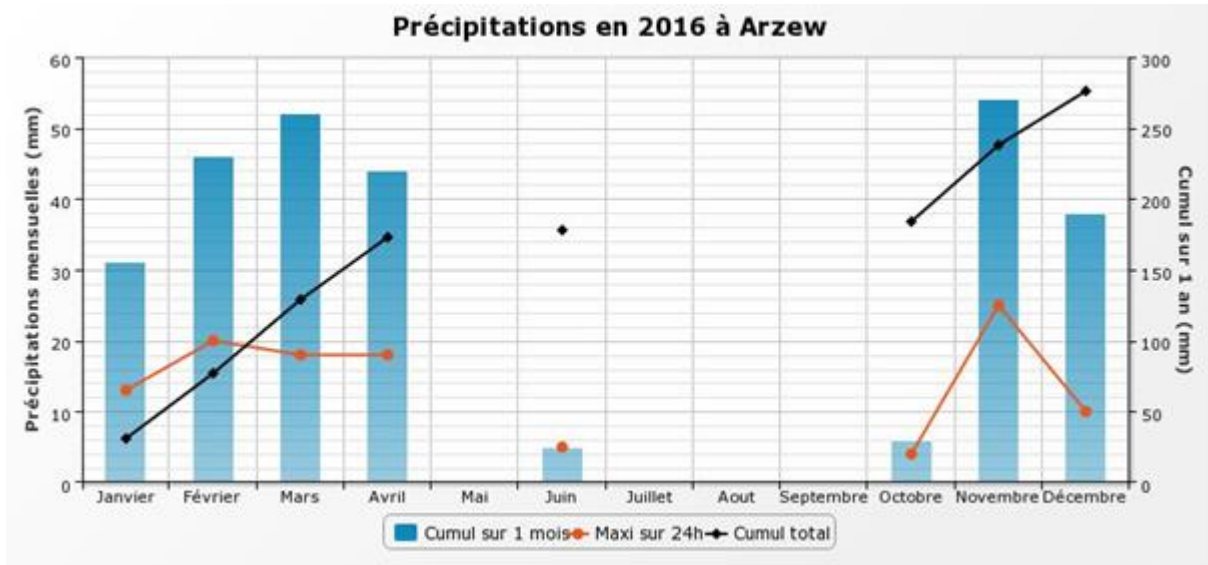


Fig. 56 : Précipitations à Arzew 2016 (© Doukani 2022)

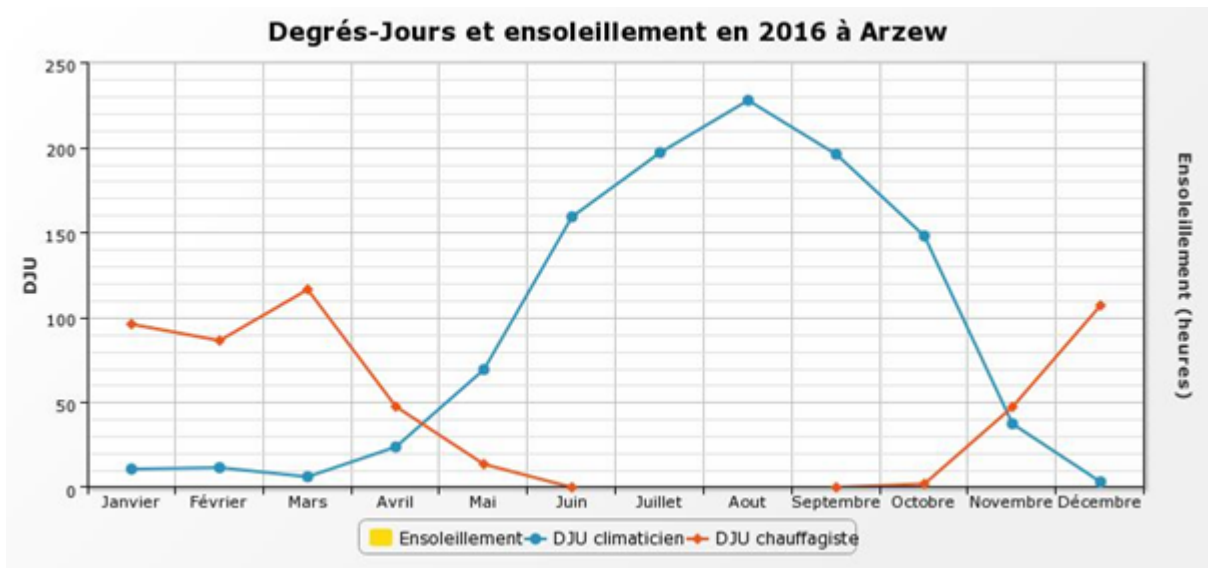
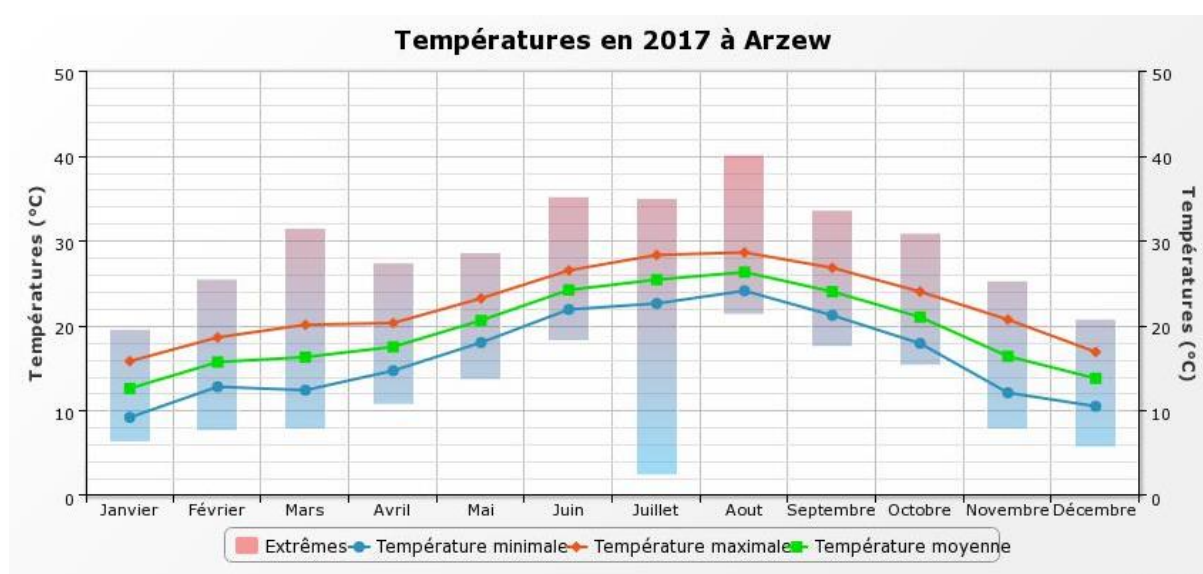


Fig. 57 : DJU et ensoleillement à Arzew 2016 (© Doukani 2022)

Tableau 13 : Données Climatique Arzew 2017 (© Doukani 2022)

	janv. 2017	fev. 2017	mars 2017	avr. 2017	mai 2017	juin 2017	juil. 2017	août 2017	sept. 2017	oct. 2017	nov. 2017	dec. 2017	Année complète
Tempé. maxi extrême	19,6	25,5	31,5	27,4	28,6	35,2	35	40,1	33,6	30,9	25,3	20,8	40,1
Tempé. maxi moyennes	15,8	18,6	20,1	20,3	23,2	26,5	28,3	28,6	26,8	24	20,7	16,9	22,5
Tempé. moy moyennes	12,6	15,7	16,3	17,5	20,6	24,2	25,4	26,3	24	21	16,4	13,8	19,5
Tempé. mini moyennes	9,2	12,8	12,4	14,7	18	21,9	22,6	24,1	21,2	17,9	12,1	10,5	16,4
Tempé. mini extrême	6,3	7,6	7,8	10,7	13,6	18,2	2,4	21,3	17,5	15,3	7,8	5,7	2,4
Tempé. maxi minimale	8,6	15,4	16,1	17	18,6	22,9	25,1	24,7	24	20,8	15,7	13	8,6
Tempé. mini maximale	15,7	19,1	16,3	18	20,4	25,7	26,1	27,2	24	22,2	17,4	16,6	
Cumul Précips	88	2	13	7	3			3	7	12	69	26	230
Max en 24h de précips	39	2	8	5	3			3	7	8	33	10	39
Max en 5j de précips	79	2	9	7	3			3	7	12	59	19	79
Moyenne ≥ 1 de précips [?]	12,6	2	4,3	3,5	3			3	7	6	17,3	3,3	6,2
DJU (chauffagiste)	164.6	75.5	69.3	40.7	5.2		5.4		0.1	3.7	59.1	111.9	535.5 Moy: 54
DJU (climaticien)	1	11.5	19	25.8	82.1	185.4	236.8	250.9	180.5	89.7	20.2	1.9	1104.8 Moy: 92


Fig. 58 : Températures à Arzew 2017 (© Doukani 2022)

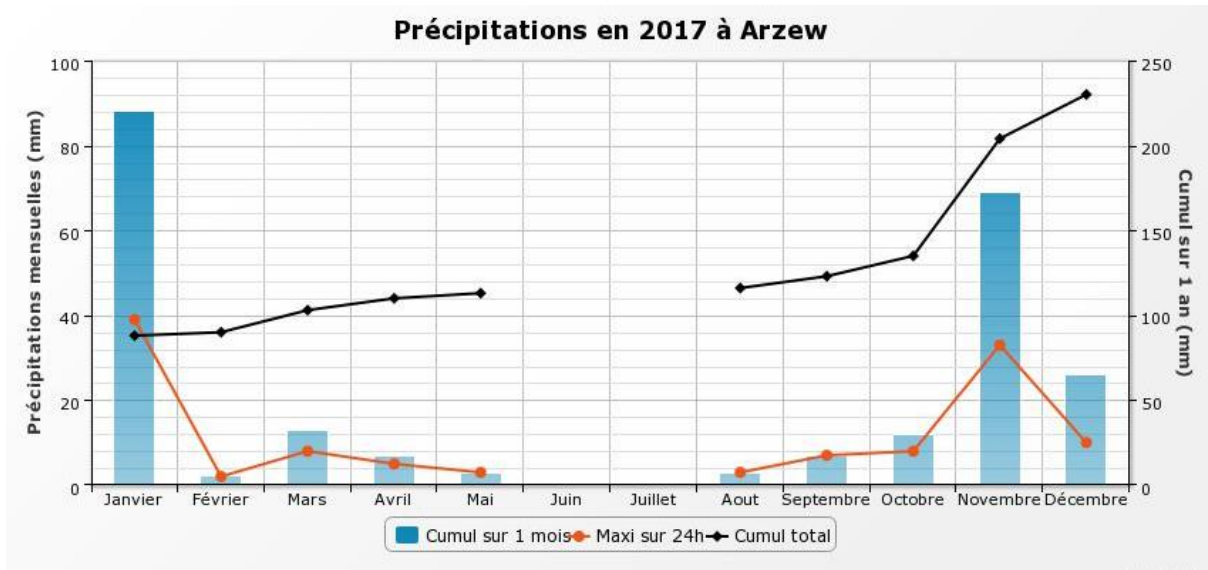


Fig. 59 : Précipitations à Arzew 2017 (© Doukani 2022)

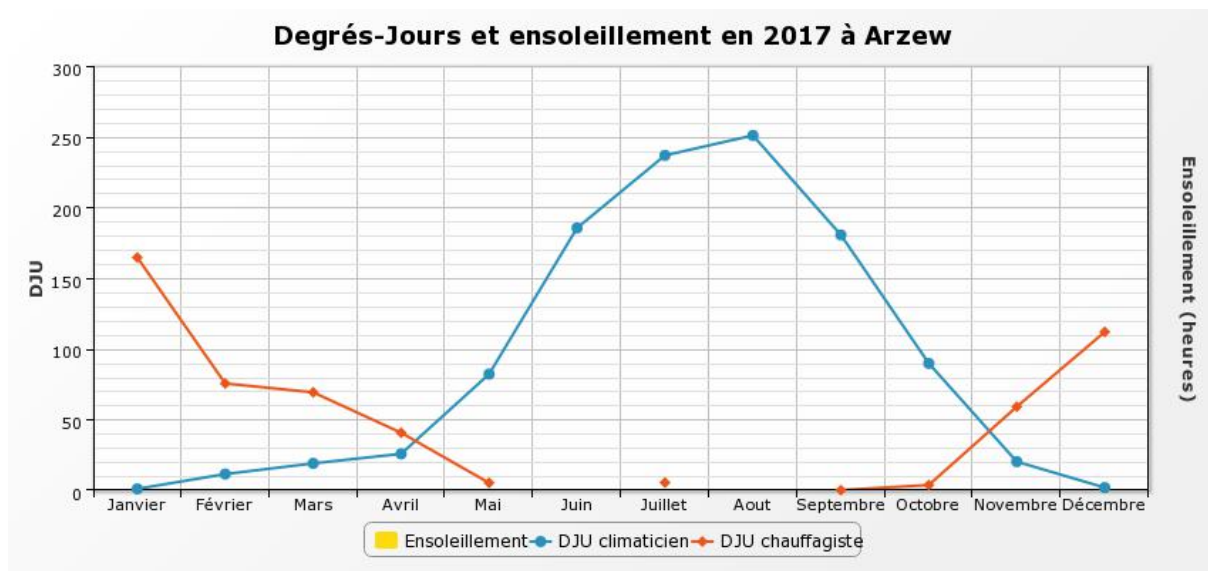
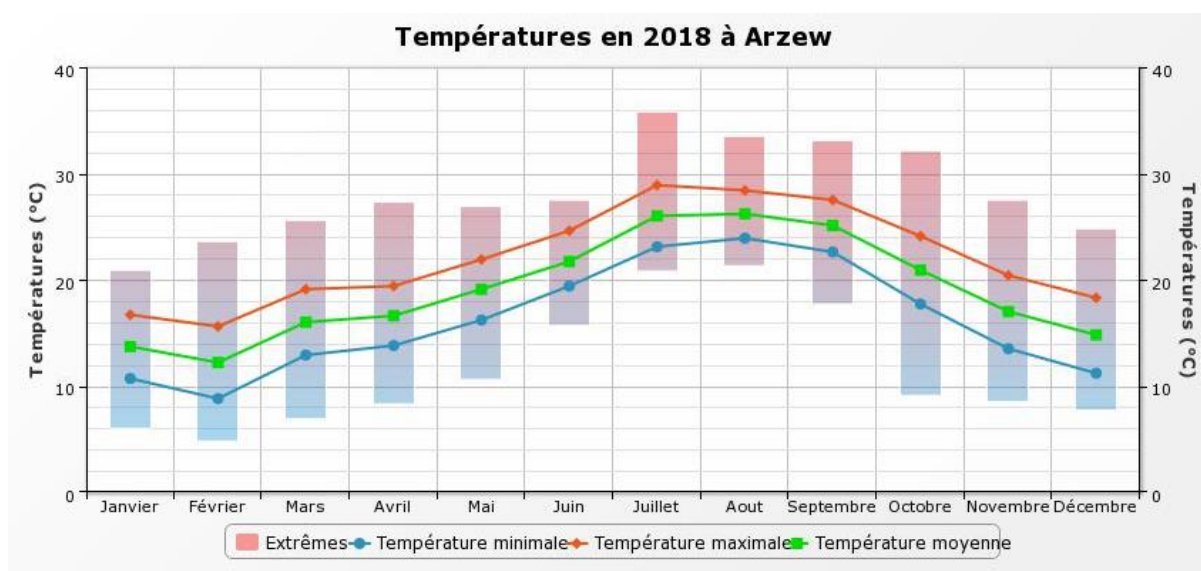


Fig. 60 : DJU et ensoleillement à Arzew 2017 (© Doukani 2022)

Tableau 14 : Données Climatique Arzew 2018 (© Doukani 2022)

	janv. 2018	fev. 2018	mars 2018	avr. 2018	mai 2018	juin 2018	juil. 2018	août 2018	sept. 2018	oct. 2018	nov. 2018	dec. 2018	Année complète
Tempé. maxi extrême	20,9	23,6	25,6	27,3	26,9	27,5	35,8	33,5	33,1	32,1	27,5	24,8	35,8
Tempé. maxi moyennes	16,7	15,6	19,1	19,4	21,9	24,6	28,9	28,4	27,5	24,1	20,4	18,3	22,1
Tempé. moy moyennes	13,7	12,2	16	16,6	19,1	21,7	26	26,2	25,1	20,9	17	14,8	19,1
Tempé. mini moyennes	10,7	8,8	12,9	13,8	16,2	19,4	23,1	23,9	22,6	17,7	13,5	11,2	16,1
Tempé. mini extrême	6	4,8	6,9	8,3	10,6	15,7	20,8	21,3	17,7	9,1	8,5	7,7	4,8
Tempé. maxi minimale	13,6	10,1	11,3	16,7	18,3	20,4	25,6	25,1	23,5	17,4	16,9	15,4	10,1
Tempé. mini maximale	15,5	12,2	16,5	17,3	19,9	22,2	26,1	26,1	25,1	21,6	18,7	14,1	26,1
Cumul Précips	33	54	72	23	17	5		2	20	87	39,3	3	355,3
Max en 24h de précips	18	17	23	10	9	5		2	8	20	13	3	23
Max en 5j de précips	23	30	33	18	14	5		2	12	49	15	3	49
Moyenne ≥ 1 de précips [?]	6,6	6	5,5	3,3	5,7	5		2	5	7,9	5,6	3	5,1
DJU (chauffagiste)	116	158.8	76	49.9	17.8	0.8				15.2	49.4	93.6	577.5 Moy: 64
DJU (climaticien)	2.2	1.6	16.9	13	49.9	63.8	152.7	180.8	199.5	99.1	20	6.5	806 Moy: 67


Fig. 61 : Températures à Arzew 2018 (© Doukani 2022)

