



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا للعلوم البيولوجية بهران

Ecole Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran

Cinétiques de croissance des cultures phytoplanktoniques

l'activité de recherche dans le domaine des microalgues s'est accrue et l'on connaît mieux maintenant leurs potentialités. Ainsi l'intérêt industriel vis-à-vis de ces microorganismes photosynthétiques va croissant. Leur application la plus importante concerne la production de molécules à haute valeur ajoutée mais il est aussi envisageable d'utiliser les microalgues pour des applications environnementales : capture de CO₂, traitement des eaux usées et production d'engrais. Plus récemment un regain d'intérêt est né de la possibilité de produire des biocarburants comme une des énergies alternatives du futur.

Utilisation des microalgues Il est possible de décomposer l'utilisation des microalgues dans l'industrie en trois parties : la production de biomasse à but alimentaire, la production de molécules spécifiques dites à haute valeur ajoutée et les applications environnementales. La seconde s'intéresse à certains composés biochimiques des microalgues et regroupe la plupart des applications industrielles.

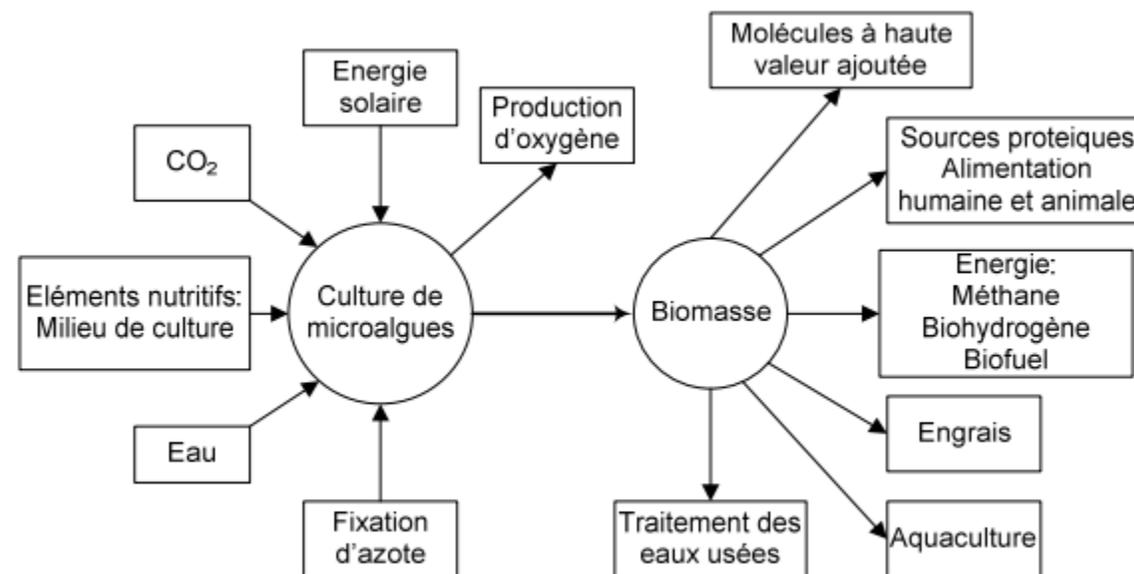
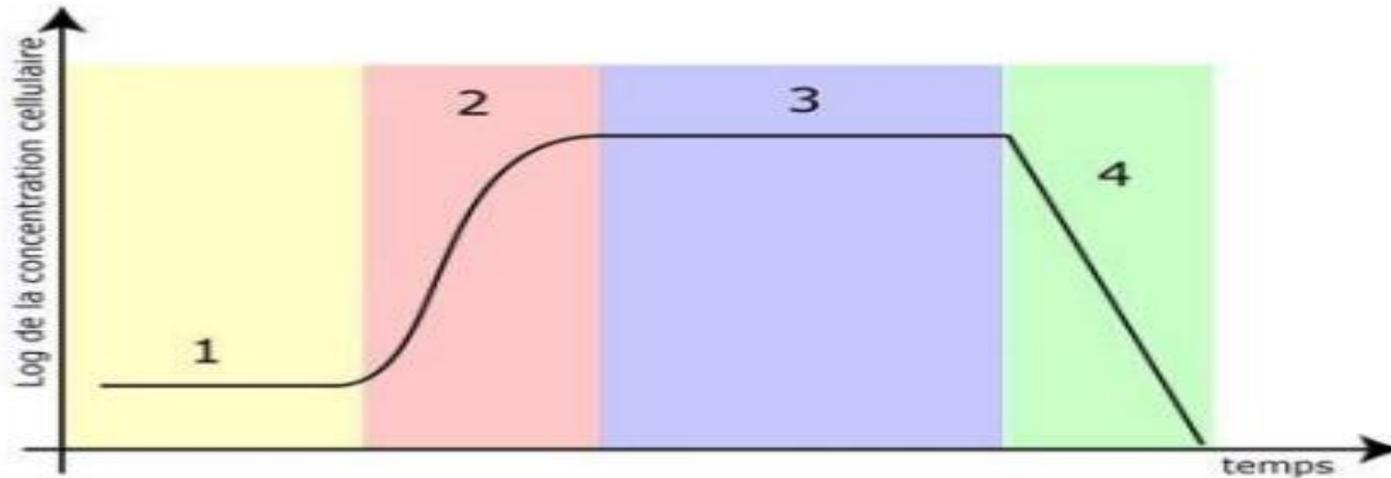


Figure 1.4 : Domaines d'application des cultures de microalgues

Cinétiques de croissance des cultures phytoplanctoniques

La croissance des cultures phytoplanctoniques mises en culture présente quatre phases essentielles (Taleb, 2015)

- **Une phase de latence (1)**, pendant laquelle la croissance des cellules est lente. L'adurée de cette phase dépend des volumes respectifs d'inoculum et de milieu de culture, et surtout de l'acclimatation de la culture mère aux nouvelles conditions dans le récipient de culture.
- **Une phase exponentielle (2)**, justement définie par le caractère exponentiel de la croissance. L'augmentation du nombre de cellules (PN) par unité de temps (dt) est alors proportionnelle au nombre de cellules présentes à l'instant t