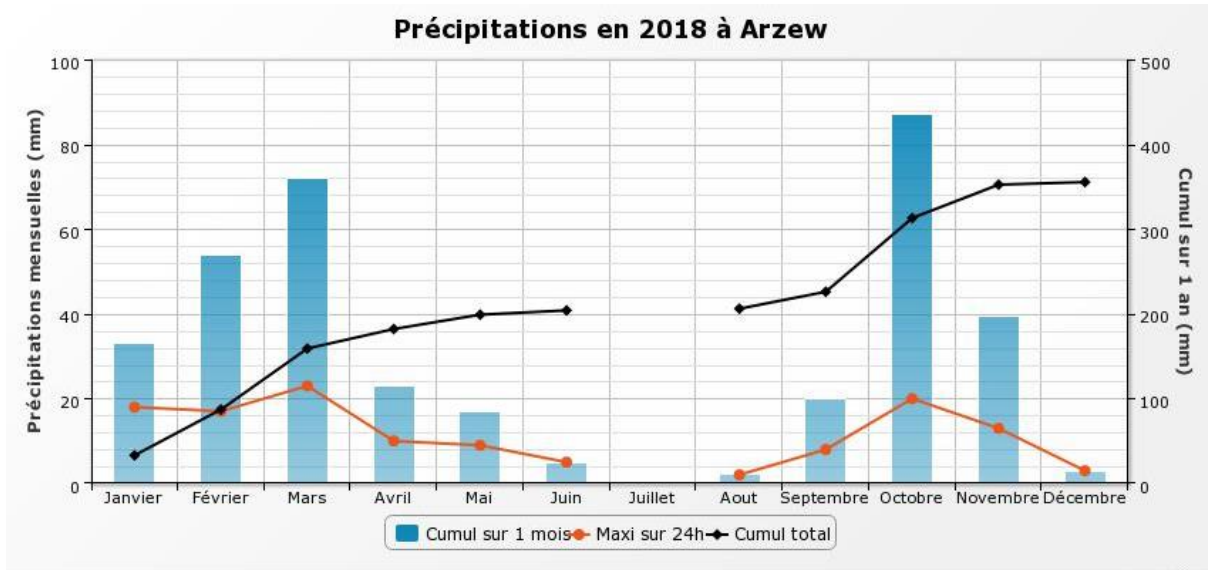


Fig. 62 : Précipitations à Arzew 2018 (© Doukani 2022)

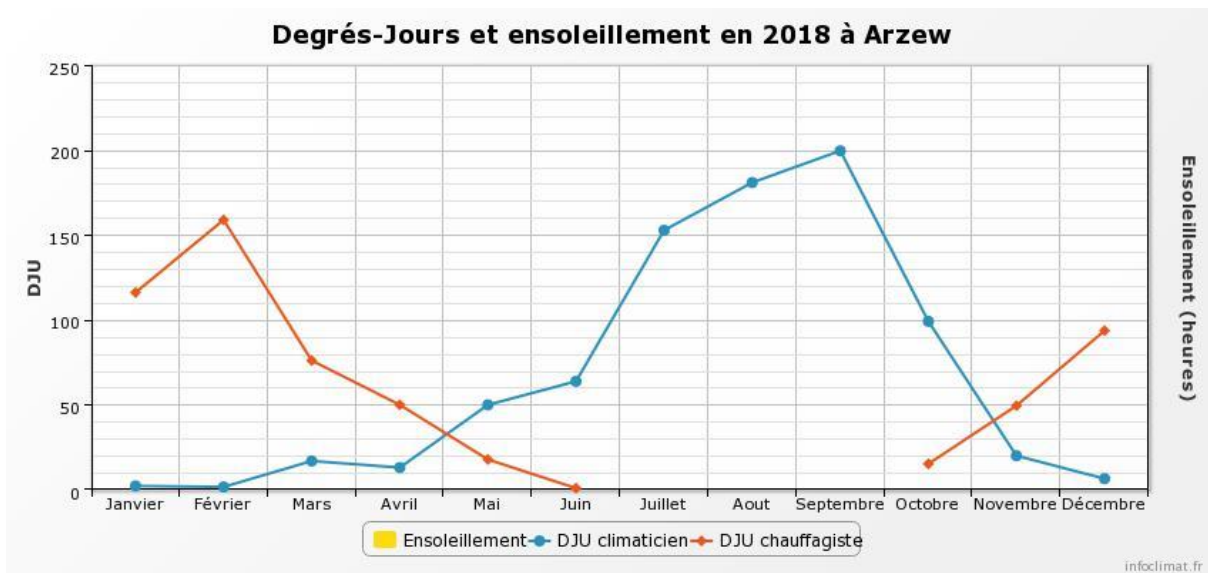


Fig. 63 : DJU et ensoleillement à Arzew 2018 (© Doukani 2022)

Tableau 15 : Données Climatique Arzew 2019 (© Doukani 2022)

	janv. 2019	fev. 2019	mars 2019	avr. 2019	mai 2019	juin 2019	juil. 2019	août 2019	sept. 2019	oct. 2019	nov. 2019	dec. 2019	Année complète
Tempé. maxi extrême	18,7	21,6	26,1	25,8	28,8	31	44,5	38,3	31,6	33,6	26,1	26,2	44,5
Tempé. maxi moyennes	16,5	17,6	18,6	20,3	23,1	25,3	30	29,1	26,7	24,9	19,8	18,8	22,5
Tempé. moy moyennes	13,4	14	15,9	17	20,3	22,6	26,8	26,6	24,2	21,3	17,2	15,9	19,6
Tempé. mini moyennes	9,3	10,1	12,7	13,9	17,5	20	23,6	24,1	21,8	17,6	14,6	13	16,5
Tempé. mini extrême	5	4,9	8,6	10,8	14,9	16,4	20,7	21,6	16,1	13,5	8,1	8,3	4,9
Tempé. maxi minimale	12,7	14,7	14,9	15,6	18,9	21,2	25,4	25	22,9	15,7	14,1	14,9	12,7
Tempé. mini maximale	15,2	13,7	15,9	16,7	21	23,5	26,1	28,7	24,3	22,7	21,1	18,7	28,7
Cumul Précips	37,9	9	25,6	39	12	0	0	1	9,1	32	32,8	18,5	216,9
Max en 24h de précips	24	7	7	12	9			1	8	10	9	11	24
Max en 5j de précips	33,8	9	18	26	11			1	8,3	32	20	11,5	33,8
Moyenne ≥ 1 de précips [?]	7	4,5	4,2	6,5	4			1	8	6,4	5,3	9	5,6
DJU (chauffagiste)	98	92.7	59.9	49.2	4.6	0.5			0.7	12.6	54.2	78.4	450.8 Moy: 45
DJU (climaticien)	0.2	3.6	8.4	21.2	62	140.2	273.4	267.3	187.4	114.6	30	13.6	1121.9 Moy: 93

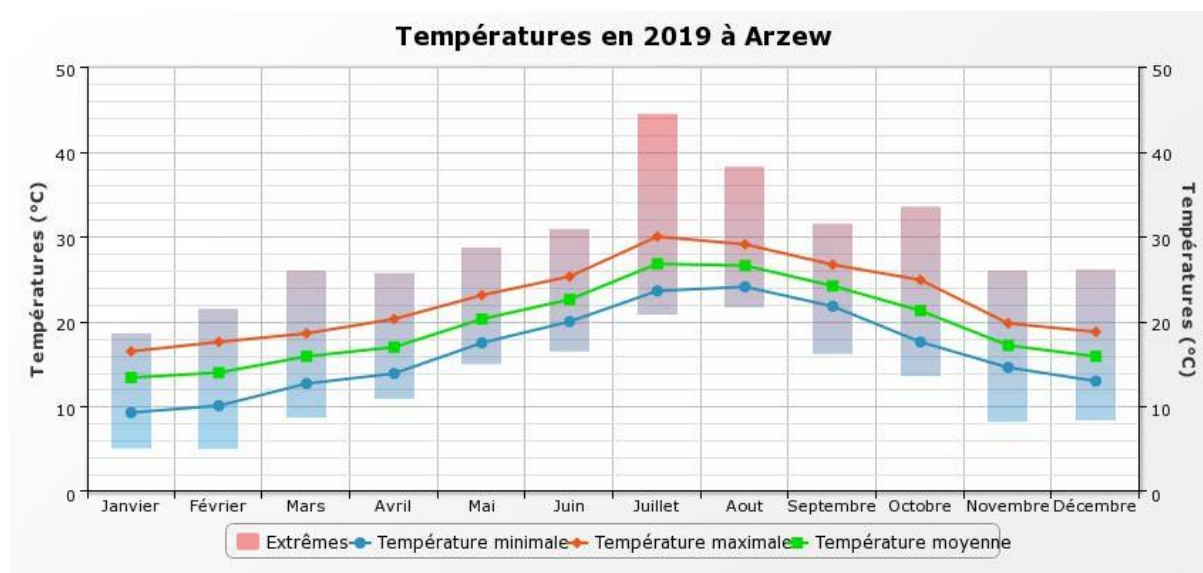


Fig. 64 : Températures à Arzew 2019 (© Doukani 2022)

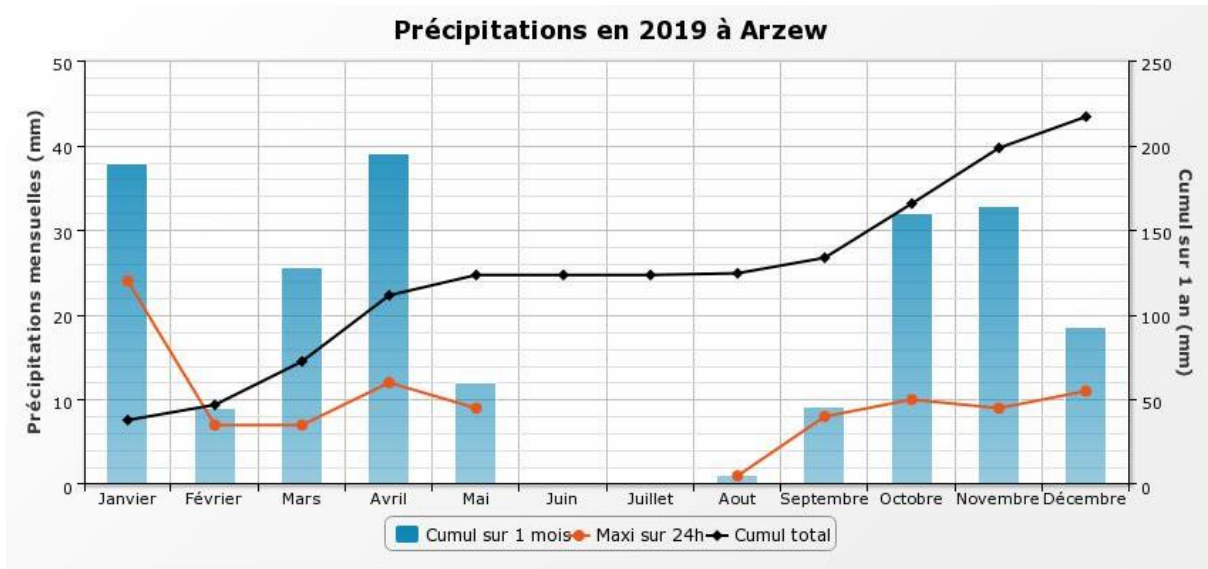


Fig. 65 : Précipitations à Arzew 2019 (© Doukani 2022)

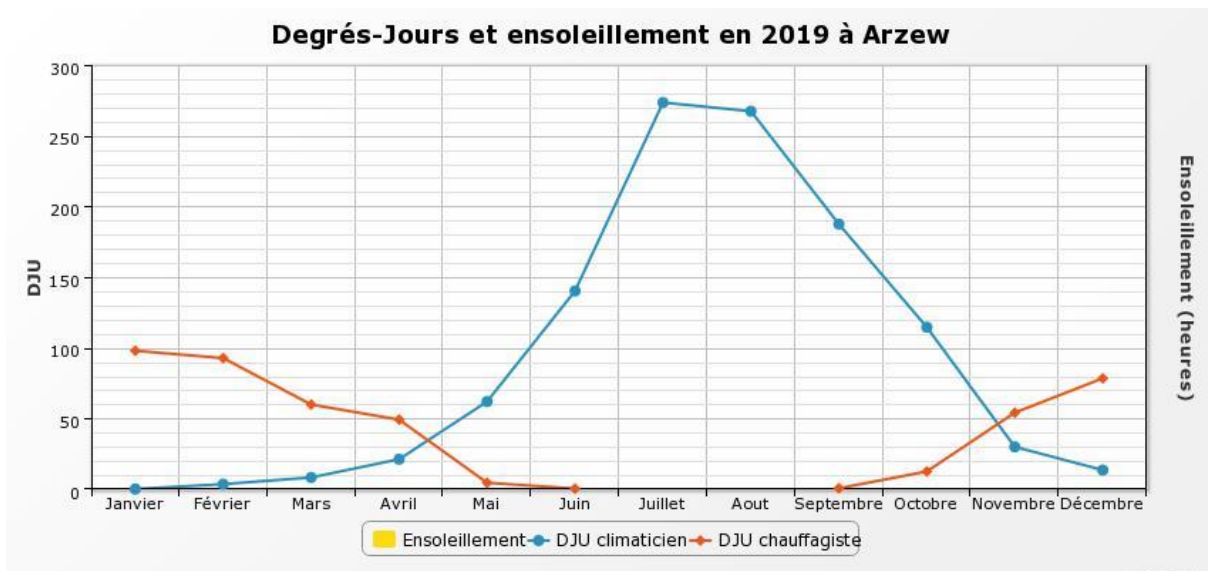
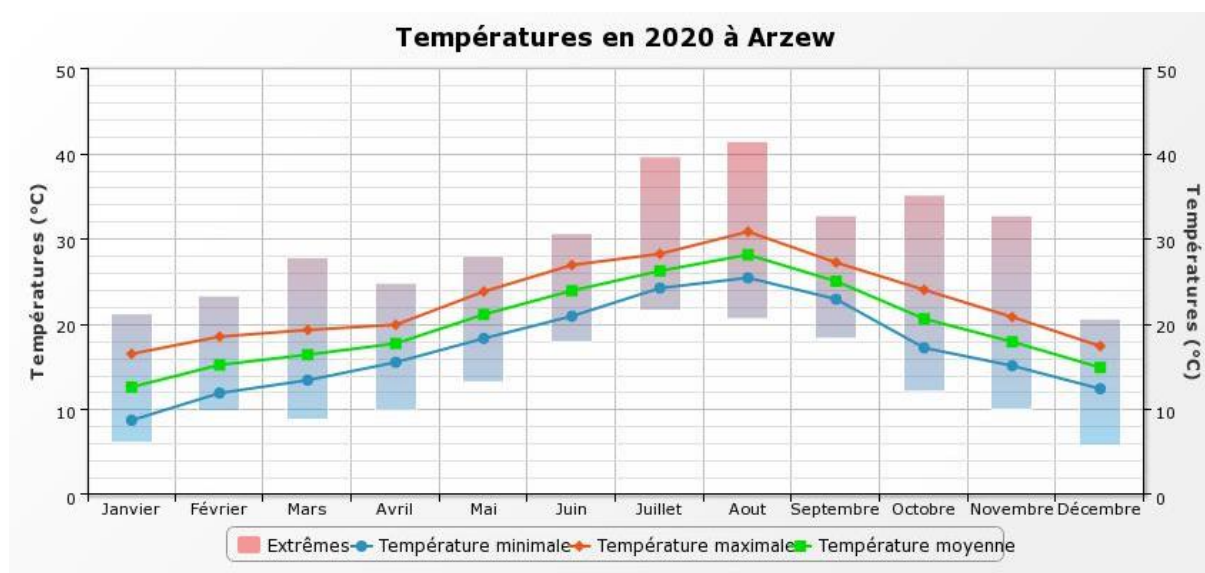


Fig. 66 : DJU et ensoleillement à Arzew 2019 (© Doukani 2022)

Tableau 16 : Données Climatique Arzew 2020 (© Doukani 2022)

	janv. 2020	fev. 2020	mars 2020	avr. 2020	mai 2020	juin 2020	juil. 2020	août 2020	sept. 2020	oct. 2020	nov. 2020	dec. 2020	Année complète
Tempé. maxi extrême	21,2	23,3	27,8	24,8	28	30,6	39,6	41,4	32,7	35,1	32,7	20,6	41,4
Tempé. maxi moyennes	16,5	18,5	19,3	19,9	23,8	26,9	28,2	30,8	27,2	24	20,8	17,4	22,8
Tempé. moy moyennes	12,6	15,2	16,4	17,7	21,1	23,9	26,2	28,1	25	20,6	17,9	14,9	20
Tempé. mini moyennes	8,7	11,9	13,4	15,5	18,3	20,9	24,2	25,4	22,9	17,2	15,1	12,4	17,2
Tempé. mini extrême	6,1	9,8	8,8	9,9	13,2	17,9	21,6	20,6	18,3	12,1	10	5,8	5,8
Tempé. maxi minimale	13	15,3	15,7	16,9	20	23	26,2	27,1	24,8	19,4	17	13,7	13
Tempé. mini maximale	11,9	15,3	16,8	17	20,8	23,4	26,4	28,2	27,7	22,1	22,8	17,9	28,2
Cumul Précips	35	0	24,3	54,1	14,3	0	0	0	0	4,8	19,3	74,3	226,1
Max en 24h de précips	17		10	15	10					4	9	33	33
Max en 5j de précips	18		12	29,3	12					4	19	56,3	56,3
Moyenne ≥ 1 de précips [?]	5,8		4	6,6	4,7					4	6,3	8,2	5,7
DJU (chauffagiste)	170	89,2	66,5	28,1	5,5					14,1	39,8	101,1	514,3
DJU (climaticien)	2,8	7,1	15,1	18,2	98,9	177,7	255,1	304,5	211,7	94,3	37,8	4,2	1227,4
													Moy: 102


Fig. 67 : Températures à Arzew 2020 (© Doukani 2022)

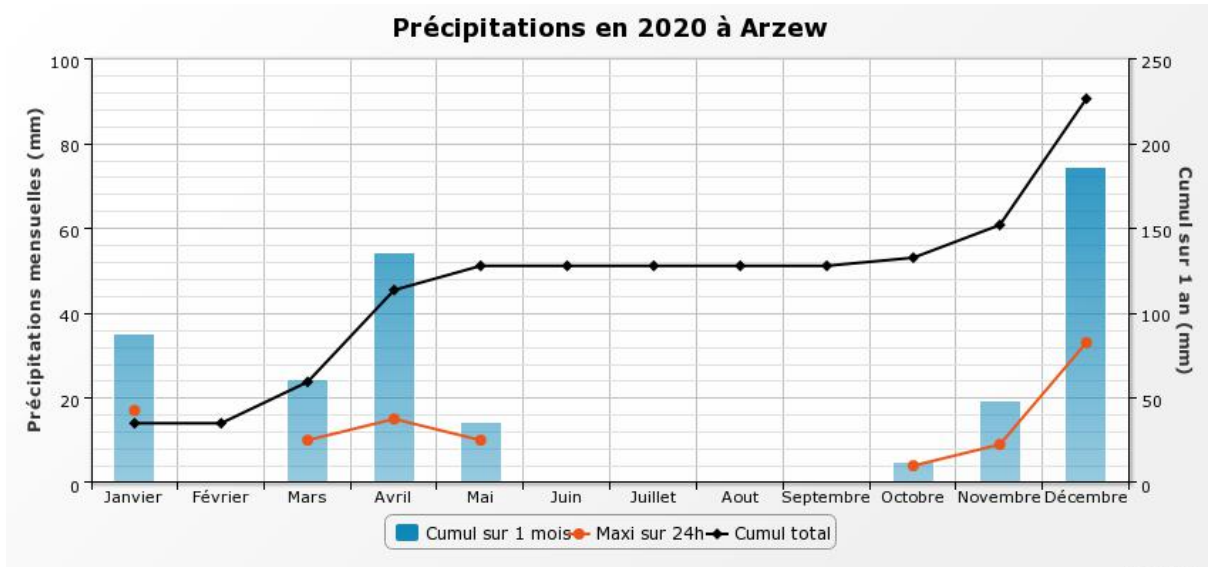


Fig. 68 : Précipitations à Arzew 2020 (© Doukani 2022)

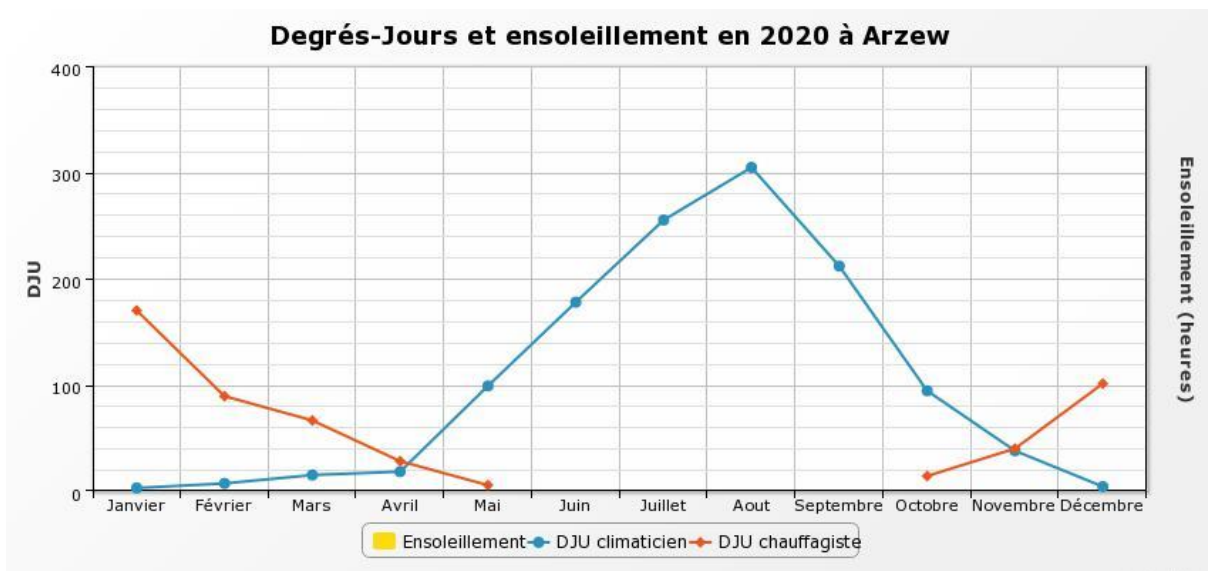


Fig. 69 : DJU et ensoleillement à Arzew 2020 (© Doukani 2022)

Tableau 17 : Données Climatique Arzew 2021 (© Doukani 2022)

	janv. 2021	fev. 2021	mars 2021	avr. 2021	mai 2021	juin 2021	juil. 2021	août 2021	sept. 2021	oct. 2021	nov. 2021	dec. 2021	Année complète
Tempé. maxi extrême	21,9	29,8	28,6	26,5	28,9	32,7	38,5	36	32,4	30	27,1	22,8	38,5
Tempé. maxi moyennes	16,4	18,7	17,8	20,8	23,2	25,9	30	29	27,7	23,6	19,4	18,7	22,6
Tempé. moy moyennes	13,6	15,8	15,3	18,1	20,6	23,4	27,1	26,7	25,4	20,9	16,7	15,4	19,9
Tempé. mini moyennes	10,7	12,9	12,8	15,3	18	20,9	24,2	24,5	23,1	18,3	13,9	12,2	17,2
Tempé. mini extrême	6,2	9,6	7,8	11,5	12,7	17,9	22,3	21,4	19,1	15,6	10,7	8,7	6,2
Tempé. maxi minimale	11,9	15,3	13,4	16,8	18,5	22,5	25,5	26,2	24,9	20,7	13,9	14,8	11,9
Tempé. mini maximale	16,8	20,3	17,2	17,1	21,6	22,9	29,4	26,7	26,6	22,1	21,8	16,7	29,4
Cumul Précips	40	0,8	86,5	19,3	4,1	11,6	0	1,4	5,3	6	103,3	16,8	295,1
Max en 24h de précips	13	0,5	29	14	3	5		0,8	5	6	16	16	29
Max en 5j de précips	30,5	0,5	48	14,6	3,3	9		1,4	5	6	63	16,8	63
Moyenne ≥ 1 de précips [?]	4,9		12,3	8,5	3	2,8			5	6	7,9	16	7,4
DJU (chauffagiste)	143,5	76	92,1	28,2	4,7					3,7	64,9	89,3	502,4 Moy: 63
DJU (climaticien)	4,5	14,4	7,9	31,1	78,5	163,4	282,4	271,4	222,2	95	24,1	9,4	1204,3 Moy: 100

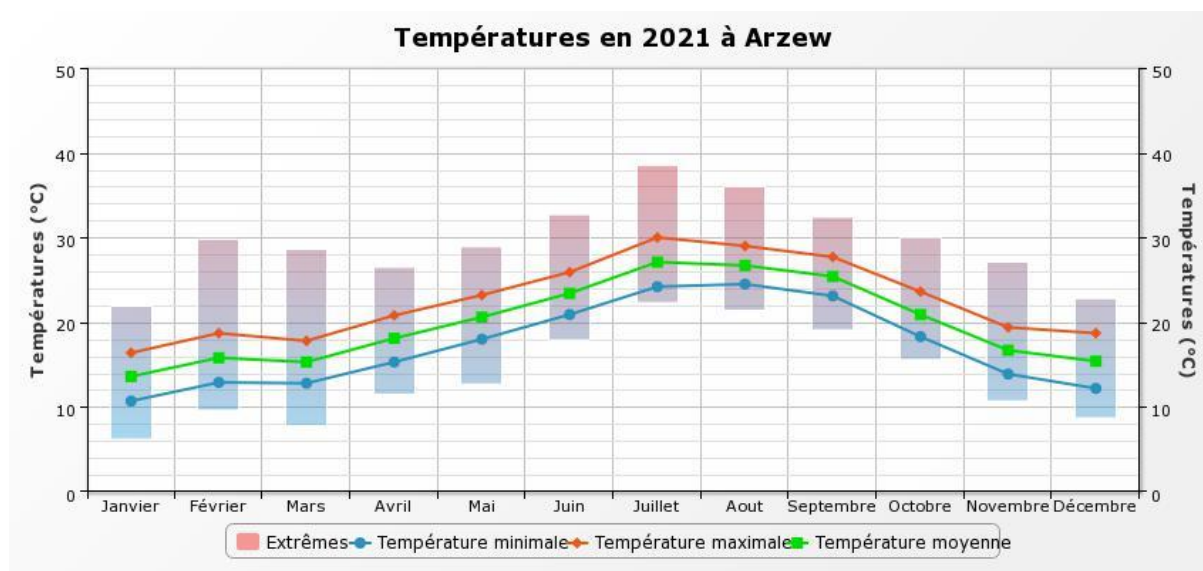


Fig. 70 : Températures à Arzew 2021 (© Doukani 2022)

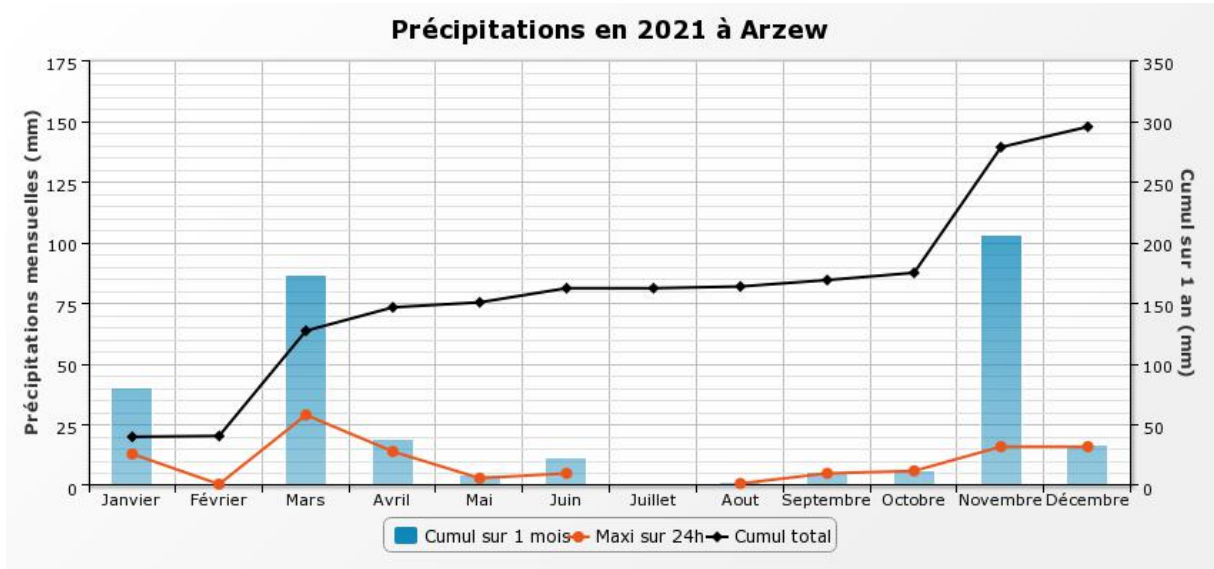


Fig. 71 : Précipitations à Arzew 2021 (© Doukani 2022)

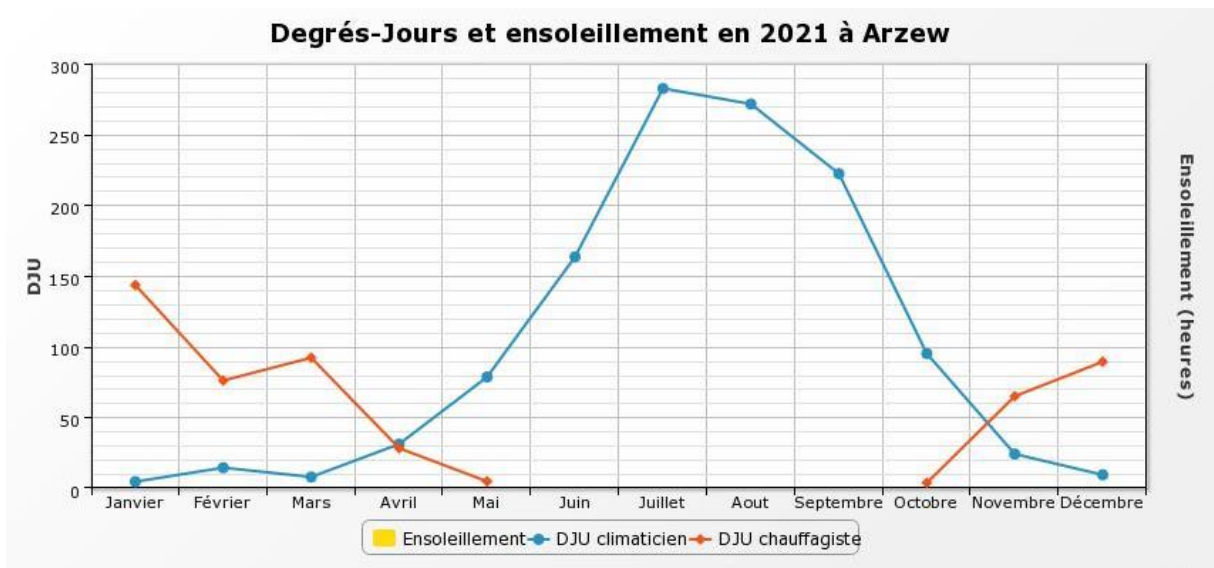


Fig. 72 : DJU et ensoleillement à Arzew 2021(© Doukani 2022)

Tableau 18 : Le Taux de la Salinité saline d'Arzew 2015-2021 (© Doukani 2022)

MOIS	janv.	fev.	mars	avr.	mai	juin	juil.	août	sept.	oct.	nov.	dec.
ANNEES	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 2015	167	87	66	99	143	213	253	312	350	293	240	265
S 2016	146	81	48	62	126	220	266	303	314	320	244	190
S 2017	65	86	92	123	185	253	285	340	350	333	235	199
S 2018	152	76	44	42	65	132	232	258	260	202	150	148
S 2019	94	82	56	92	146	223	260	307	323	278	233	206
S 2020	161	167	152	98	123	216	285	325	350	334	292	187
S 2021	131	145	55	59	99	165	220	290	304	321	175	151

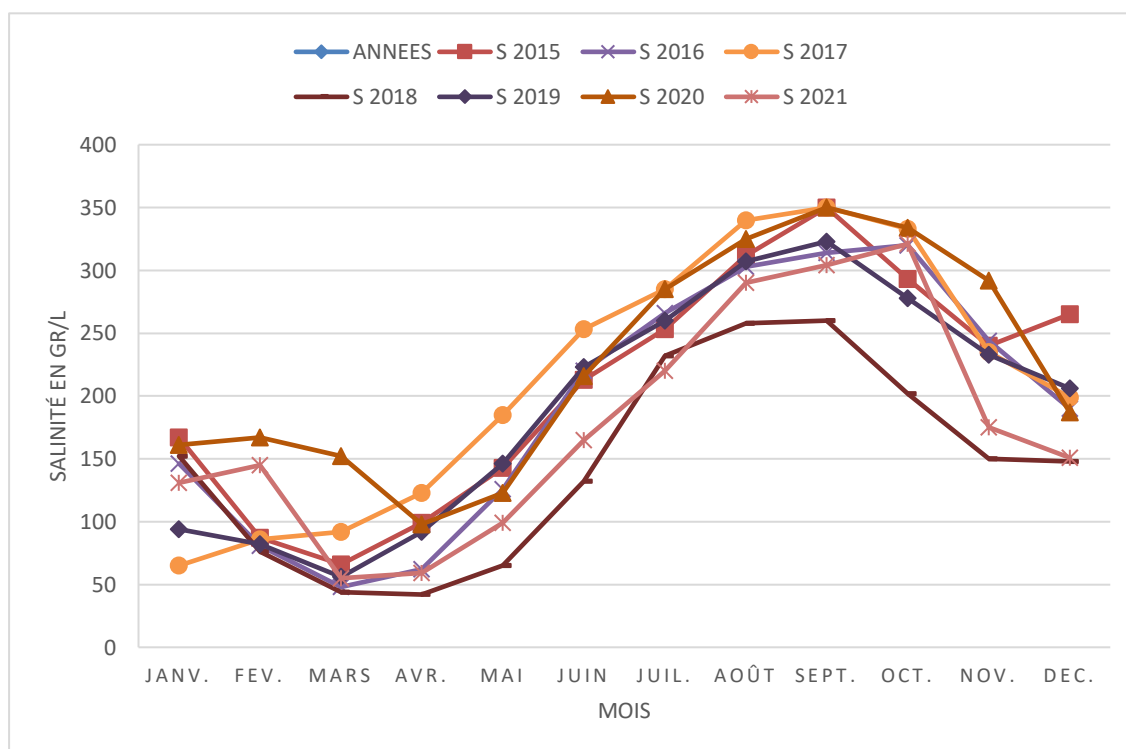


Fig. 73 : Variation annuelle de la Salinité 2015-2021(© Doukani 2022)

Interprétation des Résultat

L'objectif de la collecte de ces données en premier lieu est d'obtenir les conditions biotiques et abiotiques de la croissance de la microalgue *Dunaliella salina*, pour parvenir aux conditions optimales de la croissance, afin de définir la courbe de croissance et l'extrapoler sur un cycle de croissance fermé et définie temporairement.

L'exploitation des données des paramètres enregistré fournie par les équipements de mesure, à savoir :

- La Température
- Les Précipitations
- Irradiation Solaire
- La Salinité

Nous à permis de fixer une plage des conditions optimale de croissances et de concentration des biomolécules β -carotène et glycérol, les concentrations de chaque paramètre et leurs interactions pour mettre en évidences les mécanismes déclencheur et les mécanisme concentrateur.

Ces interactions nous ont permis de faire tomber certains verrous liés au passage de cette microalgue d'un état vert mobile avec une forte vitesse de croissance a un état rouge et une latence de la croissance pour ne pas dire un arrêt total de la croissance j'usqu'au saturation du milieu et éclatement des cellules et la libération des biomolécules.

Le paramètre Nutriment qui représente la dissolution des éléments nutritifs (N.P) n'est pas pris en compte car, à un certain niveau de concentration de salinité il est impossible à ces éléments de se dissoudre dans l'eau saturé en sel, on les considère comme des ressources inutilisables par la microalgue.

Ces données sont exploitées à parts pour mettre au point un algorithme spécifique capable de simuler les conditions naturelles et de les varier selon leurs interactions, cet algorithme va constituer une basse de données pour l'automatisation total de notre prototype.

L'objet du présent chapitre est de caractériser le photobioréacteur d'étude (maquette) en termes de transferts radiatifs, d'hydrodynamique et de performances biologiques. Ces différentes études ont un double rôle : mettre en évidence les atouts de la géométrie retenue et apporter des éléments de choix en vue du dimensionnement du pilote final.

Dans un premier temps, un modèle prédictif de productivité, basé sur un couplage entre des modèles de transferts radiatifs et de croissance, a été utilisé afin de déterminer les dimensions adéquates pour le prototype.