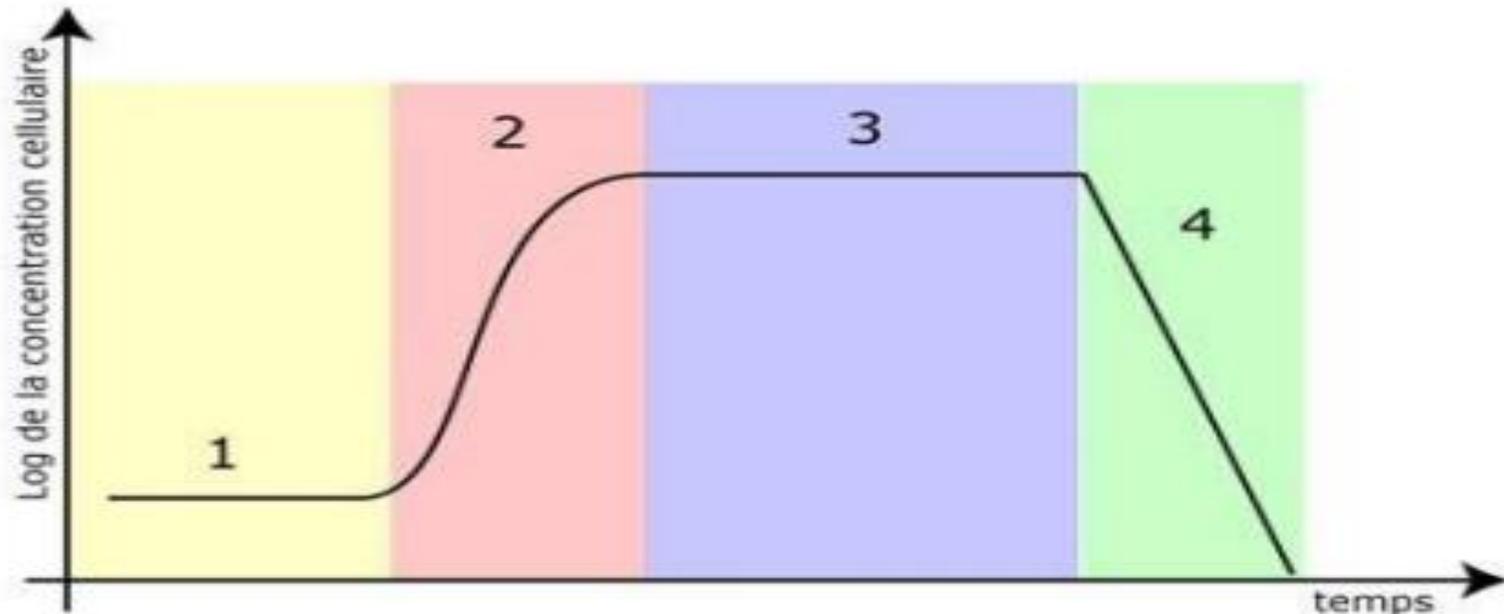


2. Cinétique de croissance des cellules phytoplanctoniques mise en culture

- **Une phase stationnaire (3)**, qui perdure jusqu'à ce qu'un élément, dit « limitant » (le plus souvent un élément nutritif comme l'azote ou le phosphore), dont la concentration est plus faible par rapport aux besoins du phytoplancton, atteigne une valeur qui ne peut plus satisfaire la demande des cellules .

A ce stade, le taux de croissance μ décroît jusqu'à zéro, et la culture entre en phase stationnaire : la biomasse et/ou le nombre de cellules n'augmente(nt) plus. D'autres causes, comme la diminution de la lumière disponible due à l'auto-ombrage des cellules, devenues très abondantes, peuvent aussi être à l'origine d'un fléchissement du taux de croissance, sans toutefois l'annuler.

- **Une phase de déclin (4)**, aussi appelée phase sénescence, se traduisant par la mort des cellules, lesquelles ne trouvent pas dans le milieu de culture les éléments nécessaires à leur survie. Elles libèrent alors leurs constituants cellulaires.



2. Cinétique de croissance des cellules phytoplanctiques mise en culture

La culture des microalgues

Les besoins nutritifs des microalgues sont similaires à ceux des plantes supérieures (Becker, 1994 ; Redfield, 1934) a proposé une élémentaire C : N : P de cette composition est relativement constante dans le milieu naturel. Le milieu de culture devra satisfaire les besoins en élément majeurs (ou macroéléments) C, H, N, O, P, S et en micro-élément encore appelés éléments traces.

Le tableau montre les éléments majeurs constitutifs des microalgues (Taleb, 2015)

Tableau 1. Eléments majeurs constitutifs des microalgues.

Elément	Composition cellulaire µg/mg de poids sec	Elément	Composition cellulaire µg/mg de 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	0,4-471	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 besoins nutritifs des microalgues

I- Facteurs chimiques

a) Le carbone

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 photo-autotrophe (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) (Bumbak et al., 2011 ; Becker, 1994) ; Dans le cas du métabolisme photoautotrophe, le carbone inorganique pourra être introduit dans la culture sous forme gazeuse (CO_2) ou directement dans le milieu de culture sous la forme de carbonate (HCO_3).

Le carbone représente environ 50 % en masse de la matière sèche des microalgues (Sánchez Miron et al., 2003). Chez les organismes autotrophes, la totalité de ce carbone est issue du CO_2 . La production de 100 tonnes de biomasse algale permet donc la fixation d'environ 180 t de CO_2 (Chisti, 2007)

b) L'Azote

Ce composé est classiquement apporté sous 3 formes possibles : **ammoniaque**, **nitrate** ou **urée**. La forme « idéale » de l'azote est en fonction de la biologie des souches cultivées. L'azote compte pour 7 à 10 % de la composition de la biomasse.

C'est un élément indispensable au métabolisme cellulaire qui intervient notamment dans la synthèse de protéines fonctionnelles et structurales. Il est assimilé préférentiellement sous les formes ammonium (NH_4^+) et nitrate (NO_3^-)

c) Le phosphore

Doit être apporté en fort excès car il tend à former des complexes avec les ions métalliques qui ne sont pas assimilables (Chisti, 2000), il représente environ 1% du poids sec de la cellule. Il intervient pour l'essentiel dans le transfert d'énergie (ATP), la synthèse des acides nucléiques et la formation de la membrane cellulaire. La forme orthophosphate (PO_4^{3-}) est préférentiellement assimilée. Dans le milieu de culture, le phosphore est souvent considéré comme limitant. Sous forme ionique, il va en effet former des complexes avec la plupart des cations métalliques présents. D'autres composés inorganiques sont déterminants dans l'activité métabolique du phytoplancton.

d) Le potassium

Qui est le cation le plus abondant dans le cytoplasme, intervient comme cofacteur enzymatique

e) Le magnésium

Est indispensable au fonctionnement de la photosynthèse (Pelmont, 2008 ; Becker, 1994).

✓ La plupart des éléments traces inorganiques (Br, Cu, Zn, Mo) sont mobilisés dans la composition de l'appareillage enzymatique et participent à la biosynthèse de nombreux composés (Richmond, 2008).

✓ L'élément trace le plus indispensable est le fer. Il intervient dans des réactions enzymatiques fondamentales : au niveau des cytochromes des chaînes respiratoires, de l'assimilation de l'azote, de la synthèse de la chlorophylle et des acides nucléiques (Becker, 1994).

Enfin, un certain nombre de composés organiques sont identifiés comme des facteurs de croissance indispensables pour certaines espèces qui sont incapables de les synthétiser.

La cobalamine (vitamin B12) est fréquemment citée ainsi que la thiamine (Vitamine B1) et la biotine (Vitamine B7)

f) Autres macro et micronutriments

Plusieurs éléments organiques et inorganiques sont utilisés pour la nutrition des microalgues. Outre le carbone (C), l'azote (N) et le phosphore (P) qui sont les éléments les plus importants, le soufre (S), le sodium (Na), le chlore (Cl), le potassium (K), le fer (Fe), le magnésium (Mg), le calcium (Ca) et les éléments trace B, Cu, Mn, Zn, Mo, Co, Va et Se sont également incorporés dans le milieu nutritif microalgal.

Les paramètres physico-chimiques (suite)

En plus de l'approvisionnement en nutriments, de nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer la croissance des microalgues : des facteurs abiotiques tels que la lumière, la température, la salinité, le PH, la teneur en O₂ et des facteurs biotiques tels que des pathogènes (bactéries, champignons, virus), des compétiteurs pour les ressources ou des prédateurs (hydres, copépodes, zooplancton)

a) La lumière

Ce facteur constitue la source d'énergie primaire des microalgues en conditions photoautotrophes, La qualité (spectre adéquat avec la photosynthèse).

b) La température

Si les températures sont bien caractérisées en laboratoire pour les différentes souches, l'impact des variations de la température, au cours de la journée et des saisons en souches, sur leur productivité n'est pas bien connu. De nombreuses microalgues tolèrent bien des températures inférieures à 15°C de leur optimum mais ne survient pas à 2-4°C d'excès par rapport à leur température à leur optimale (Mta et al., 2010).

c) Le PH

Le pH est principalement déterminé par la concentration en CO₂. Au fur et à mesure qu'il est consommé le pH augmente. La mesure du pH sert donc d'indicateur pour modérer les flux entrants de CO₂.

d) La teneur en O₂ générée

L'O₂ générée par la photosynthèse peut atteindre une quantité 10 g/m³ /min (Chisti, 2007). L'oxygène dissout à une action inhibitrice sur la photosynthèse. La limite tolérable est d'environ 40% la saturation du milieu.

Système de cultures des microalgues

La culture à l'échelle laboratoire et semi-industrielle est déjà bien étudiée, connue et est maîtrisée, ce qui n'est pas encore le cas pour la culture à grande échelle (Singh et Sharma, 2012).

Deux moyens principaux de cultures de microalgues ont été développés (Olaizola, 2003), aussi bien à l'échelle laboratoire qu'à l'échelle industrielle.

Les systèmes ouverts, où une partie importante de la culture est exposée à l'atmosphère, communément appelés bassins.

Les systèmes fermés, où les cultures n'ont pas, ou peu, de contact direct avec l'atmosphère.

Ces systèmes sont appelés des photobioréacteurs. (Grobbelaar et Kurano, 2003). Le choix du système de production dépend du degré de contrôle nécessaire à la production du produit voulu et de sa valeur .

Au niveau industriel, les microalgues sont souvent cultivées en bassin mais la production de molécules à haute valeur ajoutée ne peut pas se faire en système ouvert .

pour obtenir une croissance optimale, il faut bien déterminer les paramètres suivants : température, intensité lumineuse, pH, salinité, concentrations des nutriments, agitation. Le Tableau représente les gammes de variation de ces paramètres pour les microalgues

	pour les microalgues		pour <i>Chlorella vulgaris</i>
Température	16 – 27 ° C	> 35 ° C température mortelle	25,0 ° C
Lumière	100 – 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Risque d'un surchauffage au- delà de 200 μmol	20,4 et 2400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
pH	7 – 9	8,2 – 8,7 optimal	6,5 début de l'expérience
Salinité	Variable	Légèrement inférieur à l'habitat naturel	Variable
Agitation	Agitation manuelle, rouleau, injection d'air	orbitale, table à	Injection d'air avec ou sans enrichissement en CO ₂
* (Barsanti et Gualtieri, 2006) ** la présente étude			

1-. **Systemes ouverts**

Les systemes ouverts sont les systemes d'exploitation qui ont ete majoritairement utilises pour la culture industrielle des microalgues dans les dernieres decennies.

Les systemes ouverts sont plus faciles et moins chers a construire et a exploiter que les reacteurs fermes. Ces systemes sont les moins energivores et ont une maintenance et un nettoyage facile (Brennan et Owende, 2010).

C'est pour ces raisons qu'ils sont toujours consideres a l'heure actuelle comme des systemes de cultures viables (Langley et al., 2012), malgre leur faible productivite. Les systemes ouverts utilisent generalement que la lumiere naturelle, il n'y a donc pas de cout associe a l'apport de lumiere pour ces systemes de culture. Cependant, les microalgues dans ces systemes de culture n'ont qu'une utilisation faible de la lumiere (Razzak et al., 2013) et sont soumises aux variations journalieres et saisonnieres de la temperature et de l'intensite lumineuse (Apt et Behrens, 1999).

Des problemes de contaminations existent (par des bacteries, champignons, protozoaires et d'autres microalgues) et de grosses pertes d'eau par evaporation (Chisti, 2007) sont observees dans ce type de systeme de culture. Les conditions de cultures sont peu controlables et il existe seulement quelques microalgues assez resistentes pour croitre sous les conditions extremes qui sont habituelles aux bassins ouverts (haut pH, haute temperature ou haute salinite) (Sierra et al., 2008).

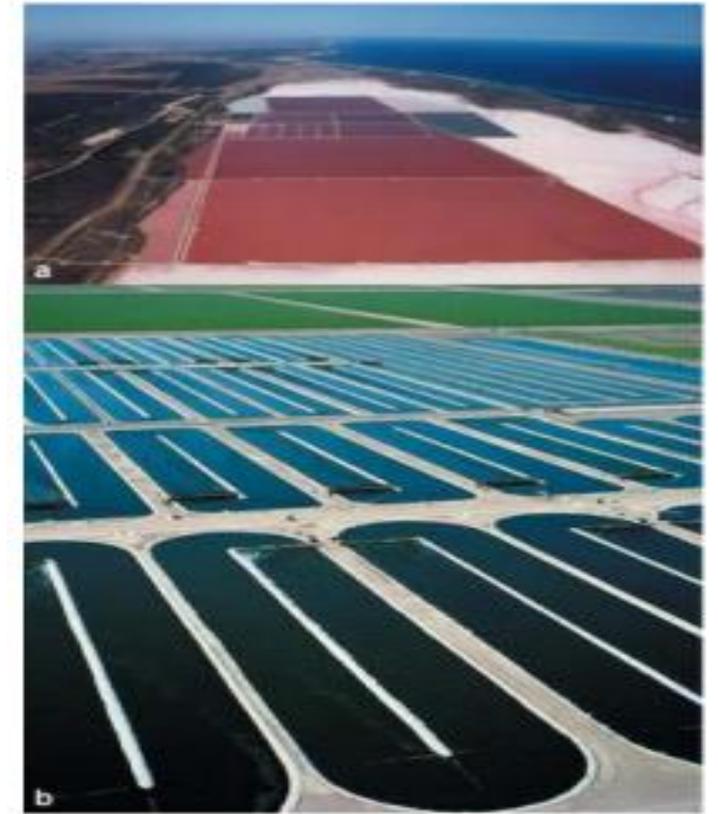


Figure I-11 : Bassins – a) Culture de *Dunaliella salina* en bassins naturels de 200 ha, Cognis nutrition (Australie) ; b) Culture de Spiruline en raceway, Californie (Andersen, 2005)

2. Systèmes fermés

Les photobioréacteurs sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents.

Leur conception est basée sur la surface éclairée, l'efficacité du mélange et le contrôle des paramètres de culture (température, teneur en dioxyde de carbone et en oxygène, pH), pour atteindre une productivité maximale.

Les systèmes fermés ont été conçus pour pallier les problèmes des bassins (Brennan et Owende, 2010).

Ils offrent un environnement de culture clos, ils protègent la culture des contaminations directes, permettent un meilleur contrôle des conditions de cultures : la température est contrôlée efficacement, l'accès à la lumière est augmenté par rapport au bassin, l'évaporation du milieu de culture est minimisé, l'approvisionnement en CO₂ est facilité et ses pertes sont limités (Contreras et al., 1998a).

Le photobioréacteur permet la disposition efficace de la lumière mais aussi l'enlèvement de l'oxygène produit par la photosynthèse (Babcock et al., 2002). Grâce à ce contrôle des paramètres, des microalgues plus fragiles peuvent y être cultivées. Les photobioréacteurs permettent la reproductibilité des conditions de culture ainsi qu'une forte concentration cellulaire et une forte productivité



**Figure I-12 : Photobioréacteur plan
(Bitog et al., 2011)**

Méthodes de suivi de la croissance

Quatre techniques indépendantes permettent de déterminer l'évolution de la concentration cellulaire d'une culture de microalgues : comptage par microscopie, comptage par granulométrie laser, mesure de la densité optique par spectrophotométrie et mesure de la matière sèche.

Toutes ces techniques sont réalisées hors ligne. Le temps nécessaire pour effectuer la mesure dépend de la méthode choisie et peut varier entre 15 minutes et 24 heures. Le volume de l'échantillon varie en fonction de la méthode choisie et peut aller de 1.10^{-4} ml à 100ml.

Comptage cellulaire par microscopie

Le comptage de cellules par unité de volume est effectué sur une lame de **Malassez** au microscope optique (grossissement x40). Pour chaque détermination, quatre comptages sont effectués sur quatre lames différentes, la moyenne et l'écart-type sont ensuite calculés.

Le calcul du nombre de cellules dépend du nombre de carreaux pris en compte, des limites choisies (limites de carreaux de la cellule) et de la dilution effectuée sur l'échantillon. Le volume utilisé pour le comptage est de l'ordre de 1.10^{-4} ml.

L'une de désavantages de cette méthode réside dans le fait que la méthode ne prend pas en compte le diamètre cellulaire.