Dans un deuxième temps, le comportement hydrodynamique du photobioréacteur est expérimentalement caractérisé, notamment en termes de vitesse débitante, de profils radiaux de vitesse et d'intensité tourbillonnaire. La gamme de débits d'air et le type de distributeur à utiliser pour la culture de *Dunaliella salina* sont également proposés. La capacité de transferts de matière gaz-liquide est enfin évaluée.

Dans le dernier temps, les résultats des cultures de *Dunaliella salina* conduites en continu dans la maquette d'étude sont présentés. Ils permettront de comparer les configurations d'écoulements axial et tourbillonnaire en termes de productivité et d'impact à long terme.

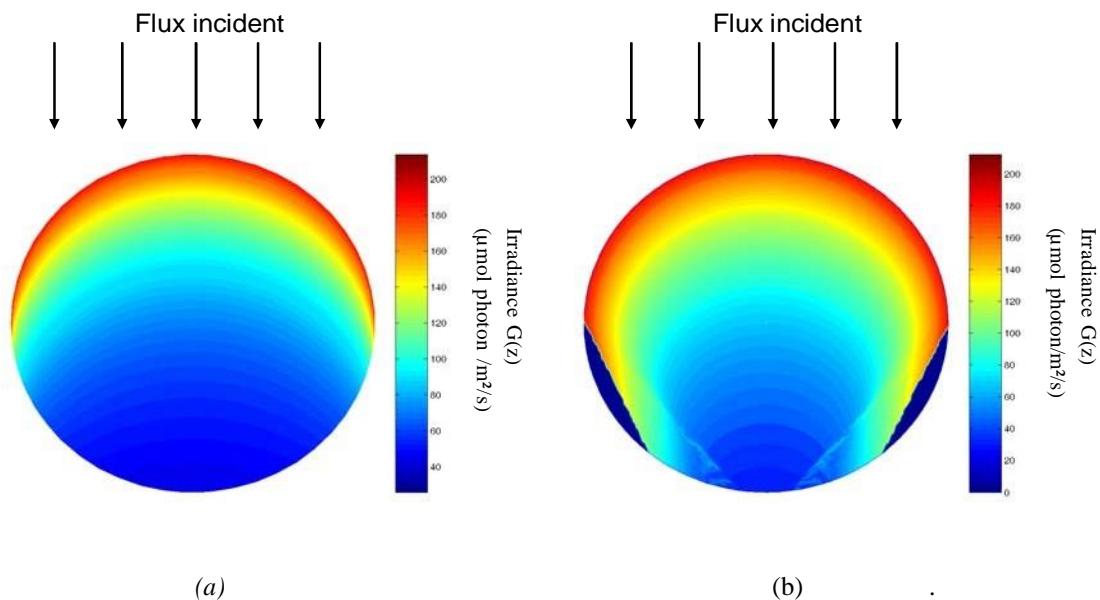


Fig 74 : Champs d'irradiance sur une section du tube : sans distorsion (a) et avec distorsion (b).

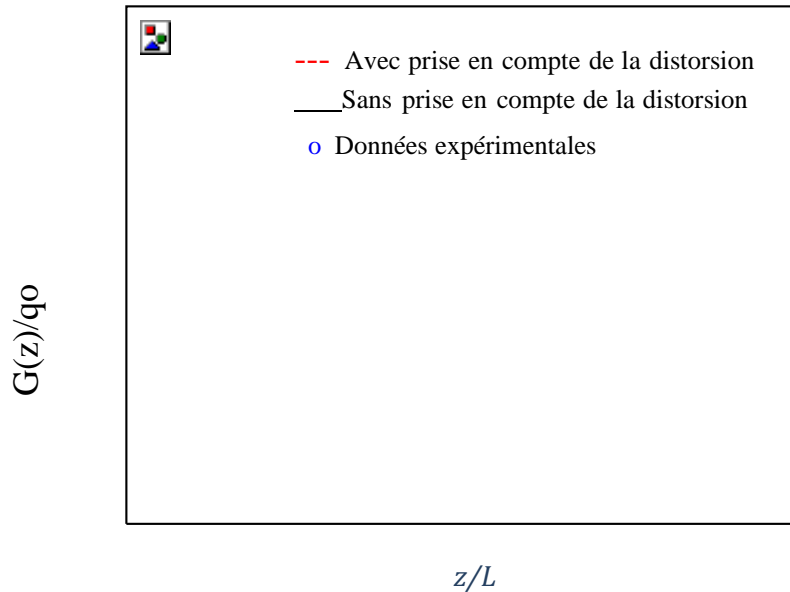


Fig 75 : Profils radiaux théoriques (avec et sans prise en compte des effets de distorsion) et expérimental d'irradiance $G(z)/q_0$.

PRODUCTIVITE THEORIQUE ET CHOIX DUDIAMETRE DE TUBE

L'objectif de ce chapitre est de déterminer le diamètre de tube du photobioréacteur en utilisant comme outil le modèle prédictif de productivité couplant le modèle de transfert radiatif et celui de croissance.

1.1 Validation du modèle de transfert radiatif

Sur la Figure 75, les profils radiaux d'irradiance prédits par le modèle à deux flux sont comparés à ceux mesurés expérimentalement (flux incident q_0 de $210 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et concentration en *Dunaliella salina* de $16,8.10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$). Il est intéressant de remarquer que la prise en compte de la distorsion optique améliore la prédiction : par exemple, à une position radiale de tube $z/L = 0,5$, $G(r)/q_0 = 0,4$ avec prise en compte de la distorsion contre $0,3$ en la négligeant, pour une valeur expérimentale $G(z)/q_0 = 0,42$. A noter également que pour de fortes valeurs de z/L , $G(r)/q_0$ est toujours sous-estimé (entre 6 et 12% par rapport à la valeur expérimentale, selon z/L considéré). Au regard de la complexité de la géométrie et des hypothèses simplificatrices émises, les résultats obtenus sont corrects et peuvent être considérés en bonne adéquation avec les données expérimentales.

La Figure 74 présente les champs d'irradiance (sur la section du tube) théoriquement obtenus avec et sans prise en compte des effets de distorsion dans la modélisation. Des différences notables sont clairement mises en évidence : la réfraction des rayons lumineux incidents au passage de la courbure du tube a un impact très net. Elle génère une surconcentration d'irradiance en proche paroi côté lumière incidente, évitant ainsi une dilution trop rapide de la lumière et restreignant les zones faiblement éclairées sur plus de la moitié du tube. Ainsi, la prise en compte de la courbure du tube conduit à une répartition spatiale plus homogène de la lumière au sein de la culture, en particulier au niveau des couches profondes ou les plus éloignées de la source lumineuse. Ceci explique l'atténuation radiale de l'irradiance moins marquée qu'en absence de distorsion observée (fig 74).

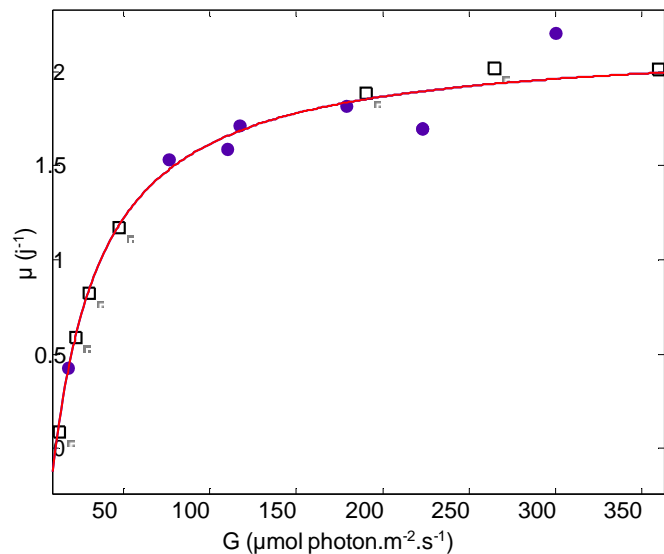


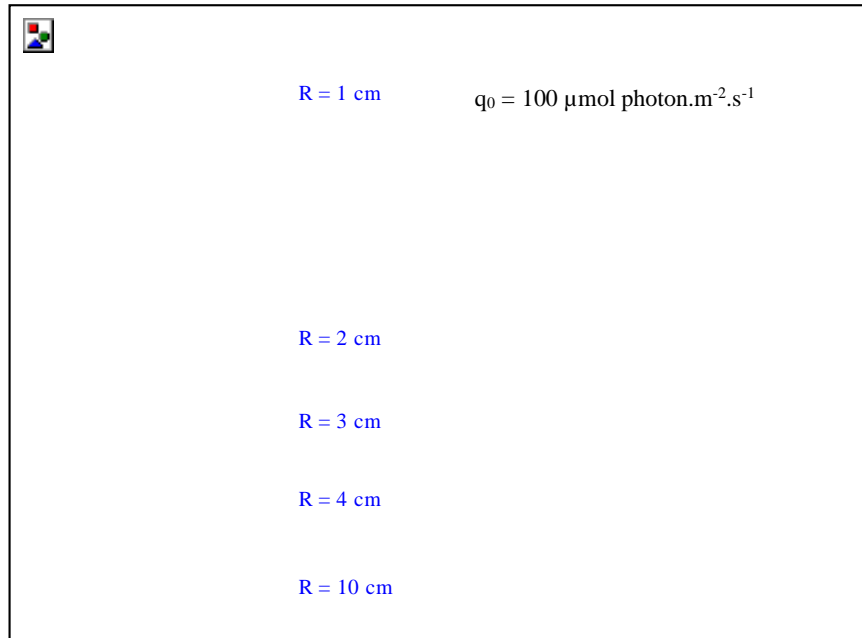
Fig 76 : Modèle de croissance (taux spécifique de croissance μ versus irradiance reçue) : données expérimentales.

1.2. Productivités théoriques du réacteur

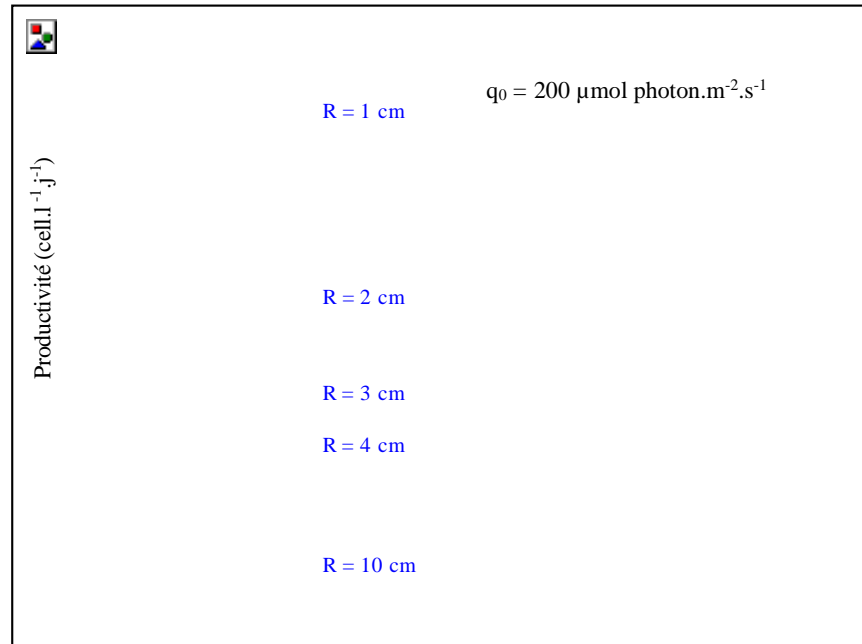
1.2.1. Modèle cinétique de croissance

Outre les données d'entrée du modèle de transfert radiatif (propriétés optiques des microalgues, distribution du flux incident selon la position angulaire), il est nécessaire de connaître le modèle cinétique de croissance de la microalgue *Dunaliella salina*. Il décrit l'évolution du taux spécifique de croissance μ en fonction de l'irradiance reçue et donne

notamment accès au point de compensation entre photosynthèse et respiration. Les tests dynamiques nous ont permis d'obtenir les résultats suivants :



(a)



(b)

Fig 77 : Productivité théorique du réacteur en fonction du rayon R des tubes et du taux de dilution D , pour une culture de *Dunaliella salina* soumise à des flux incidents de 100 et 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Les résultats obtenus dans l'étude présente (Fig 76) sont en contradiction avec cette dernière valeur : en effet, ils mettent en évidence que la culture de *Dunaliella salina* supporte des irradiances supérieures à $400 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ sans que le phénomène de photoinhibition ne soit observé. Des appréciations erronées du flux incident réel ou des conditions opératoires non maîtrisées sont probablement à l'origine de la variabilité des résultats observés dans la littérature.

1.2.2. Influence de l'irradiance reçue q_0 et du rayon R des tubes sur la productivité

La productivité volumique du réacteur P ($\text{cell.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$) est calculée selon les paramètres de production à partir de la concentration en biomasse à l'équilibre et des taux de croissance moyens dans l'enceinte de culture, tous deux déduits de la résolution du modèle radiatif couplé au modèle cinétique de croissance .

La Figure 77 décrit l'évolution de cette productivité en fonction du taux de dilution et du rayon de tube utilisé et de l'épaisseur du panel, pour des flux incidents de 100 (a) et de 200 (b) $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Quel que soit l'épaisseur du panel et le rayon de tube considéré, les courbes reliant la productivité volumique et le taux de dilution adoptent la même allure : un optimum est obtenu pour un taux de dilution moyen proche de $0,03 \text{ h}^{-1}$ (soit $0,72 \text{ j}^{-1}$).

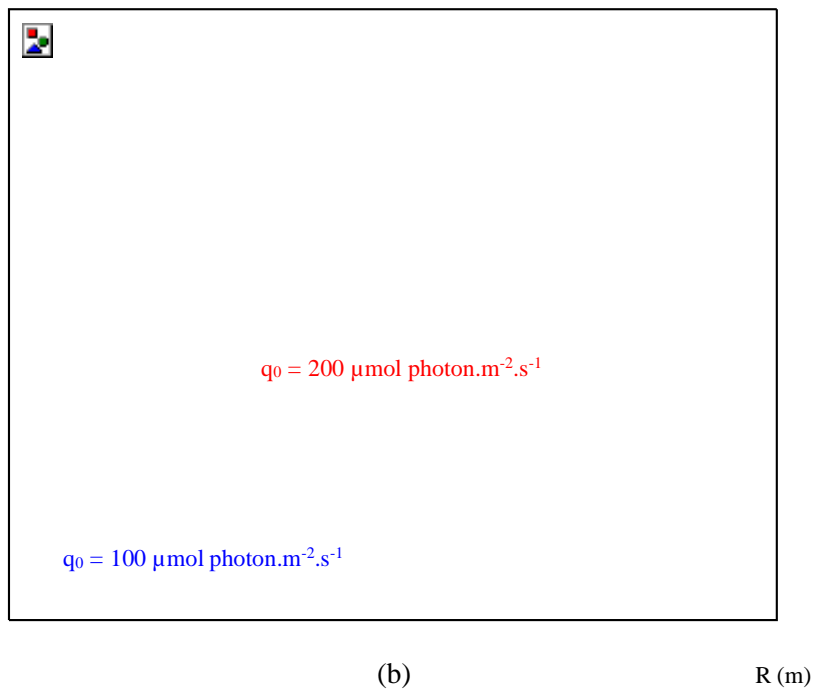
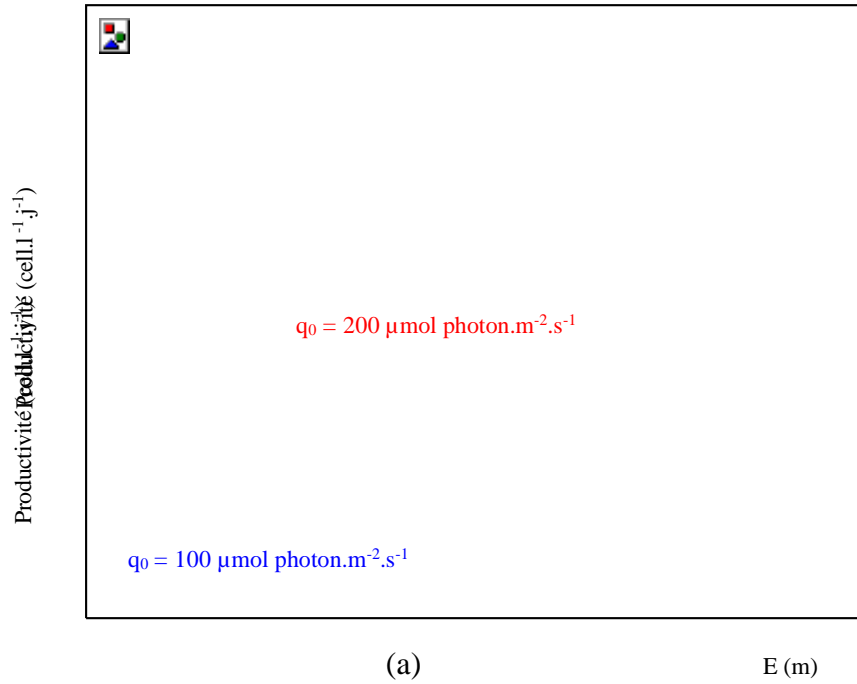


Fig 78 : Productivité volumique ($\text{cell. l}^{-1}.\text{j}^{-1}$) en fonction de l'épaisseur de la panel $E(\text{m})$ (a) et du rayon du tube $R(\text{m})$ (b).

La Figure 78 représente l'évolution de la productivité volumique théorique en fonction de l'épaisseur de la panel (a) et du rayon de tube (b). Elle confirme la décroissance de la

productivité, d'une part avec l'épaisseur du panel et le rayon du tube et, d'autre part avec le flux de lumière incident.

Ces prédictions de productivité sont particulièrement utiles car, connaissant les besoins journaliers en cellules, le volume de photobioréacteur requis peut être aisément déterminé pour chaque épaisseur du panel et pour chaque diamètre de tube.

1.3. Débit d'air maximal

Il est évident qu'un débit d'air minimal est nécessaire pour générer une circulation suffisante, c'est-à-dire évitant la sédimentation de la culture et assurant une bonne homogénéisation du milieu au sein de la boucle air lift.

Le débit d'air maximal à utiliser est conditionné en particulier par la préservation de l'état physiologique général des microalgues. En effet, lors de cultures en continu, le mouvement régulier de la culture dans le photobioréacteur au sein de la population de bulles peut générer des stress hydrodynamiques auxquels *Dunaliella salina* est sensible. Les réponses physiologiques à ces perturbations sont diverses et peuvent notamment se traduire par la formation de dépôts et salissures sur les parois ou par la perte de la culture.