Les méthodes de suivi de la croissance

.1 - LA MICROSCOPIE

La **microscopie optique inversée** est la technique la plus ancienne et elle permet l'observation d'échantillons sédimentés, l'identification et le comptage des cellules phytoplanctoniques (Utermöhl, 1931).

la **microscopie à épifluorescence** reposant sur l'utilisation de la fluorescence émise par les pigments a fait son apparition dans les études du phytoplancton.

Elle a permis de distinguer les cellules contenant des pigments photosynthétiques et a permis de déceler les cellules picoplanctoniques contrairement à la microscopie optique inversée qui ne pouvait pas atteindre cette gamme de taille (Caron, 1983 ; Beardsley et al., 2005).

Il y a d'ailleurs deux types de microscopes à épifluorescence. Le microscope à épifluorescence inversée (observation d'une cuve sédimentée) et le microscope à épifluorescence directe (dans ce cas, le volume d'eau est filtré et l'observation s'effectue sur le filtre).

Enfin, les premiers **microscopes électroniques à balayage (MEB)** ont vu le jour. Ces microscopes permettent, de part leur technologie, de réaliser une identification très précise du phytoplancton de par sa morphologie externe.

Comptage cellulaire par granulométrie laser

La granulométrie a pour objet la détermination de la forme et de la distribution des diamètres de petites particules. La distribution granulométrique est déduite de l'interaction entre un ensemble de particules et le faisceau laser incident par l'analyse de la tache de diffraction du faisceau.

Les analyses se font en voie liquide en utilisant le système de présentation d'échantillon LIXELL qui comporte une cellule de 0,2 mm de longueur de trajet optique.

L'échantillon est dilué et soumis à un prétraitement pour éviter la présence d'agrégats cellulaires. Un logiciel intégré au système facilite le traitement des données. Cet appareil nous permet de déterminer la taille des particules, différents facteurs de forme et plus spécifiquement la distribution des différentes tailles d'un échantillon.

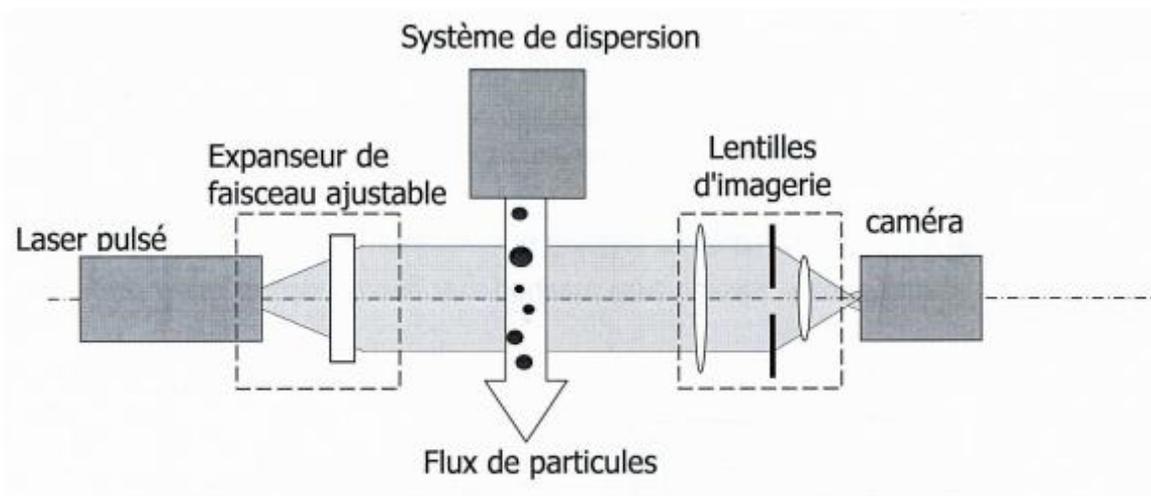


Figure 2.4 : Schéma du granulomètre laser (Source : Sympatec)

Mesures spectrophotométriques

Il s'agit d'une méthode de mesure indirecte de la biomasse. La mesure à 760 nm indique la turbidité d'une solution microalgale laquelle, ayant été corrélée au comptage cellulaire par granulométrie, permet une estimation de la concentration en biomasse.

Cette courbe d'étalonnage est établie en utilisant plusieurs échantillons pris lors de la phase exponentielle de la culture. La concentration en pigments est également accessible par cette méthode : la concentration en chlorophylle à 680 nm et celle en phycoérythrine à 545 nm (Bermejo et al., 2002).

Le rapport d'absorbances 545nm/760nm nous permet d'estimer le contenu de phycoérythrine par cellule

Mesure de la matière sèche

La mesure de la matière sèche est classiquement utilisée pour déterminer la concentration en biomasse microalgale.

Cette méthode nécessite des volumes d'échantillons importants (de 50 à 100 ml) ce qui la rend non-envisageable comme mesure de routine dans des réacteurs de petit volume. De plus, la mesure peut être faussée à cause de la présence de cellules mortes ou de polysaccharides produits par la microalgue

- La matière sèche (MS) en g/l est calculée en utilisant la formule suivante :

La procédure à suivre est la suivante :

- un prélèvement de 50 ou 100 ml (suivant la concentration) est effectué,
- l'échantillon est centrifugé à 4000 rpm pendant 25 minutes,
- un filtre Whatman GF/C 90 mm est séché à 105 °C et pesé après refroidissement dans un dessiccateur,
- le culot issu de la centrifugation est filtré,
- la matière récupérée sur le filtre est rincée à l'eau distillée,
- le filtre est introduit à sécher dans le four à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (24 h environ),
- le filtre et le culot :

$$MS = \frac{\text{poids}(\text{filtre} + \text{culot sec}) - \text{poids}(\text{filtre})}{\text{volume d'échantillon}}$$



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا للعلوم البيولوجية بهران

Ecole Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran

Ecologie des microalgues

LES ALGUES ET L'ENVIRONNEMENT NATUREL

L'importance des microalgues dans l'environnement est telle qu'elles sont à l'origine de 40 à 50% de l'oxygène de l'atmosphère, en plus d'être indispensables pour la vie marine:

les algues sont les seuls producteurs primaires des océans (71% de la surface terrestre).

Les *Bacillariophycinées* (Diatomées), microalgues du phytoplancton, seraient responsables du quart de la production photosynthétique mondiale. De façon plus générale, les microalgues jouent un rôle dans les cycles biogéochimiques des lacs et des océans. Leur rôle est crucial dans le cycle du carbone, et elles présentent un potentiel élevé pour la séquestration du CO₂. Les algues sont également la source originale de carbone fossile retrouvé dans le pétrole brut et le gaz naturel.

Toutefois, les microalgues peuvent être à l'origine de toxines, particulièrement dangereuses en épisodes de fleurs d'eau ou efflorescences (« blooms ») se produisant lors de conditions environnementales et climatiques particulières. Les principales efflorescences toxiques sont dues aux Dinophyta (dinoflagellés) et quelques espèces sont toxiques chez les Haptophyta; aussi les Raphidophyta pouvant produire des efflorescences massives sont susceptibles de mettre en péril les élevages de poissons.

ÉTUDE ET UTILISATION DES MICROALGUES

L'étude et l'utilisation des algues ne datent pas d'hier, encore que leur développement d'un point de vue biotechnologique ne remonte qu'aux années 1950. La première utilisation des microalgues par l'humain remonte à 2000 ans en Chine, où *Nostoc* aida à survivre à la famine .

Dès l'an 530, un premier « rapport » quant à l'utilisation de « nori » (*Porphyra*) aurait été fait, et cette espèce, maintenant cultivée depuis 1640, est à la base d'une industrie en Asie qui génère près d'un milliard de dollars U.S. par année (Pulz et Gross, 2004).

D'autres exemples historiques pourraient être :

l'utilisation des algues brunes durant le 18^e siècle pour l'iode et le soda, l'utilisation par Alfred Nobel de biomasse fossilisée de diatomées dans la confection de la dynamite (adsorption de la nitroglycérine) et, l'une des espèces cultivée de nos jours à grande échelle,

la cyanobactérie *Spirulina arthrospira*, était déjà connue de la population aztèque . Les premières cultures d'algues unicellulaires (avec *Chlorella vulgaris*) ont été réalisées par Beijerinck en 1890, et l'utilisation de telles cultures pour l'étude de la physiologie végétale a été développée au début des années 1900 par Warburg .

De nos jours, la biotechnologie des microalgues est en émergence, vu tout ce qu'on peut tirer de ces microorganismes : biomasse à des fins de nourriture ou de fourrage, produits extraits de la biomasse incluant des triglycérides qui peuvent être convertis en biodiésel, pigments utilisés dans plusieurs domaines (nutraceutique, cosmétique), etc. Bien qu'en plein développement, ce qui implique que les procédés de production soient économiquement modérément viables, la biotechnologie des microalgues peut s'avérer une voie intéressante pour satisfaire, du moins en partie, à la forte demande industrielle en ce qui concerne nourriture, énergie et pharmacopée. Qui plus est, certaines problématiques environnementales liées à notre utilisation actuelle des ressources naturelles exigent que nous trouvions des sources alternatives (et plus écologiques) d'approvisionnement. Les microalgues se présentent donc en candidates tout-à-fait légitimes.

L'aspect de santé/nutrition via la production de caroténoïdes par les microalgues est l'épine dorsale parmi l'actualité des projets : un intérêt croissant se présente de nos jours pour des nourritures dites « fonctionnelles », soit apportant des effets bénéfiques supplémentaires pour la santé, et souvent ces nourritures sont des aliments traditionnels enrichis d'un ingrédient, idéalement d'origine naturelle comme des plantes et des microalgues, ingrédient capable d'une action spécifique bénéfique pour la santé .

APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES DES MICROALGUES

Procédé industriel

Les microalgues sont utilisées en industrie dans les domaines énergétique, pharmaceutique, nutraceutique, cosmétique et alimentaire. Sous des conditions spécifiques, ces microorganismes sont en mesure de biosynthétiser des molécules de grand intérêt. La figure illustre le procédé industriel général (grande échelle), en passant du système de culture à la production de pâte d'algues jusqu'aux différentes utilisations que l'on peut faire de cette pâte. Outre cette pâte, il est possible de recueillir des algues sous forme d'extraits lyophilisés (poudre) ou d'huiles. Il est à retenir que les expériences menées à l'échelle du laboratoire et la production industrielle d'une biomolécule à partir des microalgues sont deux terrains bien distincts.

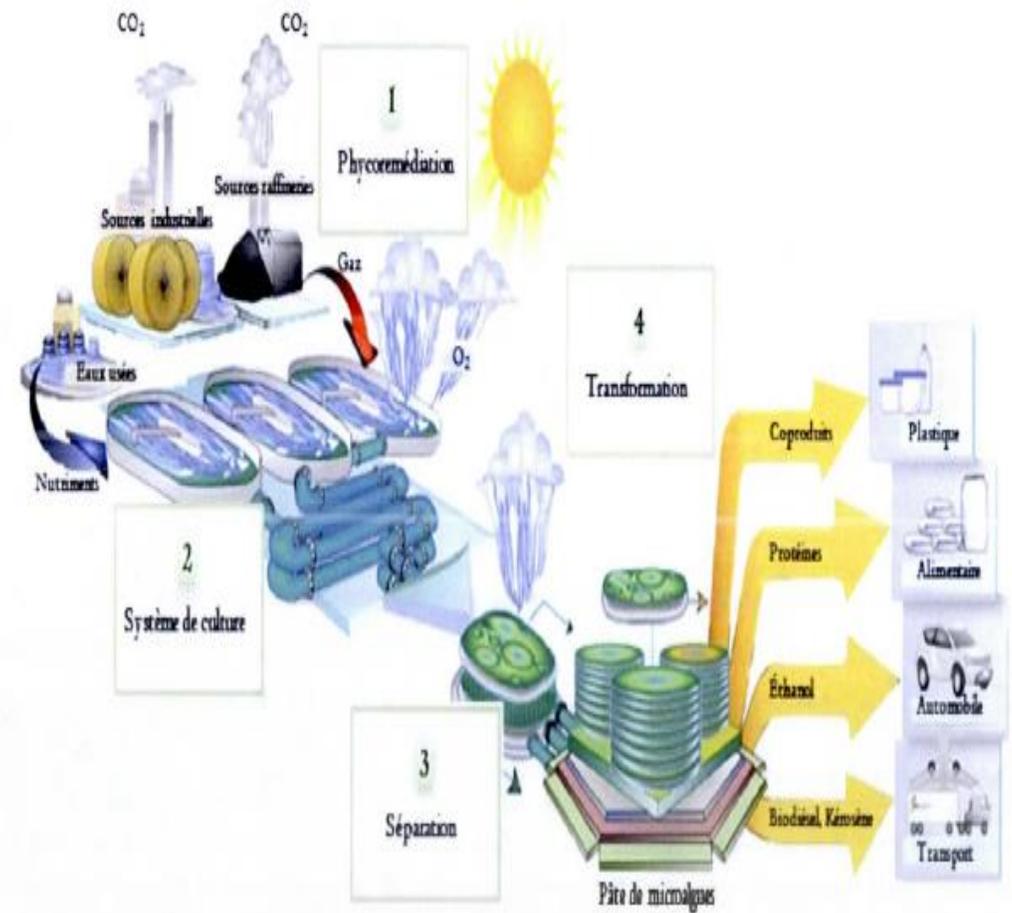


Figure 1.5 : Schéma d'intégration des applications des microalgues (d'après Bélair, 2012).

Intérêt biotechnologique des pigments (chlorophylles et caroténoïdes)

Chlorophylles

Les chlorophylles non modifiées sont trop labiles pour la plupart des applications pratiques, mais quelques dérivés sont utilisés comme colorants pour la nourriture et les cosmétiques, ainsi que pour la thérapie photodynamique de tumeurs (Scheer, 2004). Aussi, la «chlorophylle » utilisée pour certains soins de santé est un mélange complexe de produits de dégradation. La meilleure source de chlorophylle *a*, disponible commercialement, provient de la cyanobactérie *Spirulina platensis*

Caroténoïdes

Parmi les composés d'intérêt que peuvent synthétiser les microalgues, les caroténoïdes primaires et secondaires en sont d'importants. En faveur de cet énoncé, ces molécules essentielles doivent être puisées dans l'alimentation, les vertébrés n'ayant que la capacité de modifier structurellement les caroténoïdes, et non de les synthétiser

En raison de leurs propriétés physicochimiques et leur haute valeur comme ingrédient ajouté, les caroténoïdes sont largement utilisés par les industries à titre de colorant alimentaire« naturel», comme additifs alimentaires pour l'aquaculture, pour la coloration du saumon ou des oeufs dans l'industrie de la volaille, ainsi que dans les cosmétiques et comme ingrédients actifs dans la médecine/pharmaceutique .

De plus, les caroténoïdes sont d'un grand intérêt dans plusieurs disciplines scientifiques en raison de leur vaste distribution, leurs diverses fonctions, et d'intéressantes propriétés; des évidences épidémiologiques et des résultats expérimentaux suggèrent que les caroténoïdes (spécialement l'astaxanthine) dans la diète inhibent la mise en place de plusieurs maladies dans lesquelles des radicaux libres sont suspectés de jouer un rôle dans l'enclenchement, à savoir de l'artériosclérose, de diverses scléroses, des cataractes, de dégénérescences musculaires liées à l'âge et, non sans reste, de cancers . En somme, certains caroténoïdes, particulièrement l'astaxanthine, sont d'excellents agents antioxydants.

Biocarburants

L'un des principaux secteurs de recherche concernant les microalgues est celui de l'énergie et des biocarburants. Certaines espèces et certains genres de microalgues sont actuellement étudiés comme producteurs de biodiésel, bioéthanol .

Parmi ces genres, *Chlorella sp.* et *Scenedesmus sp.* présentent un bon potentiel .