Résultat de l'optimisation et du Test Dynamique du Prototype

Pour optimiser les conditions de la production de la biomasse. Nous avons procédé à des tests dynamiques du prototype, tout en appliquant les résultats obtenus au cours de notre thèse et des travaux préalable réaliser au cours des dix dernières années.

Pour cela on a cultivée *Dunaliella Salina* vingt jours sur milieu de culture spécifique , Dans l'enceinte de notre prototype de photobioréacteur, les concentration de départ sont les même pour chaque expérience puisque ont fait une pré culture de *Dunaliella salina* dans un réacteur cylindrique, la lumière est assurée par des LED type Day light de dernière génération, dans un hangar climatisé, tous les paramètres sont contrôlé par des sonde à l'aide d'un logiciel spécifique, sans injection de gaz carbonique en se contentant du CO₂ atmosphérique.

Pour le choix du test dynamique nous avons fixé les paramètres suivants :

1-La Température

2-La Concentration des Nutriments

En premier lieu la température et un facteur agissant au profit de la salinité par l'augmentation de l'évaporation, par conséquent la diminution du volume d'eau et l'augmentation de la concentration des sel dissous.

En deuxième lieu la concentration des nutriments et maintenue à des niveaux très bas pour ne pas dire nul, a cause l'incapacité de *Dunaliella Salina* a fixer ces éléments a des salinité élevées.

Pour les deux paramètres qui reste à savoir l'intensité lumineuse et la salinité nous avons choisie quatre valeurs en prenant en considération les étude préalable et la réalisabilité de ces expériences, ce qui nous a permis de réaliser 16 expériences en variant à chaque fois une valeur de chaque paramètre, ces expériences sont illustrée dans le **tableau 19** qui suit :

Tableau 19 : Récapitulatif des expériences et des valeurs de chaque paramètre avec unité

Exp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Inten,L	I1	I1	I1	I1	I2	I2	I2	I2	I3	I3	I3	I3	I4	I4	I4	I4
Salin	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Lux*100	180	180	180	180	280	280	280	280	380	380	380	380	450	450	450	450
gr/l	45	100	200	250	45	100	200	250	45	100	200	250	45	100	200	250

Le tableau représente les concentrations cellulaires en fonction du temps de séjour qui se traduit par le nombre de jours de culture, le comptage cellulaires se fait chaque deux jours, les expériences sont effectuées sous abris et avec un climat contrôlé.

Tableau 20 : récapitulatif des Concentration cellulaire obtenue en variant les deux paramètres en fonction du temps de séjour

Concentration cellulaire(*10 ⁶ *ml ⁻¹)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
I1 S1	0,29	0,50	1,00	1,60	2,50	3,12	4,12	5,14	5,02	5,29
I1 S2	0,29	0,47	0,69	0,95	1,29	1,59	2,12	2,42	2,29	2,59
I1 S3	0,29	0,49	0,64	0,76	0,91	1,07	1,18	1,3	1,39	1,48
I1 S4	0,29	0,48	0,59	0,72	0,84	0,97	1,11	1,23	1,38	1,47
I2 S1	0,29	0,48	0,83	1,28	1,66	1,97	2,3	2,64	3,08	3,21
I2 S2	0,29	0,49	0,69	0,95	1,19	1,59	1,95	2,21	2,27	2,41
I2 S3	0,29	0,47	0,59	0,74	0,93	1,01	1,08	1,14	1,19	1,25
I2 S4	0,29	0,47	0,57	0,65	0,74	0,8	0,88	0,97	1,06	1,13
I3 S1	0,29	0,66	0,94	1,25	1,75	2,35	2,89	3,37	3,57	3,79
I3 S2	0,29	0,5	0,66	0,86	1,21	1,43	1,69	1,98	2,11	2,25
I3 S3	0,29	0,49	0,6	0,72	0,84	0,97	1,1	1,21	1,33	1,41
I3 S4	0,29	0,49	0,59	0,67	0,75	0,82	0,9	1	1,09	1,2
I4 S1	0,29	0,49	0,58	0,67	0,77	0,85	0,95	1,06	1,15	1,25
I4 S2	0,29	0,48	0,55	0,64	0,72	0,8	0,9	0,97	1,08	1,18
I4 S3	0,29	0,48	0,58	0,67	0,75	0,82	0,9	0,98	1,08	1,18
I4 S4	0,29	0,45	0,45	0,40	0,36	0,28	0,12	0,03	0,00	0,00

Les résultats mentionnés en rouge représente la concentration cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse a une salinité de 45 gr/litre ; et ceux mentionné en bleu représente la concentration cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse mais a une salinité de 100 gr/litre, donc le facteur limitant dans ce cas et la salinité.

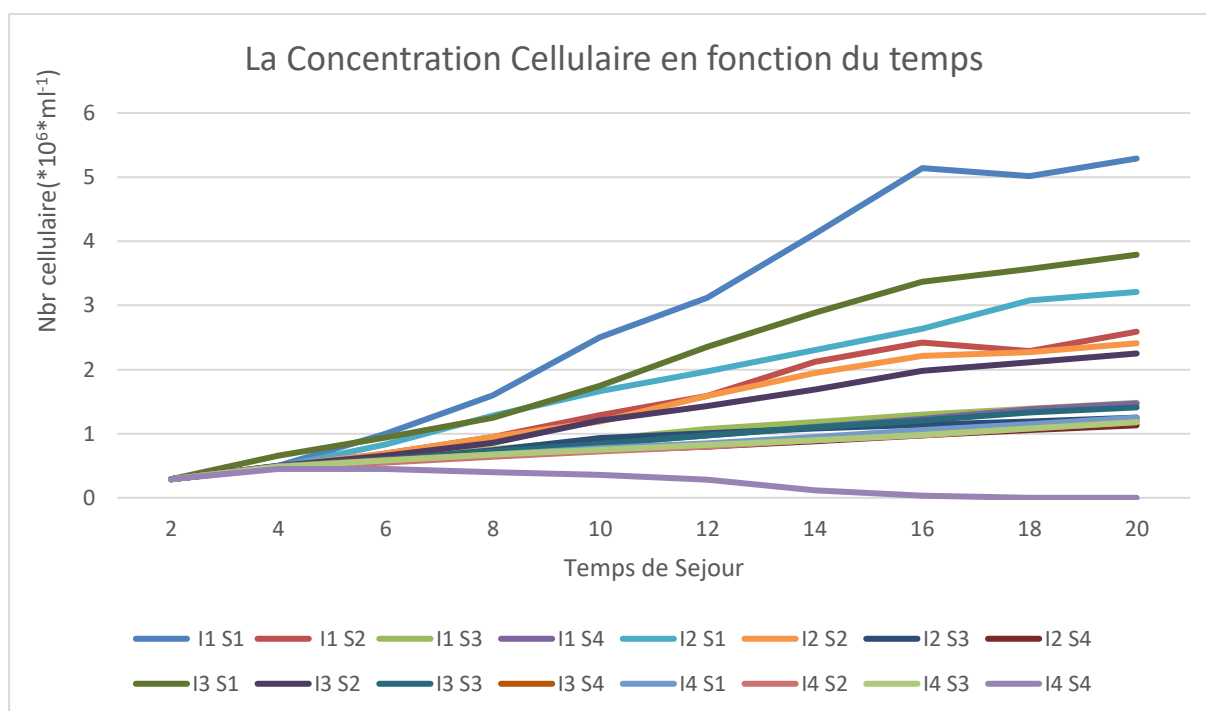


Fig 79 : Graphe représentant la concentration cellulaire en fonction du temps

La croissance est arrêtée avec l'augmentation de la salinité (jusqu'à 250 gr/litre) plutôt qu'à faible salinité (45 à 100 gr/litre). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Ben-Amotz (1987), Dolapsakis et al. (2005), Oren (2005), Tawfik S. Abu Rezk et al. (2010) qui ont constaté que la croissance optimale de *Dunaliella* pouvait être atteinte le long de la mer ou à proximité des lagunes de sel et des industries productrices de sel en raison de la facilité avec laquelle la concentration désirée de sel pouvait être obtenue au moyen des conditions naturelles précipitation et évaporation .

Les résultats obtenus dans les expériences Ex1 ; Ex2 ; Ex5 ; Ex6 ; Ex9 et Ex10 montre que concentration cellulaire augmente avec l'augmentation de la salinité jusqu'à 100gr/litre au-delà de ce taux de sel la croissance cellulaire ralentie en concordance avec des intensités lumineuse arrivant à 38000 lux.

Les concentrations cellulaire obtenue de *D. salina* cultivé à différentes intensités lumineuses (18000 ; 28000 ; 38000 et 45000 lux) ont montré que la croissance augmentait également avec l'intensité lumineuse croissante jusqu'au inhibitions de la photosynthèse a partir de 45000 lux sous la forme verte , indiquant que cette algue préfère une intensité lumineuse élevée à une intensité lumineuse faible produisant jusqu'à 5.29×10^6 cellules ml⁻¹ à 18000 lux et 45gr/litre de salinité et seulement jusqu'à $3,79 \times 10^6$ cellules ml⁻¹ à 38000 lux et

45 gr/litre de salinité. Ces résultats concordent également avec les conclusions de Singh et al. (2000) qui ont indiqué que le *D. salina* a augmenté à un rythme beaucoup plus rapide à des intensités lumineuses élevées et une salinité moyenne. Goyal et al. (1998) ont constaté que la croissance la plus élevée pour *Dunaliella bardawil*, *D. salina* a été obtenue en utilisant une lumière fluorescente type Day light de 20000 lux et maintenu dans un agitateur fonctionnant à une vitesse de 85 tr/min à une température de 28 0,2 °C. Gomez et al. (1992) ont conclu que le taux de photosynthèse était significativement plus élevé sous forme verte à des intensités lumineuses inférieures à 50000 lux. Néanmoins, l'inhibition photosynthétique par lumière élevée était plus prononcée sous forme verte.

Garcia-Gonzalez et al. (2005) ont discuté de la performance de *D. salina* dans les cultures extérieures dans un système tubulaire fermé. Ils ont constaté que le maintien de la culture à une température de 25°C avec un pH de 7,5 ±0,5, le pH est contrôlé par injection de gaz CO₂, une plage de production de 2 à 4x10⁶ cellules ml⁻¹ de *D. salina* pouvait être atteinte. Dans la présente étude, les expériences ont été mené dans un climat contrôlé dans des réacteurs plat sans injection de gaz carbonique en se contentant du CO₂ atmosphérique ; les résultats ont montré que le rendement de croissance était plus élevé (c.-à-d. jusqu'à 5,29x10⁶ cellules ml⁻¹), la durée de la culture a été étendue à 20 jours.

Richmond (1986), Borowitzka (1990), Renaud et al. (1991, 1995) Ont mentionné que la composition chimique de plusieurs microalgues est influencée par des conditions de culture comme la salinité, la température, le pH et les nutriments. Singh et al. (2000) ont suggéré de fixer la température de l'eau à 30°C tout en menant leur expérience sur la limitation des nutriments pour l'induction du β-carotène dans la *D. salina*.

Leach et al. (1998) ont conclu qu'il était possible d'obtenir une concentration cellulaire de *D. salina* arrivant à 0,8x10⁶ cellules ml⁻¹ lorsque la culture a été maintenue à une salinité de 18 % de NaCl soit 180 gr/litre.

Conclusion

Depuis quelques années, les travaux sur les microalgues connaissent un développement très rapide en Algérie. La recherche est essentiellement centrée sur la valorisation des bioproduits, peut d'équipe s'aventure sur les techniques d'engineering car la recherche est couteuse. Dans ce contexte porteur, le marché est demandeurs de nouvelles méthodes et de procédés innovants, susceptibles d'accroître leur productivité et de renforcer leur rentabilité. Un axe d'amélioration passe par l'optimisation de la quantité et de la qualité de la biomasse produite.

Les informations récolté et les travaux réalisés, lors de cette thèse, ont eu pour objectif la conception, le développement et la mise au point d'un prototype de photobioréacteur destiné à la production de biomasse microalgale : cet outil fonctionne selon le principe de la culture en continu et répond aux contraintes d'exploitation spécifiques du secteur.

Pour la prise en compte de ces contraintes, un premier temps a été consacré à la conduite d'une enquête, de récolte d'information et de données sur les paramètres biotique et abiotique qui influent sur la croissance de la microalgue *Dunaliella salina*. Et auprès de l'ensemble partenaires de ce projet (Bioalgal, Future green life et Planctonid), afin de déterminer leurs pratiques usuelles en matière de culture de microalgue.

Dans un deuxième temps, la définition des caractéristiques géométriques générales du photobioréacteur a été effectuée à partir d'une analyse de la littérature scientifique sur le sujet. Elle a permis de dégager les atouts et inconvénients spécifiques à chacun des deux grands types de géométrie, plane ou cylindrique.

La synthèse des éléments issus de la littérature et de l'enquête a conduit au choix d'une géométrie de type mixte tubulaire verticale et plane. Celle-ci permet d'envisager des performances de culture élevées et répond à la notion de modularité exigée par la disparité des besoins du marché actuel.

Dans la géométrie tubulaire, un fonctionnement en continu sur une période de plusieurs mois entraînerait des risques de colonisation des parois optiques qui atténuerait la productivité du système. Ceci a conduit à rechercher des gradients de vitesse pariétaux élevés à l'aide d'une hydrodynamique de type tourbillonnaire, générée par injection tangentielle de la culture dans les tubes constitutifs du photobioréacteur circulation en continue.

Dans la géométrie plane, un fonctionnement en continu sur une période permet de profiter le plus des irradiations et d'éviter les zone sombre néanmoins que le fonctionnement

continue entraîne un colmatage d'où l'utilisation de deux phases optiques.

Une autre contrainte, est de s'affranchir des difficultés liées aux changements d'échelle souvent rencontrés lors de l'extrapolation des résultats. Pour y pallier, les études physiques et biologiques ont été réalisées sur une maquette représentant un module élémentaire du futur photobioréacteur.

Une première étude a consisté à déterminer le diamètre des tubes et les épaisseurs des panels du prototype représentant un bon compromis entre les gains de productivité, les coûts d'investissement et de fonctionnement du photobioréacteur. Pour cela, un modèle prédictif de la productivité du système, en fonction du flux incident de lumière et du diamètre de tube et de l'épaisseur des panels, a été établi.

Les études hydrodynamiques, conduites en utilisant les techniques de traçage conductimétrique et de PIV, ont permis de caractériser les propriétés des écoulements au sein du photobioréacteur en fonction de différentes configurations (facteurs de vitesse, débit d'air, type de distributeur).

Différents types d'injecteurs de gaz ont également été testés, et ont démontré l'intérêt des distributeurs de type membranaire ou tangentiel. Le distributeur tangentiel a été retenu pour équiper le photobioréacteur en raison de sa simplicité de mise en œuvre et de son coût.

A l'issue de ces travaux, une unité pilote de 60 L, composée de deux modules élémentaires, a été réalisée. Elle permet sur la base des productivités enregistrées de répondre au besoin quotidien.

Pour la suite, une étape clé sera l'intégration de ce prototype de photobioréacteur dans une installation de production des microalgues, partenaire du projet, afin de valider sur le terrain la pertinence des procédés et technologies mis en œuvre. Celle-ci va permettre de conforter l'intérêt de la technique de production en continu du *Dunaliella salina*, et de vérifier la justesse du modèle économique : qualité de la biomasse algale obtenue, production à coûts maîtrisés, gain de temps et de main d'œuvre.

Plus tard ou en parallèle, il sera nécessaire d'élargir les possibilités de production du photobioréacteur à d'autres espèces de microalgues, telle que la diatomée *Chaetoceros gracilis*, qui intervient également dans le régime alimentaire bispécifique des larves en éclosion, afin que cette nouvelle technologie représente une solution globale pour les professionnelles.

Pour exploiter pleinement ce nouveau procédé, les *preferendum* écophysologiques des microalgues aquacoles (*Dunaliella Salina*, *Nanocloropsis gaditana*, *Nanocloropsis salina*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella gracilis*, *Skeletonema marinoï*, *Pavlova lutheri*, *Thalassiosira pseudonana*...) devront être déterminés et les conditions de culture maîtrisées afin d'optimiser la production de biomasse au sein du photobioréacteur.

Au niveau scientifique strict, cette technologie alternative de culture ouvre des voies nouvelles. Elle devrait conduire à une meilleure maîtrise de la qualité de la biomasse microalgale produite tant sur le plan biochimique que sur les aspects bactériologiques. Ces possibilités d'action sur le métabolisme et la composition biochimique des microalgues offrent un cadre particulièrement approprié pour toute usage.

References

Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abu Rezzq, T. S., Al Musallam, L., Al Shimmari, J. and Dias, P. 1999.** "Optimum production conditions for different high-quality marine algae." *Hydrobiologia* **403**. 97-107.
- Acien Fernandez, F. G., Camacho García, F. G. F., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M. and Molina Grima, E. 1997.** "A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture." *Biotechnology and Bioengineering* **55** (5). 701-714.
- Acien Fernandez, F. G., Sevilla, J. M. F., Perez, J. A. S., Grima, E. M. and Chisti, Y. 2001.** "Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance." *Chemical Engineering Science* **56** (8). 2721-2732.
- Akkerman, I., Janssen, M., Rocha, J. and Wijffels, R. H. 2002.** "Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design." *International Journal of Hydrogen Energy* **27** (11-12). 1195-1208.
- Albentosa, M., Perez Camacho, A., Fernandez Reiriz, M. J. and Labarta, U. 2002.** "Wheatgerm flour in diets for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, spat." *Aquaculture* **212** (1-4). 335-345.
- Allen, E. J. and Nelson, E. W. 1910.** "On the artificial culture of marine plankton organisms." *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. **8**. 421-474.
- Andrews, J. F. 1968.** "A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates." *Biotechnology and Bioengineering* **10**. 707-723.
- Aubry, B. 2006** "Rapport de stage 1^{ère} année Master Génie des Procédés de l'Université de Nantes : "Etude des transferts de gaz dans un photobioréacteur"." *Ifremer*, Nantes. pp. 41.
- Auby, I., Maurer, D., Cassam- Chenai, Y., Neaud-Masson, N., D'Amico, F. and Rumèbe, M. 2004** "Rapport: "Reproduction de l'huître creuse dans le bassin d'Arcachon"." *Ifremer - Arcachon : Affaires maritimes de la Gironde*, Arcachon. N° référence : 66658. pp. 203.
- Aasen, a. J., eimhjellen, k. E., & liaaen-jensen, s. 1969.** An extreme source of betacarotene.
- Ahmane Ali, 1990,** Contribution à l'étude sédimentologique de la grande sebkha d'Oran (Algérie), *Thèse de l'Université de Paris 06*, Paris, France, 244p.
- Alexandre Besson, 2013.** etude multi-échelle de DS développement d'un procédé d'autofloculation de microalgues. *thèse de. thèse de doctorat université de toulouse* p17.
- 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 ecosystemes marins : parametres et analyses. *Editions Quae*.