Les microalgues ont l'avantage sur ce point de ne pas compétitionner avec les cultures alimentaires .

Le biodiésel est fait d'huiles végétales et de gras animal (triglycérides). Pour pouvoir remplacer les énergies fossiles conventionnelles, la production de biodiésel doit montrer les caractéristiques suivantes :

- (1) posséder une matière de base suffisante pour produire du carburant à l'échelle commerciale;
- (2) s'offrir à moindre coût que les énergies conventionnelles;
- (3) rejoindre les standards sur la qualité du carburant.

Les microalgues ont donc le potentiel d'être utilisées comme matériel de base pour la production de biodiésel, comme elles présentent un fort taux de croissance et sont en mesure de fournir les lipides nécessaires à la production de biodiésel, lipides qui pourraient s'avérer un remplacement aux énergies fossiles.

La paroi cellulaire des microalgues

La diatomée

Organisation de la cellule

Une des particularités des diatomées est la présence, tout autour du contenu cellulaire, d'une enveloppe siliceuse appelée frustule. Ce test a la forme d'une boîte composée de la «

base » et de son « couvercle » (hypovalve et épivalve) reliés par des bandes intercalaires

appelées ceintures connectives. La géométrie particulière du frustule est caractéristique de

chaque espèce de diatomée et permet leur identification. Ce test siliceux est lui-même recouvert d'une fine pellicule organique, le mucilage, qui entre en jeu lors de la mobilité de la cellule et de son adhésion éventuelle à un substrat ou à d'autres cellules. Le frustule et la fine couche organique qui le recouvre constituent la

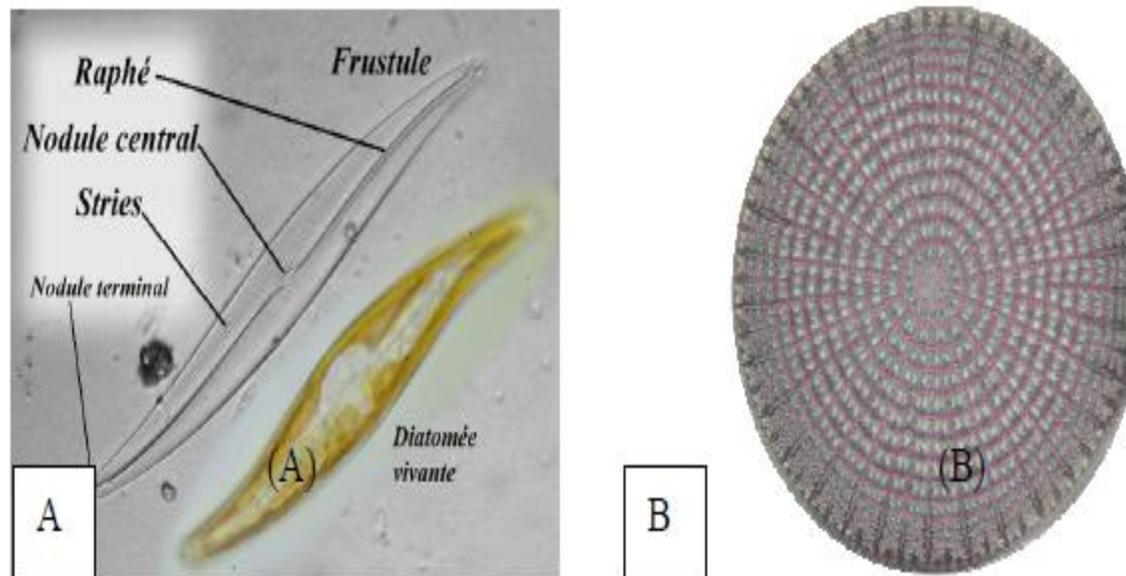
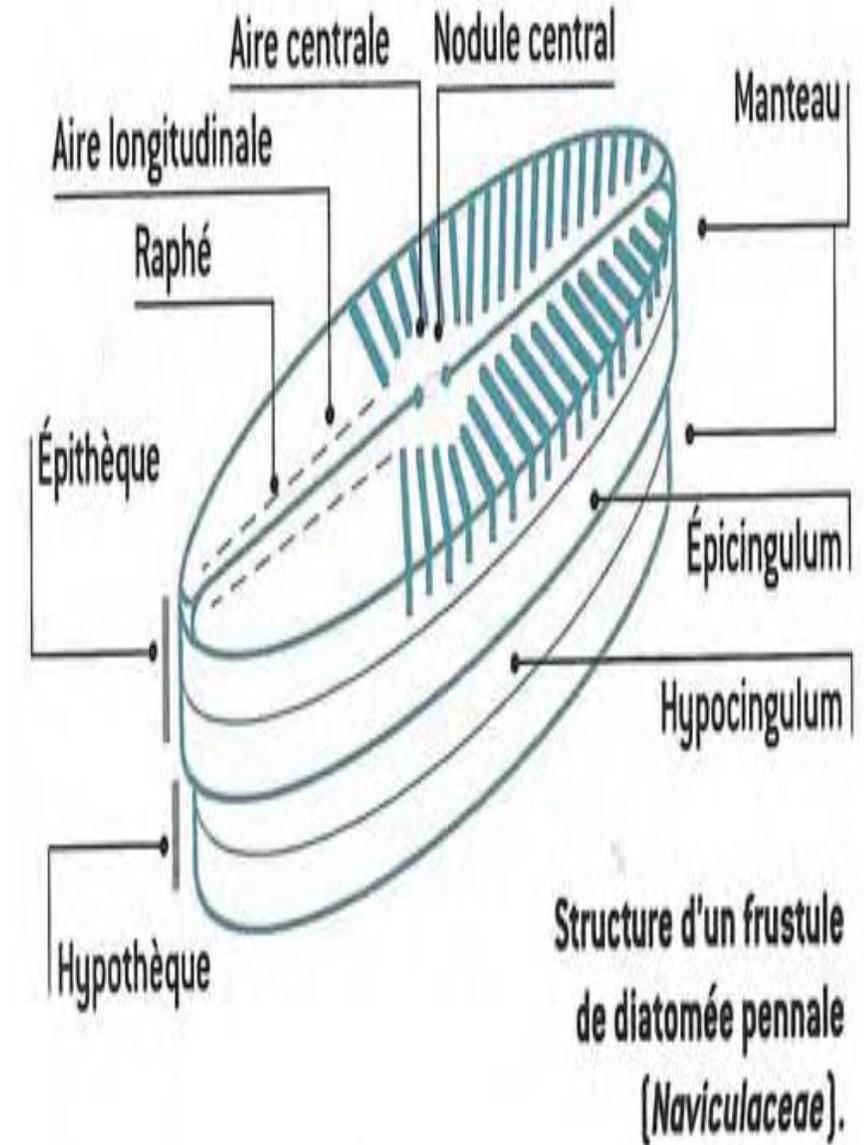


Figure 1. (A) Diatomée pennée : stries radiantes convergentes vers le nodule central
(B) Diatomée centrale : stries rayonnantes convergentes vers le centre de la cellule
(<http://www.microscopies.com/DOSSIERS/Magazine/Articles/D-VOISIN-Diatomees/Diatomee.htm>)

Comme tous les organismes eucaryotes, les diatomées possèdent un noyau contenu dans le protoplasme qui présente diverses formes. Les chromatophores entourent le noyau. En fonction des espèces, elles peuvent varier en nombre, taille, forme et position dans la cellule.

Les pigments des chloroplastes, les chromatophores, confèrent aux diatomées un aspect brunâtre, ce sont les caroténoïdes (xanthophylle, fucoxanthine...) qui masquent la couleur des chlorophylles et permettent de classer les diatomées parmi les espèces d'algues brun-jaune. Cependant, des interrogations subsistent quant à l'activité photosynthétique des diatomées puisqu'il n'est pas encore clairement établi si les diatomées font de la photosynthèse en C3 ou C4 alors que le phytoplancton est généralement considéré comme un organisme en C3.

A certaines périodes de l'année, principalement en automne, les diatomées produisent une substance grasse stockée dans la cellule sous forme de globules et contenant des polyphosphates. Bien que le rôle de ces globules ne soit pas connu avec précision, il semblerait qu'il s'agisse d'une réserve de nutriments. Mis à part leurs spécificités structurales (frustule, pigments spécifiques et peut-être quelques interrogations au niveau de la structure des chloroplastes)



UN ROLE CLEF POUR DE NOMBREUSES THEMATIQUES

Les diatomées sont un des groupes majeurs des phytoplanctons, tant en raison de leur nombre que leur diversité, puisqu'elles sont responsables à elles seules de près de 40% de l'activité photosynthétique marine totale soit 20 à 25% de la productivité primaire sur Terre .

Ces chiffres imposent les diatomées comme l'un des composants principaux des hydrosystèmes. De ce fait, elles sont impliquées dans de très nombreuses thématiques géochimiques, environnementales, écotoxicologiques, ou encore économiques

A. Pompe biologique

Etant donné la contribution majeure des diatomées à la productivité primaire, elles sont considérées comme responsables d'une grande partie de l'exportation de carbone vers l'océan profond à la mort des organismes ; c'est ce qu'on appelle la pompe biologique de CO₂ .

Plus précisément, il semblerait que ce sont essentiellement les diatomées géantes qui participent à cette exportation, en raison de leur taille et de la solide défense que leur confère leur frustule face à leurs prédateurs. Elles ont ainsi plus de chances de couler jusqu'au fond des océans et de contribuer à la disparition du CO₂. Il semblerait que ce rôle de pompe biologique ait été déterminant lors des dernières glaciations

B. Utilisation des diatomées comme indicateurs de paléo-environnement

Outre le fait que certaines espèces de diatomées soient spécifiques à des périodes géologiques précises, ce qui en fait de bons outils de datation, plusieurs études ont envisagé les diatomées comme possibles indicateurs de paléo-environnement à partir de la fin du crétacé (BURCKLE, 1998). On sait aujourd'hui que chaque espèce a ses préférences propres en matière d'environnement (pH de l'eau, température, salinité...). En supposant que ces préférences étaient les mêmes dans le passé, il doit être possible de reconstituer certains paramètres paléo-environnement (température, salinité , ...) en fonction des espèces présentes dans les assemblages fossilisés .

Le même type d'étude peut être effectué en mesurant la taille des frustules de diatomées puisque celle-ci elle dépend de la disponibilité en nutriments pour la cellule.

D'un point de vue plus général, la teneur en opale des sédiments peut servir d'indicateur de paléo-productivité du fait du rôle que jouent les diatomées dans l'extraction du CO₂.

Il suffit pour cela de mesurer l'abondance de diatomées par gramme de sédiment ou encore d'estimer la diversité des espèces

C. Indicateur de pollution

Face aux problèmes rencontrés actuellement dans l'approvisionnement en eau potable, le contrôle de la qualité des eaux et de la santé des écosystèmes est devenue une thématique très importante. A la différence des résultats fournis par des analyses physico-chimiques ponctuelles, les organismes aquatiques tels que les algues permettent une intégration dans le temps et dans l'espace des conditions du milieu dans lequel ils évoluent.

Ils ont aussi la capacité de rendre compte de la véritable toxicité des polluants notamment au point de vue de leur biodisponibilité.

Parmi les organismes aquatiques, les diatomées constituent de très bons indicateurs de la qualité des eaux grâce, notamment, à la sensibilité spécifique de chacune des espèces à la pollution mais aussi en raison de leur zone de diffusion très étendue dans les écosystèmes aquatiques.

Leur cycle vital étant très court, leur temps de réponse à de brusques changements environnementaux est très rapide par comparaison avec les organismes supérieurs. De plus, de nombreuses espèces de diatomées sont dites benthiques, c'est à dire qu'elles constituent des colonies accrochées à des supports solides dans le fond des cours d'eau, et que les assemblages qu'elles forment sont en réalité composés de dizaines d'espèces différentes, chacune avec ses propres tolérances aux conditions du milieu environnant.

De ce fait, parallèlement aux mesures physico-chimiques, plusieurs indices biologiques ont été développés pour la surveillance des cours d'eau.

Par exemple, l'Indice Biologique Diatomées (IBD) reprend les propriétés d'indicateur de pollution de ces organismes et les applique au suivi de la qualité de cours d'eaux français comme la Seine.

Ces techniques sont aussi utilisées pour la surveillance de nombre de rivières polluées comme à Taiwan,

D. Agent de biorémediation

Il est bien connu qu'un grand nombre de plantes, de microorganismes et d'animaux ont la capacité d'accumuler divers éléments chimiques tels que les métaux lourds. Ainsi, le phytoplancton contient en moyenne 300 ppm de Zn, 900 ppm de Fe, 60 ppm de Cu et 3 ppm de Cd des concentrations bien supérieures à celles présentes dans les eaux naturelles.

Plusieurs études ont signalé, vers la fin des années quatre-vingt, l'utilisation de ces propriétés de la biomasse comme outil de préconcentration préalablement à l'analyse des éléments traces trop dilués pour la résolution des appareils d'analyse de l'époque. Cette utilisation deviendra de plus en plus marginale compte tenu de la mise en oeuvre de nos jours d'appareils d'analyse de plus en plus sensibles.

L'application des propriétés accumulatrices des diatomées à des fins de dépollution est appelée biorémediation ou phytorémediation lorsqu'il s'agit de végétaux. Généralement, une distinction est faite entre l'adsorption des métaux à la surface des cellules par complexation passive - il s'agit du phénomène de biosorption - et le stockage des métaux à l'intérieur des cellules par l'intermédiaire de mécanismes métaboliques ou non, on parlera alors de bioaccumulation.

Les diatomées sont actuellement comme d'autres types d'algues, de sérieuses candidates pour la phytoremédiation . En règle générale, les critères de sélection des espèces sont d'une part une vitesse de croissance suffisamment rapide et, d'autre part, une forte capacité d'accumulation des métaux souvent corrélée avec la tolérance de l'organisme aux conditions élevées de pollution. Par exemple, *Phaeodactylum tricornutum* est une diatomée très tolérante au cadmium ce qui en fait un bon candidat à la biorémédiation, surtout pour de faibles teneurs en métaux si elle est utilisée vivante .

E. Disponibilité des métaux dans les environnements

Du fait de leurs capacités accumulatrices, les microorganismes jouent un rôle important pour la mobilité (complexation, transport) des métaux dans les environnements naturels. En comparant différentes fractions de sol (bactéries, champignons et minéraux),