Amotz, A., Shaish, A., & Avron, M. 1989. Mode of Action of the Massively to pilot-plant. *Hydrobiologia*, 116(SEP),115–121.

Andersen R.A., 1992. Diversity of eukaryotic algae. *Biodiversity and Conservation*, 1(4), 267–292.

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.

B

Barbosa, M. J. 2003. "Microalgal photobioreactors: scale up and optimisation." Wageningen Universtateit, Nederland. 90-5808-898-7. pp. 168.

Barnabé, G. 1990. Aquaculture. Chichester, England, Ellis Horwood ISBN 0-13044- 108-2. pp. 630.

Bello, R. A., Campbell, W., Robinson, Murray and Moo-Young 1985. "Gas holdup and overall volumetric oxygen transfer coefficient in airlift contactors." *Biotechnology and Bioengineering* 27 (3). 369-381.

Bird, R. B., Stewart, W. E. and Lightfoot, E. N. 2002. Transport phenomena. John Wiley & Sons Inc. 0-471-41077-2. pp. 885.

Borowitzka, M. A. 1996. "Closed algal photobioreactors: Design considerations for large-scale systems." *Journal of Marine Biotechnology* 4. 185-191.

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

Bosma, R. and Wijffels, R. H. 2003. "Marine biotechnology in education: a competitive

approach." *Biomolecular Engineering* **20** ((4-6) SI). 125-131.

Bougaran, G., Le Dean, L., Lukomska, E., Kaas, R. and Baron, R. 2003. "Transient initial phase in continuous culture of *Isochrysis galbana* affinis *Tahiti*." *Aquatic Living Resources* **16** (4). 389-394.

Bougaran, G., Megrier, C., Le Déan, L., Kaas, R., Olivo, E. and Cadoret, J.-P. 2007. "Experimental factorial design as a tool for optimization of microalgal cultivation conditions", in: *Biotechnology of Microalgae 7th European Workshop*, Nuthetal, Germany.

Brown, M. R., Dunstan, G. A., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., Barrett, S. M. and LeRoi, J.-M. 1993. "The influence of irradiance on the biochemical composition of the prymnesiophyte *Isochrysis* sp. (Clone T-iso)." *Journal of Phycology* **29** (5). 601- 612.

Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K. and Dunstan, G. A. 1997. "Nutritional properties of microalgae for mariculture." *Aquaculture* **151**. 315-331.

Brown, M. R., McCausland, M. A. and Kowalski, K. 1998. "The nutritional value of four Australian microalgal strains fed to Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat." *Aquaculture* **165** (3-4). 281-293.

Brown, M. R. 2002. "Nutritional Value and Use of Microalgae in Aquaculture". *Avances en Nutrición Acuícola VI*. Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia- Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G. and Simoes, N. Cancún, Quintana Roo, México, Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 281- 292.

Brown, M. R. and Robert, R. 2002. "Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)." *Aquaculture* **207** (3-4). 289-309.

Babel, Sandhya, & Takizawa, Satoshi. 2011. Chemical pretreatment for reduction of membrane fouling caused by algae. *Desalination*, 274(1-3), 171–176.

Becker, E. W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances*, 25(2), 207-210.

Ben-Amotz, A., & Avron, M. 1981. Glycerol and Beta-carotene metabolism in the halotolerant alga *Dunaliella* : a model system for biosolar energy conversion. *Trends in Biochemical Sciences*, 6, 297–299.

Ben-Amotz, A Accumulated {beta}-Carotene of *Dunaliella bardawil* in Protecting the Alga against Damage by Excess Irradiation. *Plant Physiology*, 91(3), 1040.

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.
- Bernard O, 2011 :** Olivier BERNARD [INRIA] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur Édition AdebioTech – Romainville 182p. 2011.
- Blanchard R. & Richard J. 1890.** — Sur les crustacés des Sebkhass et des chotts d’Algérie. *Bulletin de la Société zoologique de France* 45: 136-138
- Borodyanski, genady [il], & konstantinov, irina [il]. 2002** (June). Microalgae separator apparatus and method. *Brevet US2002079270 (A1)*.
- Borowitzka, L. J, Borowitzka, M. A, & Moulton, T. P.** 1984. The mass-culture of *Dunaliella salina* for fine chemicals - *from laboratory*
- Bourge, A. Person, J. Salomez, M. 2009.** Dimensionnement d’une raffinerie de biodiesel production à partir de *Dunaliella salina*. *Montpellier SupAgro & Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier*.
- Boyen C, 2011 :** Catherine BOYEN [CNRS - SB Roscoff] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur Édition AdebioTech – Romainville 182p. 2011.
- Ben-Amotz, A., Sussman, I., & Avron, M.** 1982. Glycerol production by *dunaliella*. *Experientia*, 38(1), 49–52.
- 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.
- Borowitzka, Michael A.** 1990. The mass culture of *Dunaliella salina*. Proceedings of Regional Seafarming Development and Demonstration Project - Bangkok.
- Borowitzka Michael A. (1990)** Laboratoire de biotechnologie des algues, School of Biological and Environmental Sciences, *Université Murdoch Murdoch*, WA 6150. Australie.
- Borowitzka, L. J. 1991.** Development of Western biotechnology algal beta-carotene 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, 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., & Brown, A. D. 1974. Salt relations of marine and halophilic species of unicellular green-alga, *Dunaliella* - role of glycerol as a compatible solute. *Archives of Microbiology*, 96(1), 37–52.

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

Boumezbeur A. 2005. Atlas [IV] des zones humides algériennes d'importance internationale. Ministère de l'Agriculture et du Développement rural. Direction générale des Forêts Alger. 107 pp.

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.

Brock T. 1975“Salinity and the Ecology of *Dunaliella* from Great Salt Lake.” *Journal of General Microbiology*.

Bumbak F., Cook S., Zachleder V., Hauser S., Kovar K., 2011. Best practices in heterotrophic highcell-density microalgal processes: achievements, potential and possible limitations. *Applied microbiology and biotechnology*, 91(1), 31–46.

Butcher RW. 1959. Un compte d'introduction de la plus petite des algues du littoral de la Colombie-I Eaux partie. *Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, de la pêche enquêtes, série IV. Stationery Office de Sa Majesté*

C

Chisti, Y. 1989 . Airlift Bioreactors. London, England, Elsevier Applied Science ISBN 1-85166-320-7. pp. 355.

Chisti, Y. and Moo-Young, M. 2001 . "Bioreactors Encyclopedia of Physical Scienceand Technology" Meyers, R. A. New York, USA, Academic Press. 247-271.

Chrétiennot-Dinet, M.-J. 1990 . "Atlas du phytoplancton marin. Volume III- Chlorophycées, Cryptophycées, Euglénophycées, Eustigmatophycées, Prasinophycées, Prymnésiophycées et

Tribophycées." Paris, France, CNRS.

Copin-Montégut, G. 2002 . "Propriétés physiques de l'eau de mer." *Techniques de l'ingénieur*. **K1** (70). 1-20.

Cornet, J.-F., Dussap, C. G., Gros, J.-B., Binois, C. and Lasseur, C. 1995 . "A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors." *Chemical Engineering Science* **50** (9). 1489-1500.

Coutteau, P. and Sorgeloos, P. 1992 . "The use of algal substitutes and the requirement for live algae in hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey." *Journal of Shellfish Research* **11**. 467–476.

Csogor, Z., Herrenbauer, M., Perner, I., Schmidt, K. and Posten, C. 1999 . "Design of a photo-bioreactor for modelling purposes." *Chemical Engineering and Processing* **38** (4-6). 517-523.

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

Cadoret, J-Paul, 2011. [IFREMER] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur Édition Adebitech – Romainville 182p. 2011.

Castrillo, M., Lucas-Salas, L.M., Rodriguez-Gil, C., & Martínez, 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.

Cavalla, Michael ., 2000.- les algues les micro-algues.

Chabert-Louis Dubois-Jean. 2011. Biocarburant : l'algue miracle sera cultivée à Gruissan. *LA DEPECHE*. P02.

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, Chojnacka, K. 2004. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology*, 3(1)(Mar.), 21–34.

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*.

Coleman, A.W. and Pröschold, T. 2005 Control of sexual reproduction in algae in culture. In [Ed. R. A. Andersen] *Algal Culture Techniques*. Chapter 23. *Elsevier Academic Press*

Curtain, Cyril C, & Snook, Harvey. 1985 (Nov.). Method For Harvesting Algae. *Brevet US4554390 (A)*.

D

Dahmani B. & Bithore C., 2001, Déminéralisation des eaux saumâtres de Brédéah dans la région du bassin hydrographique Oranie-Chott-Chergui Partie I : *Hydrogéologie de la nappe de Brédéah, Desalination* 137, p. 297-309.

Dejoye C.,2013, Eco-Extraction et analyse de lipides de microalgues pour la production d'Algo-carburant ,p.18

Das, Keshav C., Chinnsamy, 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.

Deslande E, 2011 : Éric DESLANDES [Pôle Mer Bretagne] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur *Édition AdebioTech – Romainville* 182p. 2011.

Dibenedetto, Angela. 2011. The potential of aquatic biomass for CO₂-enhanced fixation and energy production. *Greenhouse Gases : Science and Technology*, 1(1), 58–71.

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.

Dragone, G., Fernandes, B., Vicente, A. A, & Teixeira, J. A. 2010. *Third generation biofuels from microalgae.*

E

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.

Etude agropédologique de la plaine de Mleta-Tlelat. Oran 1974. Direction des études de milieu et de la recherche hydraulique.

F

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.

Fiche descriptive Ramsar des zones humides algérienne d'importance internationale.

Fiche descriptive sur les zones humides: 28 janvier 2001.

Findeling A, 2011. [Veolia Environnement] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur Édition Adebitech – Romainville 182p. 2011.

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.

G

García Camacho, F., Gomez, A. C., Sobczuk, T. M. and Molina Grima, E. 2000. "Effects of mechanical and hydrodynamic stress in agitated, sparged cultures of *Porphyridium cruentum*." *Process Biochemistry* 35 (9). 1045-1050.

Gourich, B., Vial, C., El Azher, N., Belhaj Soulami, M. and Ziyad, M. 2006. "Improvement

of oxygen mass transfer estimation from oxygen concentration measurements in bubble column reactors." *Chemical Engineering Science* **61**(18). 6218-6222.

Green, E. J. and Carritt, D. E. 1967. "New tables for oxygen saturation of seawater." *Journal of Marine Research* **25** (2). 140-147.

Green, J. C. and Leadbeater, B. S. C. 1994. The Haptophyte algae. Oxford, England, The Systematics Association special volume ISBN 0-198-57772-9. pp. 446.

Grobbelaar, J. U. and Kurano, N. 2003. "Use of photoacclimation in the design of a novel photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation." *Journal of Applied Phycology* **15** (2-3). 121-126.

Gudin, C. and Chaumont, D. 1983. "Solar biotechnology study and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass." in: *Proceedings of the workshop and EC contractors's meeting*, Capri, Italy., Reidel Publ.Co., Dordecht.

Gandolfo R, 2011 : Robert GANDOLFO [*Pôle Mer PACA*] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur *Édition Adebiotech – Romainville* 182p. 2011.

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.

Garg, Sourabh, Li, Yan, Wang, Liguang, & Schenk, Peer M. 2012. Flotation of marine microalgae : *Effect of algal hydrophobicity. Bioresource Technology*, 121(0), 471–474.

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.

Ghagvardieff P, 2011 : Pierre CHAGVARDIEFF [*CEA-DSV*] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur *Édition Adebiotech – Romainville* 182p. 2011.

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.

Giordano, M. 2001. Interactions between C and N metabolism in *Dunaliella salina* cells cultured at elevated CO₂ and high N concentrations. *Journal of Plant Physiology*, 158(5), 577–581.

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.

Grant BR. 1968. L'effet de la concentration en dioxyde de carbone et le système tampon nitrate et nitrite assimilation par *Dunaliella tertiolecta*. *J. Gen Microbiol.* 54:327-336.

Grand lac salé d'Oran, Sebkh. Recueil documentaire n°1 élaboré par les services de la d'Oran-1993.

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.

Guelcher, Scott Arthur, & Kanel, Jeffrey Scott. 1998 a (July). Method for deep bedfiltration of microalgae. *Brevet WO9828404* (A1).

Guide d'identification des fleurs d'eau de cyanobactéries. 2006 : publié par le ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 2006.

H

Hébrard, G., Bastoul, D. and Roustan, M. 1996. "Influence of the gas sparger on the hydrodynamic behaviour of bubble columns." *Tran. Ichem E.* **74** (A). 406-414.

Hu, Q. and Richmond, A. 1996. "Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as effected by light intensity, algal density and rate mixing in a flat plate photobioreactor." *Journal of Applied Phycology* **8**. 139-145.

Hu, Q., Faiman, D. and Richmond, A. 1998a. "Optimal tilt angles of enclosed reactors for growing photoautotrophic microorganisms outdoors." *Journal of Fermentation and Bioengineering* **85** (2). 230-236.

Hu, Q., Kurano, N., Kawachi, M., Iwasaki, I. and Miyachi, S. 1998b. "Ultrahigh-cell-density culture of a marine green alga *Chlorococcum littorale* in a flat-plate photobioreactor."

Applied Microbiology and Biotechnology **49** (6). 655 - 662.

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.

Hassaine, K., 2014. Biogéographie et biotypologie des Culicidae (Diptera: Nématocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Ae. caspius*, *Ae. mariaae* et *Cx. pipiens*) de la région occidentale Algérienne. *Université de Tlemcen*. 203p.

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.

Harun, R., Singh, M., Forde, G. M., & Danquah, M. K. 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 14(3), 1037–1047.

Harvie, Charles E, MÃÿller, 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 25Â°C. *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.

Hedges S. B., Blair J. E., Venturi M. L., Shoe, J. L. (2004). "A molecular timescale of eukaryote evolution and the rise of complex multicellular life." *BMC Evolutionary Biology*. in *webmaster 3*.

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.

Huang, G. H, Chen, F., Wei, D., Zhang, X. W, & Chen, G. 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*, 87(1), 38–46.

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*.

I

Iltis A. (1986) « Le phytoplancton des eaux natronées du Kanem (Tchad), influence de la teneur en sels dissouts sur le peuplement algal », thèse de doctorat, *Université de Paris VI*

InterClinical Laboratories. 2010. Botanical Monograph. Marine Phytoplankton—Improve vitality; support healthy skin and eyes; enhance immunity, *natural detoxification and general well being. Australia.* P 01.

J

Jean-Louis Dubois-Chabert. 2011. Biocarburant : l'algue miracle sera cultivée à Gruissan. *LA DEPECHE.* P01.

Jin, E. S, & Melis, A. 2003. Microalgal biotechnology : Carotenoid production by the green algae *Dunaliella salina*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 8(6), 331–337.

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.

Julie P. 2011 : Julie PERSON [*Trimatec*] Livre turquoise, *Algues, filières du futur Édition AdebioTech – Romainville* 182p.

Janssen, M., Slenders, P., Tramper, J., Mur, L. R. and Wijffels, R. H. 2001. "Photosynthetic efficiency of *Dunaliella tertiolecta* under short light/dark cycles." *Enzyme and Microbial Technology* 29 (4-5). 298-305.

Jaouen, P., Vandanjon, L. and Quemeneur, F. 1999. "The shear stress of microalgal cell suspensions (*Tetraselmis suecica*) in tangential flow filtration systems: the role of pumps." *Bioresource Technology* **68** (2). 149-154.

Jeffrey, S. W. and Wright, S. W. 1994. "Chp 6. Photosynthetic pigments in the Haptophyta". *The Haptophyte algae*. Oxford, England, Green, J.C. and Leadbeater, B.S.C. **51**. 446.

K

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.

Keeling P. J., Deane J. A., Hink-Schauer C., Douglas S. E., Maier U-G., McFadden, G. I. (1999). "The secondary endosymbiont of the cryptomonad *Guillardia theta* contains Alpha Beta-, and Gamma-tubulin Genes." *Mol. Biol. Evol.* **16**: 1308-1313.

Kleinegris, Dorinde M M, Janssen, Marcel, Brandenburg, Willem A, & Wijffels, Rene H. 2011b. Two-phase systems : potential for in situ extraction of microalgal products. *Biotechnology advances*, **29**(5), 502–507. PMID : 21689738.

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.

Krinsky N.I., Johnson E.J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. -*Mol. Aspects Med.*, 2005, **26**(6), 459-516.

L

Labarta, U., Fernandez Reiriz, M. and Perez Camacho, A. 1999. "Dynamics of fatty acids in the larval development, metamorphosis and post-metamorphosis of *Ostrea edulis* (L.)." *Comparative Biochemistry and Physiology: a Molecular and Integrative Physiology* **123** (3). 249-254.

Laing, I. and Utting, S. D. 1980. "The influence of salinity on the production of two commercially important unicellular marine algae." *Aquaculture* **21** (1). 79-86.

Le Déan, L. and Gautier, F. 1991 "Rapport: "Détection automatique par visionique des

Dinophysis spp. contenus dans des échantillons d'eau de mer"." Ifremer, Nantes. Rapport interne IFREMER DRO 91.03.MR. pp. 36.

Loubière, K. 2002. "Croissance et détachement de bulles générées par des orifices rigides et flexibles dans des phases liquides newtoniennes: étude expérimentale et modélisation." Thèse de doctorat : Génie des procédés et de l'environnement. Institut national des sciences appliquées (INSA), Université de Toulouse, France. Num. national de thèse : 2002ISAT0025. pp. 329-[350].

Loubière, K. and Hebrard, G. 2003. "Bubble formation from a flexible hole submerged in an inviscid liquid." *Chemical Engineering Science* **58** (1). 135-148.

Luo, H. P. and Al Dahhan, M. H. 2004. "Analyzing and modeling of photobioreactors by combining first principles of physiology and hydrodynamics." *Biotechnology and Bioengineering* **85** (4). 382-393.