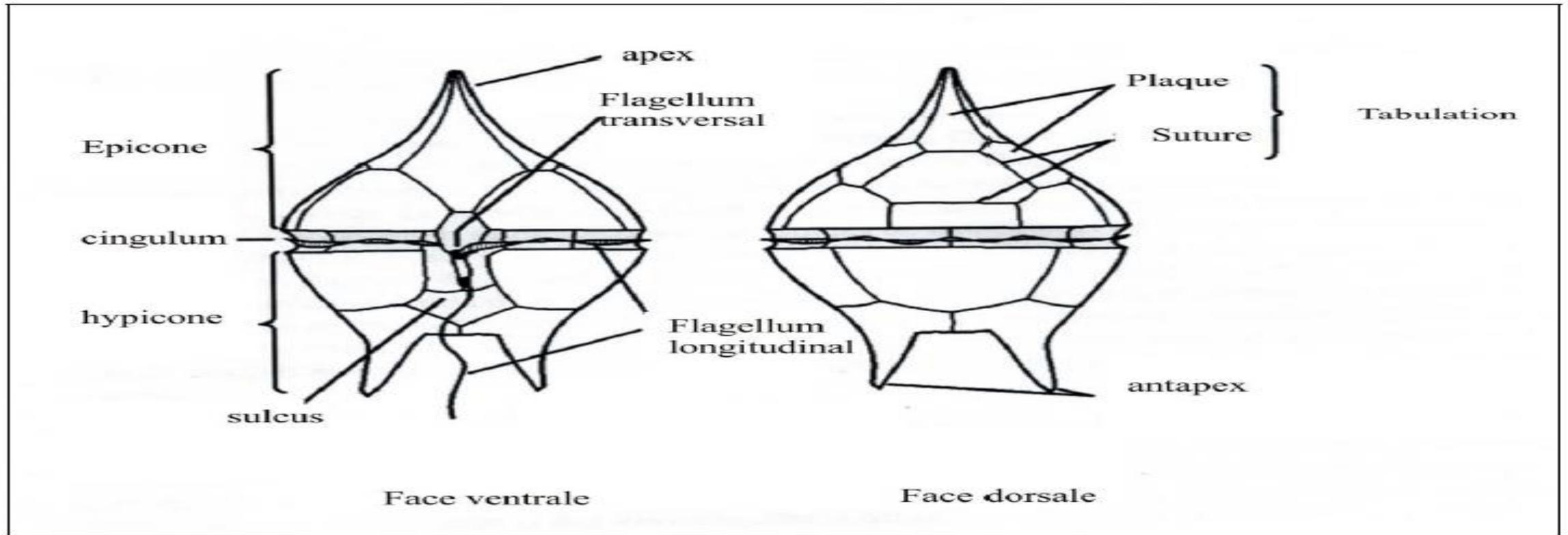
LEDIN et al., 1999, ont montré qu'à eux seuls les microorganismes accumulaient plus de 38% des métaux présents (Zn et Hg) alors qu'ils ne représentent qu'une fraction de 0.4 à 1.7 % de la masse totale de sol tandis que le quartz et les feldspaths (80 % de la masse totale) en retenaient moins de 10%.

YEE and FEIN (2002) ont mis en évidence le rôle important des bactéries pour le transport du cadmium dans des colonnes contenant du quartz. Selon les propriétés du milieu (pH, traitement subi par le quartz, quartz modifié ou non), la présence de bactéries peut accélérer ou ralentir le transport de Cd^{2+} . Ce phénomène est dû principalement à des effets (1) de taille : le cadmium, petit, est piégé par les pores du quartz lors de son trajet ce qui le retarde ; ces pores ne sont pas visibles à l'échelle de la bactérie, elles ne sont donc pas retardées par piégeage dans ces pores et leur trajet est plus rapide ; et (2) de charge surfacique qui permet aux bactéries de charge globalement négative de complexer Cd^{2+} , elles jouent ainsi le rôle de transporteur de cadmium dans la colonne de quartz. Des simulations à l'aide de logiciels de modélisation ont été effectuées par Yee et Fein pour montrer l'impact de ce transport dans les milieux naturels, notamment en ce qui concerne la diffusion des polluants. Les diatomées, comme beaucoup d'autres organismes unicellulaires qui ont colonisé un grand nombre de biotopes et possèdent une grande complexation, jouent un rôle fondamental lors du transport des métaux.

2- Dinophycées

Les dinophycées, ou dinoflagellés, regroupent près de 1 300 espèces. Les cellules (10 - 200 μm) peuvent être solitaires ou regroupées en colonies. La paroi cellulaire, appelée thèque, peut être fine et peu ornementée chez les dinoflagellés dits « nus », ou au contraire, épaisse, renforcée par des plaques internes de cellulose, chez les dinoflagellés dits « cuirassés » ou « armés ». Ces plaques sont variables par leurs nombres, leurs contours, leurs dimensions et leurs ornements (pores, épines, cornes, crêtes, ailettes, collerettes,...)

Les dinoflagellés ont deux flagelles à disposition orthogonale, un flagelle transversal, aplati, situé dans un sillon équatorial (cingulum), et un flagelle longitudinal, logé dans un sillon vertical (sulcus)



Les dinoflagellés possèdent un noyau particulier, appelé « dinocaryon », à l'intérieur duquel l'ADN n'est pas associé à des histones, comme c'est le cas chez les autres eucaryotes, mais complexé à une protéine particulière, ayant pour conséquence la condensation permanente des chromosomes, même pendant l'interphase. Ces microalgues sont très diversifiées, en particulier par leurs comportements alimentaires. Certaines sont photosynthétiques strictes, d'autres sont mixotrophes, d'autres encore sont hétérotrophes strictes.

1.3- Flagellés

Les microalgues porteuses de flagelles forment le groupe de flagellés qui renferme plusieurs classes : le prymnésiofycées, les chlorofycées, les prasinofycées, les cryptofycées, les raphidofycées, les euglénofycées, les chrysophycées et les dictyochofycées. Les flagellés se reproduisent, le plus souvent, par bipartition longitudinale et sont capables d'enkystement. La reproduction sexuée, quand elle existe, s'effectue grâce à des gamètes flagellés peu dissimilaires entre eux (isogamie).

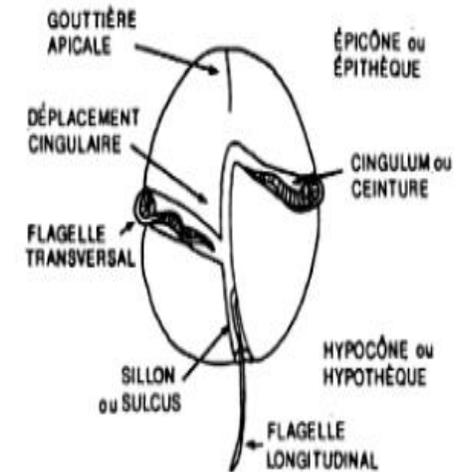


Figure 4. Morphologie d'un dinoflagellé (Bérard-Therriault *et al.*, 1999)

F- Le rôle biostratigraphique des dinoflagellés

Les dinoflagellés peuvent constituer de bons outils de datation et leur emploi est de plus en plus courant mais, les études étant récentes, des biozonations de valeur générale ne sont pas encore parfaites.

G- Intérêt des dinoflagellés

Les dinoflagellés sont constitués d'une membrane organique (sporo-pollénine) extrêmement résistante et fossilisable d'où leur intérêt particulier en micropaléontologie. Ils ne sont pas affectés par la dissolution comme les microfossiles à test minéral. Depuis l'essor de la paléocéanographie moderne, une attention particulière a été accordée aux kystes de dinoflagellés comme traceurs paléocéanographiques dans tous les domaines océaniques, depuis les zones tropicales, jusqu'aux zones polaires. Leur utilisation permet de s'affranchir des problèmes de dégradation de la matière organique durant les processus de sédimentation et de la dissolution du CaCO_3 et de la silice biogénique dans la colonne d'eau.

La distribution des dinokystes dans les sédiments de surface a permis de démontrer que ces microfossiles constituent d'excellents traceurs des paramètres hydrographiques de surface, en particulier la température, la salinité et la durée saisonnière du couvert de glace des mers, et ce dans les moyennes et hautes latitudes. Certaines études ont montré que les dinokystes peuvent également donner une estimation de l'intensité des upwelling côtiers (POWELL *et al.*, 1990 ; LEWIS *et al.*, 1990 ; DALE,1996 ; ZONNEVELD, 1997 ; ZONNEVELD *et al.*, 2001) et être de bons traceurs de productivité primaire.

II- LES DINOFLAGELLES FOSSILES

Les dinoflagellés fossiles sont presque exclusivement marins. Les dinoflagellés d'eau douce sont connus à partir du Miocène et sont identiques aux formes lacustres actuelles.

4- Structure de la paroi

Elle est hyaline, fibreuse ou granuleuse. La majorité des kystes a une paroi à 2 couches (souvent accolées) mais il en existe à un, trois ou quatre couches. La terminologie employée (DAVEY *et al.*, 1966) est la suivante :

- blaste pour le corps entier ;
- phragme pour la paroi ;
- coele pour la cavité.