Labbé A. 1921. Sur les modifications adaptatives de *Dunaliella salina*. *Dunal CR Acad Sci.* 172:1074-1076

Labbé A. 1922. Les variations de la concentration en ions hydrogen DANS les marais salants, Comme Facteur biologique. *CR Acad Sci.* 175 :843-845

Labbé A. 1921. Le cycle d'évolutif de *Dunaliella salina*. *CR Acad Sci.* 172 :1689-1690.

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, RenÁl H. 2010. Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. *Biotechnology and Bioengineering*, 106(4), 638âAS648.

Lando D, 2011 : Danielle LANDO [*Adebiotech*] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur Édition *Adebiotech – Romainville* 182p. 2011.

Laura L, 2011 : Laura LECURIEUX-BELFOND [*Trimatec*] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur Édition *Adebiotech – Romainville* 182p. 2011.

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.

Ledant, J.P-Jacob, J.P- Jacobs P-Malher, F-Ochando B- Roché, J. 1981- Mise à jour de

l'avifaune algérienne.

Lee, Y. K. 2001. Microalgal mass culture systems and methods : Their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*, 13(4), 307–315.

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.

Legrand J, 2011 : Jack LEGRAND [CNRS - Université de Nantes] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur *Édition Adebitech – Romainville* 182p. 2011.

Lepiune O, 2011 : Olivier LÉPINE [Alpha Biotech] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur *Édition Adebitech – Romainville* 182p. 2011

Lerche W. 1937. Untersuchungen über Fortpflanzung und Entwicklung in der Gattung *Dunaliella*. *Arche f Protistenkd.* 88 :236-268.

Li, Z.H., Kuba, T., & Kusuda, T. 2006. The influence of starvation phase on the properties and the development of aerobic granules. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(5), 670–674.

Liska, A. J, Shevchenko, A., Pick, U., & Katz, A. 2004. Enhanced photosynthesis and redox energy production contribute to salinity tolerance in *Dunaliella* as revealed by homologybased proteomics. *Plant Physiology*, 136(1), 2806–2817.

Liu, J. C, & Lee, D. J. 2010. Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 101(23), 9092–9096.

Loeblich, L. A. 1982. Photosynthesis and pigments influenced by light-intensity and salinity in the halophile *Dunaliella-salina* (Chlorophyta). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 62(3), 493–508.

M

Macedo M.F., Miller A.Z., Dionísio A., Saiz-Jimenez C., 2009. Biodiversity of cyanobacteria and green algae on monuments in the Mediterranean Basin: an overview. *Microbiology (Reading, England)*, 155(Pt 11), 3476–90.

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.*

Mathieu D, 2011 : Daniel MATHIEU, Pôle Trimatec, LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur Édition *Adebiotech – Romainville* 182p. 2011.

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.

Martinez G., Cifuentes A., Gonzalez M. and Parra O. 1995. Effect of salinity on sexual activity of *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco, strain CONC-006.” *Revista Chilena de Historia Natural*.

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.

Melis, A., Neidhardt, J., & Benemann, J. R. 1998. *Dunaliella salina* (Chlorophyta) with small chlorophyll antenna sizes exhibit higher photosynthetic productivities and photon use efficiencies than normally pigmented cells. *Journal of Applied Phycology*, 10(6), 515–525

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

Michael A. Borowitzka (1990) Laboratoire de biotechnologie des algues, School of Biological and Environmental Sciences, *Université Murdoch Murdoch, WA 6150. Australie.* P01.

Mil'ko ED. 1962. Etude de l'exigence de deux *Dunaliella sp* en minéraux et en composants organiques du milieu. *Moscou Univ. Vset., Biol.* 6: 21-23.

Mishra, A., Mandoli, A., & Jha, B. 2008. Physiological characterization and stress-induced metabolic responses of *Dunaliella salina* isolated from salt pan. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(10), 1093–1101.

Mishra, A., & Jha, B. 2009. Isolation and characterization of extracellular polymeric substances from micro-algae *Dunaliella salina* under salt stress. *Bioresource Technology*, 100(13), 3382–3386.

- Mishra, A., Kumari, K., & Jha, B. 2010.** Characterization of extracellular polymeric substances produced by micro-algae *Dunaliella salina*. *Carbohydrate Polymers*.
- 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.
- Morgan, N.C- 1982.** An ecological survey of standing waters in North West Africa: II. *Site descriptions for Tunisia and Alegria*.
- Moulton, T. P, Borowitzka, L. J, & Vincent, D. J. 1987.** the mass-culture of *Dunaliella salina* for beta-carotene - from pilot-plant to production plant. *Hydrobiologia*, 151, 99–105.
- Munoz, J., Mudge, S. M, & Sandoval, A. 2004.** Effects of ionic strength on the production of short chain volatile hydrocarbons by *Dunaliella salina* (Teodoresco). *Chemosphere*, 54(8), 1267–1271.

N

- 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.

O

- 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. 2005.** Cent ans des recherches sur *Dunaliella salina*: 1905-2005. Biomedical central (The Open Access Publisher). Saline systems.
- Oren A. Rodriguez-Valera F. 2001.** The contribution of halophilic Bacteria to the red coloration of saltern crystallizer ponds. ” *FEMS Microbiology Ecology*, 2001
- Oren, A. 1999.** Bioenergetic aspects of halophilism. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(2), 334–348.

P

- 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.
- Patrik Gayral 2007.**, Les algues Morphologie, Cytologie, Reproduction et .Ecologie *edition Dion.*
- 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*.n *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*, 1âAS14.

Potin P, 2011 : Philippe POTIN [CNRS - SB Roscoff] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur *Édition Adebitech – Romainville* 182p. 2011.

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.

Pruvost J, 2011 : Jérémy PRUVOST [CNRS - Université de Nantes] LIVRE TURQUOISE, Algues, filières du futur *Édition Adebitech – Romainville* 182p. 2011.

Pulz, O., & Gross, W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(6), 635–648.

R

Rabbani, Said, Beyer, Peter, Lintig, Johannes v, Huguene, Philippe, & Kleinig, Hans. 1998. Induced Îš-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.

Ramsar list, 2010, la liste des zones humides d'importance internationale.

Rao, S. D. V. 2009. Cultivation, growth media, division rates and applications of *Dunaliella* species. India : *Science Publishers*.

Rapport de synthèse sur la Sebkhâ d'Oran «Documentation et possibilité d'aménagement» 1983. *Direction de l'hydraulique de la wilaya d'ORAN*.

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. Procède 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*.

Riyahi J., Haouazine Y., Akallal R., Mouradi A., Creach., Thierry G., Mouradi A. (2007) influence des nitrates, de la salinité et du stress lumineux sur la teneur en acides gras et en β -carotène de *Dunaliella salina*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2007, 146, 235-250.

S

Sariane Mounir, Sebkh d'Oran, in webmaster 6.

Sassi j, 2011 : Jean-François SASSI [*CEVA*] livre turquoise, Algues, filières du futur Édition *Adebiotech – Romainville* 182p. 2011.

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.

Schlipalius, L. 1991. The extensive commercial cultivation of *Dunaliella-salina*. *Bioresource Technology*, 38(2-3), 241–243.

Segovia M, Haramaty L, Berges JA, Falkowski PG 2003. Cell Death in the unicellular Chlorophyte *Dunaliella tertiolecta*. *A Hypothesis on the Evolution of Apoptosis in Higher Plants and Metazoans Plant Physiology*. 132(1): 99-105.

Sharma Naveen Kumar, Rai A.K., 2011. Biodiversity and biogeography of microalgae: progress and pitfalls, 15, 1–15.

Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler P (1998) A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program—biodiesel from algae. NREL/TP-580 24190. *U.S. Department of Energy's Office of Fuels Development*.

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*.

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.

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.

Sialve B et Steyer P 2013., les microalgues promesses et défis-Innovations Agronomiques p 26

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.

Stephens, Evan, Ross, Ian L, Mussgnug, Jan H, Wagner, Liam D, Borowitzka, Michael A, Posten, Clemens, Kruse, Olaf, & Hankamer, Ben. 2010. Future prospects of microalgal biofuel production systems. *Trends Plant Sci*, 15(10), 554–64.

Sukenik, A., Bilanovic, D., & Shelef, G. 1988. Flocculation of microalgae in brackish and sea waters. *Biomass*, 15(3), 187–199.

Suresh Kumar, Anita, Mody, Kalpana, & Jha, Bhavanath. 2007. Bacterial exopolysaccharides as a perception. *Journal of Basic Microbiology*, 47(2), 103–117.

T

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.

Terry, K. L., & Raymond, L. P. 1985. System-design for the autotrophic production of microalgae. *Enzyme and Microbial Technology*, 7(10), 474–487.

Teysse re B. (2006). "Are the green algae (*Phylum viridiplantae*) two billion years old ?" *Notebooks on Geology A03*: 1-15.

Tornabene, T.G., Holzer, G., & Peterson, S.L. 1980. Lipid profile of the halophilic alga, *Dunaliella salina*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 96(3), 1349–1356.

Tremblin G., 2000- Les plantes pionni re des sebkhas (lacs sal s continentaux) de l'ouest alg rien . *S cheresse*. 11 (2) : 109-116.

V

Van Den Hende S., Vervaeren H., Boon N., 2012. Flue gas compounds and microalgae: (bio)chemical interactions leading to biotechnological opportunities. *Biotechnology advances*.

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.

Vorst, P., Baard, R. L, Mur, L. R, Korthals, H. J, & van den Ende, H. 1994. Effect of growth arrest on carotene accumulation and photosynthesis in *Dunaliella*. *Microbiology*, 140(6), 1411.

W

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.

Y

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.

Z

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.

Annexe

Development of experimental production of algal biomass: case of *Dunaliella salina* of Arzew's Salines (Western Algeria)

B. Doukani, M.A. Bouzidi, A. Kerfouf*

Laboratory of Eco-development of Space, University Djillali Liabes, Sidi Bel Abbès, 22000, Algeria

*Corresponding author E-mail: kerfoufahmed@yahoo.fr, ahmed.kerfouf@univ-sba.dz

Received: 29.09.2021. Accepted: 23.10.2021.

This present work dealing with the study of the growth of a microalgae of economic interest, which proliferates in the salines of Arzew in western Algeria. *Dunaliella salina* is a microalgae endemic to these salty environments. Samples were collected and maintained as a pure culture of isolated *Dunaliella salina*. The aim of this study, is to establish a first reference state of the environments of the Salines of Arzew, and to find the best conditions for the development of this microalgae under experimental conditions. Two main ecological parameters (light and salinity) that influence the production of its biomass are studied. The site renowned for its richness in crustaceans of the genus *Artemia salina* and an important algal biomass, receives a large population of greater flamingo *Phoenicopterus roseus*. The water's salinity at the sampling site was 188 gr/l. The chlorophyll concentration and cell density were greater than 110 µg/l, and 2×10^6 cells/l respectively. The experimental results obtained demonstrated that the light intensity (18,000 lux) is the most influential parameter, followed by the number of days of algal culture. A cell concentration of 5.29×10^6 cells/l, is noted after 20 days of culture.

Keywords: *Dunaliella salina*, Microalgae, Ecological parameters, Biomass, Salines of Arzew, Western Algeria.

Introduction

Dunaliella salina, is a halotolerant unicellular chlorophyceae that lives in waters with a salinity of around 350 g/l (Borowitzka, 1990; Avron et Ben-Amotz, 1992; Leach et al., 1998; Krinsky, 2005). It can live in extreme conditions of salinity, temperature and solar radiation, due to the synthesis of a series of molecules that protect it (M. Ahmed et al., 2001; A. Bhatnagar et M. Bhatnagar, 2005), and currently recognized as the most salt tolerant eukaryote (Ben-Amotz et al., 1982; Loeblich, 1982; Garcia-Gonzalez et al., 2003; Gomez et al., 2003; Gomez et Gonzalez, 2005). *D. salina* is of biotechnological interest because it is capable of accumulating β -carotene, a pigment of natural origin, more active than that obtained by synthesis, used as a food coloring, source of vitamin A, and as an additive in cosmetology (Riahi, 2007). The objective of this work is to optimize the intensive production of microalgae biomass in experimental conditions, according to two ecological parameters: light intensity (I) and salinity (S).

Materials and Methods

Study area

The sampling site is a wetland classified by the Ramsar convention, for its rich flora and fauna, in particular migratory waterbirds. Sampling is carried out in the channel between the wetland and the salt basins for the production of salt (Fig. 1).

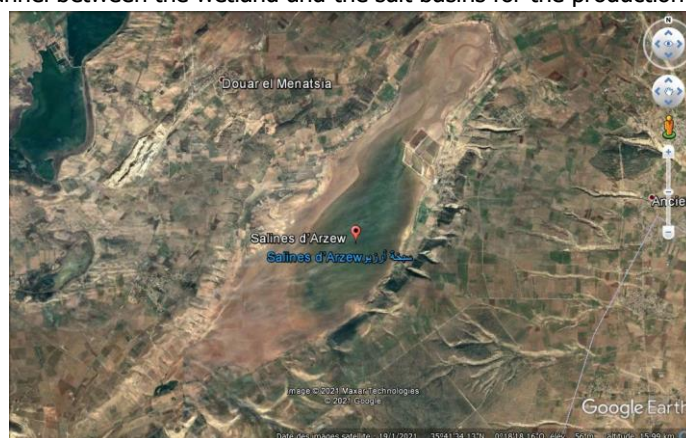


Fig. 1. Study area (Google earth, 2021).

Sampling

A water sample is taken from the stagnant water channel that comes from the wetland (Fig. 2).



Fig. 2. Sampling site.

The samples are cultured at low shaking, low light and at medium temperature. The color of the algae changes from red to green. The identified pure algae samples are cultured in a place of low shaking, low light and medium temperature (Fig. 3A), until the color of the algae turns from red to green.

For each experiment, we carried out a pre-culture of *Dunaliella salina* with the same concentrations in a cylindrical reactor (Fig. 3B), in an air-conditioned hall, with a latest generation LED Day Light, and only atmospheric CO₂. The temperature is kept constant at 25°C for all the experiments.

The sampled microalgae are cultured for 20 days in an aerated Johnson culture solution, and placed in a flat bioreactor (Fig. 3C): area (1 m²), thickness (40 mm) and volume (40 L).

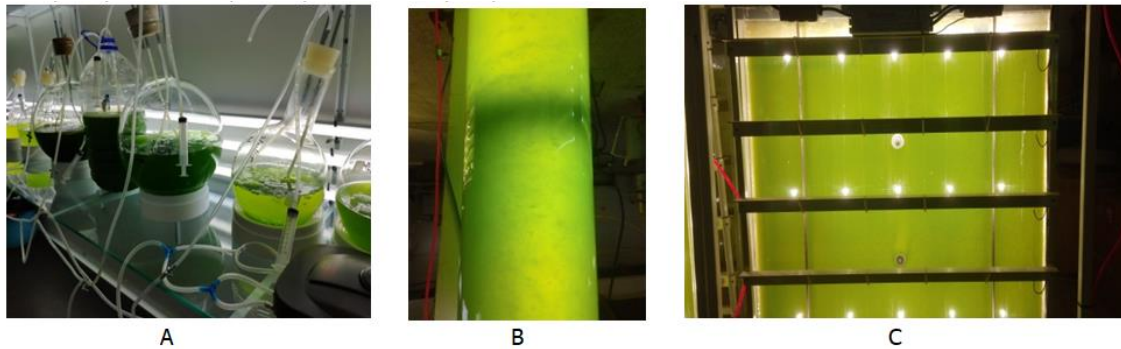


Fig. 3. Experimental system.

Cell concentration is measured every 2 days using Thomas numbering cells. The design of the experiments makes it possible to simultaneously determine the individual and interactive effects of various factors that could influence the results (Box, 1951).

The objective of all the experiments is to evaluate the factors of effect on increasing the cell concentration of a microalgae in reactors in order to optimize the biomass yield. For these experiments, two parameters are chosen according to the bibliography: light intensity (I), and salinity (S). For each parameter, 4 progressive values are used for the light intensity (18000 lux, 28000 lux, 38000 lux and 45000 lux) and for the salinity (45 gr/l, 100 gr/l, 200 gr/l and 250 gr/the). Thus, 16 experiments are carried out, changing the various factors for each experiment (Table 1).

Table 1. Parameter values for each experiment (Exp): light intensity (I: lux), and salinity (S: gr/l).

Exp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
I	180	180	180	180	280	280	280	280	380	380	380	380	450	450	4500	4500
	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
S	45	100	200	250	45	100	200	250	45	100	200	250	45	100	200	250

Results and Discussion

The water's salinity at the sampling site was 188 gr/l. The chlorophyll concentration in the sampling site and cell density were greater than 110 µg/l, and 2 × 10⁶ cells/ml respectively.

Dunaliella salina microalgae are isolated and identified:

Phylum: *Chlorophyta*

Class: *Chlorophyceae*

Order: *Chlamydomonadales*

Family: *Dunaliellaceae*

Genus: *Dunaliella*

Species: *Dunaliella salina* (Dunal) (Téodor., 1905)

The color of algae sampled from the natural environment changes from red to green when cultivated at low agitation, low light and medium temperature (Fig. 4).

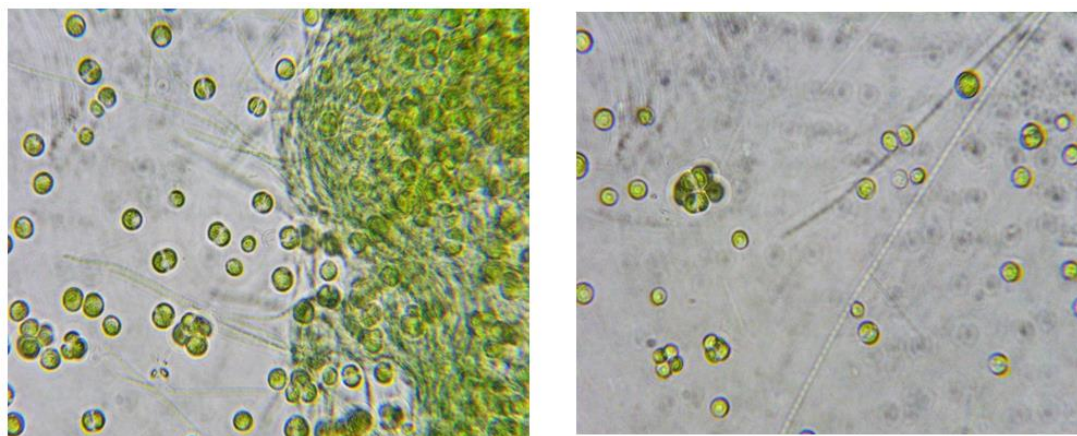


Fig. 4. Experimental system.

For each of the 16 experiments carried out, the cell concentration is measured every two days, for twenty days (Table 2).

The results obtained from the cell counts of the cultures of *Dunaliella salina*, carried out every two days, demonstrate that this species of microalgae is capable of growing for all the salinities tested. The growth profile increases more with a salinity concentration of 45 gr/l, than that of 250 gr/l. By comparing the experiments for the same salinity (45 gr/l), the highest growth was observed on the twentieth day of the first experiment, for the lowest light intensity (45000 lux).

The growth of algae stops more with increasing salinity (250 gr/l), than at low salinity (45 to 100 gr/l). Ben-Amotz (1987), Dolapsakis et al. (2005), Oren (2005), Tawfik S Abu Rezk et al. (2010) found that optimal growth of *Dunaliella* can be achieved in coastal and lagoon and saline areas where the desired salt concentration can be achieved depending on natural weather conditions (precipitation and evaporation).

Table 2. Evolution of cell concentration ($\times 10^6/\text{ml}$) compared to the number of days.

Days/Experience	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
1	0.29	0.49	0.58	0.67	0.77	0.85	0.95	1.06	1.15	1.25
2	0.29	0.48	0.55	0.64	0.72	0.8	0.9	0.97	1.08	1.18
3	0.29	0.49	0.64	0.76	0.91	1.07	1.18	1.3	1.39	1.48
4	0.29	0.48	0.59	0.72	0.84	0.97	1.11	1.23	1.38	1.47
5	0.29	0.48	0.83	1.28	1.66	1.97	2.3	2.64	3.08	3.21
6	0.29	0.5	0.66	0.86	1.21	1.43	1.69	1.98	2.11	2.25
7	0.29	0.47	0.59	0.74	0.93	1.01	1.08	1.14	1.19	1.25
8	0.29	0.47	0.57	0.65	0.74	0.8	0.88	0.97	1.06	1.13
9	0.29	0.66	0.94	1.25	1.75	2.35	2.89	3.37	3.57	3.79
10	0.29	0.49	0.69	0.95	1.19	1.59	1.95	2.21	2.27	2.41
11	0.29	0.49	0.6	0.72	0.84	0.97	1.1	1.21	1.33	1.41
12	0.29	0.49	0.59	0.67	0.75	0.82	0.9	1	1.09	1.2
13	0.29	0.50	1.00	1.60	2.50	3.12	4.12	5.14	5.02	5.29
14	0.29	0.47	0.69	0.95	1.29	1.59	2.12	2.42	2.29	2.59
15	0.29	0.48	0.58	0.67	0.75	0.82	0.9	0.98	1.08	1.18
16	0.29	0.45	0.45	0.40	0.36	0.28	0.12	0.03	0.00	0.00

Experimental cultures 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 and 14 show that cell concentration changes with increasing salinity up to 100gr/l, but it decreases above this salt level. The same observation is noted for a light intensity of 38,000 lux.

Cellular concentrations obtained from *D. salina* grown at different light intensities (18000; 28000; 38000 and 45000 lux), demonstrated that algal growth also increases with increasing light intensity until inhibition of photosynthesis from 45,000 lux.

Dunaliella salina prefers high light intensity to low light intensity up to $5.29 \times 10^6/\text{ml}$ cells at 45,000 lux and 45gr/l salinity and only up to $3.79 \times 10^6/\text{ml}$ cells at 38,000 lux and 45 gr/l of salinity. These results are also consistent with the findings of Singh et al. (2000) who reported that *Dunaliella salina* increases at a much faster rate at high light intensities and medium salinity. Gomez et al. (1992) concluded that the rate of photosynthesis was significantly higher in green form at light intensities below 50,000 lux. However, photosynthetic inhibition in high light was more pronounced in the green form.

Richmond (1986), Borowitzka (1990), Renaud et al. (1991, 1995) noted that the chemical composition of many microalgae is influenced by growing conditions such as salinity, temperature, pH and nutrients. Leach et al. (1998) concluded that it was possible

to obtain a cellular concentration of *Dunaliella salina* of 0.8×10^6 cells/ml when the culture is maintained at a salinity of 180 gr/l. The results obtained show that the light intensity is the most influential parameter, followed by the number of days of culture.

Conclusion

The optimal growth conditions for cell concentration deduced from the analysis of these experiments are: 18,000 lux for light intensity, 45 gr/l for salinity. The maximum was recorded at the end of the 20th day for a concentration of 5.29×10^6 cells/l.

Increasing cell concentration is a dynamic operation. Our experiments allow us to determine the importance of each factor as well as the interactions between them. To improve this study, we must perform a dynamic study that takes into account the growth rate, as a function of the time of incubation.

For the culture conditions of this study, it was possible to establish and maintain pure cultures of *Dunaliella salina* from the Salines of Arzew (western Algeria), in the laboratory. The results of the experiments carried out showed that this species preferred a high salinity of 45 gr/l for optimal growth.

Further test results showed that growth performance was limited for a concentration of 100gr/l in the green form, and that the growth performance for this strain was better at a high light intensity of 18000 lux at 45000 lux.

The values of the two parameters where growth is slowed are 45000 lux of light intensity and 200 gr/l of salinity. From these two values, the algae is constrained by osmotic pressure and light irradiation to concentrate β -carotene and glycerol to resist, which explains the slowing down of cell division and growth. however, algal biomass yields can be improved by optimizing other physicochemical production parameters.

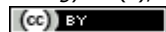
References

- Ahmed, M., Arakel, A., Hoey, D., Coleman, M. (2001). Integrated power, water and salt generation: A discussion paper. *Desalination* 134:37-45.
- Avron, M., Ben-Amotz, A. (1992). *Dunaliella*: physiology, biochemistry and biotechnology. Boca Raton: CRC Press.
- Ben-Amotz, A., Katz, A., Avron, M. (1982). Accumulation of β -carotene in halotolerant algae: Purification and characterisation of β -carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 18:529-537.
- Bhatnagar, A., Bhatnagar, M. (2005). Microbial diversity in desert ecosystems. *Current Science*, 89:91-100.
- Borowitzka, M.A. (1990). The mass culture of *Dunaliella salina*. Technical resource papers regional workshop on the culture and utilization of seaweeds. Regional Seafarming Development and Demonstration.
- Box, G.E.P, Wilson, K.B. (1951). On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, 13:1-45.
- Dolapsakis, N.P., Tafas, T., Abatzopoulos, T.J., Ziller, S., Economou-Amilli, A. (2005). Abundance and growth response of microalgae at Megalon Embolon solar saltworks in northern Greece: An aquaculture prospect. *Journal of Applied Phycology* 17:39-49.
- Gomez, P.I., Barriga, A., Cifuentes, A.S., Gonzalez, M.A. (2003). Effect of salinity on the quantity and quality of carotenoids accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC-007) and *Dunaliella bardawil* (strain ATCC-30861) Chlorophyta. *Journal of Biological Research*, 36:185-192.
- Gomez, P.I., Gonzalez, M.A. (2005). The effect of temperature and irradiance on the growth and carotenogenic capacity of seven strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) cultivated under laboratory conditions. *Journal of Biological Research*, 38:151-162.
- Garcia-Gonzalez, M., Moreno, J., Canavate, J.P., Anguis, V., Prieto, A., Manzano, C., Florencio, F.J., Guerrero, M.G. (2003). Conditions for openair outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. *Journal of Applied Phycology*, 15:177-184.
- Iltis, A. (1980). Les algues in. Durand JR et Leveque C, flore et faune aquatique de l'Afrique sahélosoudanaise. 1:873.
- Krinsky, N.I, Johnson, E.J. (2005). Carotenoid action and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 26:459-516.
- Leach, G., Oliveira, G., Morais, R. (1998). Production of a carotenoids-rich product by alginate entrapment and fluid-bed drying of *Dunaliella salina*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76:298-302.
- Loeblich, L.A. (1982). Photosynthesis and pigments influenced by light intensity and salinity in the halophile *Dunaliella salina* (Chlorophyta). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 62:493-508.
- Renaud, S.M., Parry, D.L., Luong-Van, T., Kuo, C., Padovan, A., Sammy, N. (1991). Effect of light intensity on proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 3:43-53.
- Renaud, S.M., Zhou, H.C., Parry, D.L., Tinh, L.V., Woo, K.C. (1995). Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical microalgae *Isochrysis* sp., *Nitzschia closterium*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp. (clone T.ISO). *Journal of Applied Phycology*, 7:595-602.
- Riahi, J., Haouzine, Y., Akkal, R., Mouradi, A., Creach, A., Givereaud, T., Mouradi, A. (2007). Influence des nitrates, de la salinité et du stress lumineux sur la teneur en acide grs et en β carotène de *Dunaliella salina*. *Bulletin Social Pharmacology of Bordeaux*, 146:235-250.
- Richmond, A. (1986). Microalgae of economic potential. In *Handbook of microalgal mass cultures*. Edited by A. Richmond. Florida: CRC Press, Inc., pp:199-243.
- Singh, E., Babcock, R., Radway, J.A. (2000). Photobioreactor modification for *Dunaliella salina*. Marbec Summer Undergraduate Research Fellowship, Marine Bioproducts Engineering Center, University of Hawaii at Manoa and University of California, Berkeley.

Tawfiq, S.A., Al-Hooti, S., Jacob, D.A. (2010). Optimum culture conditions required for the locally isolated *Dunaliella salina*. *Journal of Algal Biomass Utln*, 1:12-19.

Citation:

Doukani, B., Bouzidi, M.A., Kerfouf, A. (2021). Ecological assessment of variability of quantitative signs of spring wheat samples. *Ukrainian Journal of Ecology* 11 (8), 167-171.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Djilali Liabès de Sidi Bel-Abbès
Faculté des Sciences Economiques, Commerciales et Sciences de Gestion



Attestation de Participation

Dr. Laouedj Zouaoui Président du Colloque International sur : « *Rôle de la Sous-Traitance dans le Développement de la PME/PMI* », organisée par l'Université Djilali Liabès du 03 au 04 mai 2016.

Atteste que : **Mr. Bachir Doukani de l'SPPM SPA (Groupe des Sociétés Hasnaoui. SBA)**, a participé aux travaux du colloque par une communication intitulée :

« Présentation des perspectives de la sous-traitance dans le domaine de l'agriculture. »



Dr. LAOUADJ Zouaoui

Quatrièmes Journées d'Etude
« Réseaux électriques, Haute Tension et Compatibilité Electromagnétique »
« REHTCE'2016 », Sidi Bel-Abbès, 07-08 novembre 2016.

Université Djillali Liabes de Sidi-Bel-Abbès
Faculté de Génie Electrique
Département d'Electrotechnique

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le Président du comité d'organisation des Quatrièmes Journées d'Etude «Réseaux Electriques, Haute Tension et Compatibilité Electromagnétique», atteste que :

Mr. DOUKANI Bachir

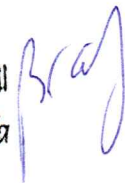
Représentant du Groupe HASNAOUI de Sidi Bel Abbès,

a participé aux quatrièmes journées qui se sont déroulées les 07 et 08 Novembre 2016 à la Faculté de Génie Electrique de l'Université DjillaliLiabès de Sidi Bel-Abbès.

Le Président du comité d'organisation

Pr. M. BRAHAMI

الدكتور براهمي مصطفى
Dr. BRAHAMI Mostéfa



Colloque International
Biosciences 2017
Les métiers de la Biologie
Oran 28 - 29 Octobre 2017

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Nous soussignons que :

DOUKANI Bachir

a présenté une communication Affichée intitulée :

Eco-biologique d'une microalgue « Dunaliella salina » des Salines d'Arzew (Ouest algérien)

Doukani Bachir, Hassani Maya Meriem, Ahmed Kerfouf, Toumi Fawzia

Ecole Préparatoire en Sciences
de la Nature et de la Vie d'Oran
(EPSNVO)

Le Président du comité
d'organisation

Pr BABA HAMZO
Mohammed Bey

Directeur de l'EPSNVO



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجارة

غرفة التجارة والصناعة

لولاية سيدي بلعباس

وزارة الفلاحة، التنمية الريفية والصيد البحري
المديرية العامة للصيد البحري وتربية المائيات
مديرية الصيد البحري والموارد الصيدية



شهادة شرفية



تمنح هذه الشهادة التقديرية للسيد: دوكاني بشير، SODIA، مجمع مؤسسات حسناوي، سيدي بلعباس، عرفانا له بالمجهودات المبذولة من طرفه في إنجاح فعاليات الملتقى الجهوي الأول حول "الاستثمار في تربية المائيات" المنعقد بفندق إدن Eden، سيدي بلعباس، يوم 28 مارس 2018، فلكم منا كل الشناء والتقدير على جهودكم الثمينة والقيمة.



مدير الصيد البحري و الموارد الصيدية

مهمر فاضلي

B-one

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Attestation de Participation

Je soussigné, Directeur de l'ENSSMAL, Professeur **BALISTROU Mourad** certifie que :

DOUKANI BACHIR, MANSOURI ASMAA & KERFOUF AHMED

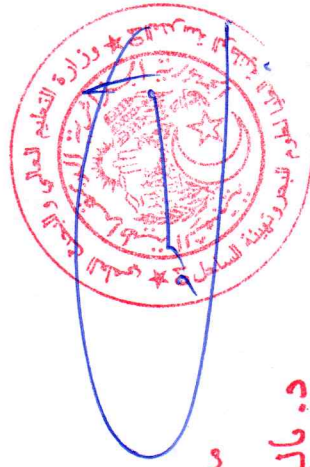
Laboratoire d'écodéveloppement des espaces, Université Djillali Liabès, Sidi Bel Abbès

Ont participé au 3^{ème} Workshop International sur la biodiversité et la gestion des écosystèmes exploités, qui a eu lieu à l'ENSSMAL le 27 octobre 2018 par la présentation d'une communication affichée intitulée : **LES DEVERSEMENTS D'HYDROCARBURES DANS LES ZONES HUMIDES COTIERES - HYDROCARBON DISCHARGES IN THE COASTAL WETLANDS**

Fait à Dély Ibrahim, le 27/10/2018
Le Directeur de l'ENSSMAL



Workshop validé par le conseil du laboratoire des écosystèmes marin et littoral



مدير بالنيابة

د. باليسترو مراد

6^{ème} Congrès Franco-Tunisien de Zoologie
6^{ème} Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie 119^{èmes} Journées annuelles de la SZF
Maison De La Tunisie – Paris 13- France 21-23 novembre 2018

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le comité d'organisation des trois manifestations réunies, atteste que

BACHIR DOUKANI

a présenté une communication par affiche intitulée

Contribution à l'étude du crustacé *Artemia salina* des salines d'Arzew (Ouest algérien)

Auteurs:

DOUKANI Bachir, KERFOUF Ahmed, DENIS Françoise, RAMDANI Mohamed

Département des sciences de l'environnement, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Djillali
Liabes, Sidi Bel Abbès, 22000, Algérie.

Président de la SZF



Président du Congrès



Jawid Bouwissa



UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI-BEL-ABBES

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT



2^{ème} Journée Scientifique Nationale

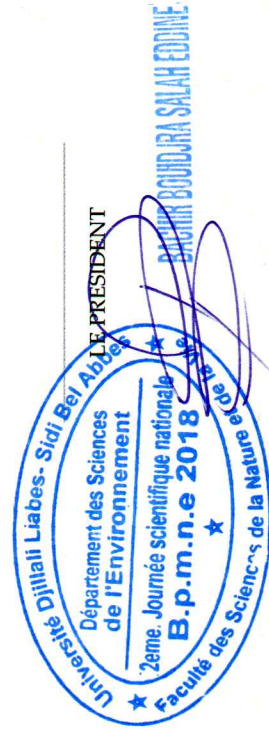
"Biodiversité, Protection des Milieux Naturels et Ecodéveloppement"

20 Décembre 2018

Attestation de Participation

Le comité d'organisation atteste que : **DOUKANI Bachir** a présenté(e) une communication Affichée intitulée : **Optimisation de la production de la biomasse microalgale par la méthode des plants d'expérience Cas de Dunaliella salina** Lors de la 2^{ème} Journée Scientifique Nationale sur la Biodiversité, Protection des Milieux Naturels et Ecodéveloppement, organisée par le Département des Sciences de l'Environnement.

Co-auteurs : **BOUZIDI Mohamed Ali et KERFOUF Ahmed**



Marseille, 10th February 2021

Acceptance letter and Invitation

Bachir DOUKANI

**Laboratoire d'écodéveloppement des espaces, Université Djillali
Liabes, Sidi Bel Abbès, 22000, Algeria**

Dear colleague **Bachir DOUKANI**,

We are pleased to inform you that the scientific committee of the 6th International Congress of Biodiversity and Biotechnology, has accepted your communication entitled:

« *Dunaliella salina* of salines of Arzew: a micro-algae of economic interest »

Bachir DOUKANI, Affef BAALOUJ, Ahmed KERFOUF,
Mohamed Ali BOUZIDI, Mohammed RAMDANI

For an Oral presentation during this scientific event which will take place from May 21 to 23, 2021 at the European Center for Research 'CERIMED' - La Timone - Marseille - (France).

Given the importance of your research topic, your presence is eagerly awaited to participate in the debates of the congress sessions and present your scientific research results.

Hope to see you among us, please believe dear colleague, the expression of our most cordial greetings.



Chairman of the Conference
Dr. Anne-Sophie CHANTRY

CERIMED
La Timone, Marseille, France





People's Democratic Republic of Algeria
Ministry of Higher Education and Scientific Research

University Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem
Faculty of Nature and Life Sciences



CERTIFICATE OF PARTICIPATION

The organizing committee of the 10th national days of natural and life sciences
"JNSNV2021" which took place on 16, 17 and 18 November 2021 in Mostaganem,

Certifies that Mr, Mrs, Miss: **Bachir DOUKANI**

Participated with an oral communication entitled: **Optimization of Micro Algal
Biomass Production by the Method of Experimental Designs (Case of Dunaliella
salina Teodoresco)**

With the co-authors: **Mohamed Ali BOUZIDI, Ahmed KERFOUF**

Pr.SOUALILI Dina Lila

Dean of the Faculty



Pr.GHAFFOUR Mohamed

Chair of the Organizing
Committee

