

Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence2019. / 2020



MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

Présenté et soutenu par :

OUAMANE Khalida

Le : lundi 19 octobre 2020

Contribution à la production de microalgues isolées à partir de la région de Biskra

Mme. MEGDOUD Amel	MAA	Université de Biskra	Président
M. MOUSI Abdelhamid	Pr	Université de Biskra	Rapporteur
M. KIRAM Abderrazak	MAA	Université d'El Ouade	Co Rapporteur
M. DERRADJI Yacine	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciement

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et pour m'avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail car sans lui rien n'est possible

Au terme de ce travail, je exprimer mon profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué mon promoteur Pr. MOUSI Abdelhamid, et Co-promoteur Dr. KIRAM Abderrazak qu'ont accepté de me encadrer et dirigé ce travail avec la plus rigueur scientifique, ces encouragement. Sa compréhension, son aide et sa très gentillesse durant tout le long de ma mémoire et ses nombreux conseils et sa patience et sa correction sérieuse de ce travail.

Dédicace

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail à

A la mémoire de mon cher père que la clémence de

Dieu soit sur lui et l'accueille dans son vaste paradis, sa disparition m'a laissé un immense vide, que rien ne pourrait le remplacer. Mon cher père même si tu n'es pas là, ton existence est éternelle dans mon cœur.

Ma très chère mère, qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, qui a toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. Je lui exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect.

Je dédie ce travail aussi :

A mon très cher frère : Salah

A mes très chères sœurs : Khedidja, Majeda et Ibtissem.

A mon fiancé Abd el hak

A mes très chères nièces et neveux

A mes très chers oncles et tantes.

A tout le reste de la famille.

A très chères amies qui profondément dans mon cœur Thaziri, Soumia, Hannane, Malouka et tous mes amies

Enfin à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

OUAMANE Khaidia



Sommaire

Remerciment

Dédicace

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	II
Introduction	1
Partie théorique	2
Chapitre 1 Généralités sur les microalgues	3
1.1. Définition	4
1.2. Composition et mode de nutrition	5
1.2.1. Mode autotrophe	5
1.2.2. Mode hétérotrophe	5
1.2.3. Mode mixotrophe	5
1.3. Classification des microalgues et leurs caractéristiques	5
1.3.1. Diatomées ou bacillariophycées	5
1.3.2. Algues vertes ou chlorophycées	5
1.3.3. Algues rouge ou rhodophycées	6
1.3.4. Algues cyanobactéries	6
1.3.5. Algues brunes ou chromophycées	6
1.4. Structure de microalgue	6
1.5. Reproduction de microalgue	7
Chapitre 2 Les facteurs limitants la croissance des microalgues	8
2.1. Croissance des microalgues	9
2.1.1. Phase de démarrage	9
2.1.2. Phase de croissance exponentielle	9
2.1.3. Phase stationnaire	9
2.1.4. Phase de décroissance	9

2.2.	Facteurs de croissance des microalgues	11
2.2.1.	Température	11
2.2.2.	pH	11
2.2.3.	Lumière	11
2.2.4.	Conductivité	11
2.2.5.	Microélément	12
2.2.6.	Macroélément	12
2.2.6.1.	Carbone	12
2.2.6.2.	Azote	12
2.2.6.3.	phosphore	12
Chapitre 3	Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts	13
3.1.	Synthèse des lipides chez les microalgues.....	14
3.1.1.	Lipides chez les microalgues	14
3.1.2.	Photosynthèse	14
3.1.2.1	Phase claire	14
3.1.2.1	Phase sombre	15
3.2.	Application des microalgues.....	17
3.2.1.	Alimentation et nutrition	17
3.2.2.	Cosmétique et santé.....	17
3.2.3.	Energie.....	17
Partie expérimentale.....		18
Chapitre 1	Zone d'étude.....	19
1.1.	Zone d'étude	20
1.1.1.	Présentation de la zone d'étude et localisation des points de prélèvement	20
1.1.1.1.	Fontaine des gazelles (barrage el kantara)	20
1.1.1.2.	Foum El Kherza.....	21
Chapitre 2	Matériel et Méthode.....	22
2.1.	Matériel.....	23
2.2.	Méthode	24
2.2.1.	Echantillonnage.....	24
2.2.2.	Analyse physico-chimique des eaux de prélèvements	25

2.2.2.1. Détermination des paramètres physiques.....	25
2.2.2.2. Détermination des paramètres chimiques	25
2.2.3. Isolement et identification des microalgues	27
2.2.3.1. Milieux de culture.....	27
a. Milieu BG11 (Bleu-Green Medium.....	27
b. Milieu BBM	27
2.2.3.2. Ensemencement et incubations.....	29
2.2.4. Identification et purification des microalgues	31
2.2.4.1. Observation microscopique.....	31
2.2.4.2. Purification	31
Chapitre 3 Résultats et Discussions	32
3.1. Résultats des analyses physico-chimiques des eaux de lac	33
3.1.1. Détermination des paramètres physique de lac.....	33
3.1.1.1. Température.....	34
3.1.1.2. PH	35
3.1.1.3. Conductivité électrique	36
3.1.2. Détermination des paramètres chimiques de lac.....	37
3.1.2.1. Dosage de l'azote ammoniacal (NH ₄ ⁺).....	38
3.1.2.2. Dosage des nitrites (NO ₂ ⁻).....	38
3.1.2.3. Dosage des Nitrates (NO ₃ ⁻)	38
3.1.2.4. Dosage phosphate (PO ₄ ³⁻)	38
3.2. Résultats des identifications phénotypiques des microalgues	39
3.2.1. Caractère principaux des microalgues observées	39
3.2.2. Caractère principaux des genres des microalgues observées.....	41
3.3. Discussions des identifications phénotypiques des microalgues	43
Conclusion	45
Perspective et recommandation	47
Référence bibliographie	48
Annexe	53
Résumé.....	61

Liste des tableaux

Tableau 1: Matériel utilisée-----	23
Tableau 2 : Variations des valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques (périodes Novembre 2019) -----	33
Tableau 3: Variations des valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques (périodes Novembre 2019) -----	37
Tableau 4: Caractère pricipaux des micro-algues dans le barrage Fontaine de Ghazelle-----	39
Tableau 5 : Caractère pricipaux des micro-algues observée dans le barrage Foum El Kherza -	40
Tableau 6 : Différent type nutritionnel des microalgues (BECERRA C, 2009). -----	54

Liste des figures

Figure 1: Coloration des surfaces des étangs due à la prolifération des microalgues (Photo original) -----	4
Figure 2 : Utrastructure des microalgues ; cellules des microalgues : a) vert ; b) rouge c) cyanobactéries (ASFOURI, 2019) -----	7
Figure 3: Courbe de croissance théorique d'une population de microalgues en fonction du temps. D'après.(Richmond, 2007)-----	10
Figure 4: Schéma du Cycle de Calvin -----	16
Figure 5 : Localisation des points de prélèvements de fontaine des gazelles (Google Maps) ----	20
Figure 6 : Localisation des points de prélèvement de Fom El Kherza (Google Maps) -----	21
Figure 7: L'échantillonnage des microalgues (Photo original)-----	24
Figure 8: Test rapide pour déterminer les paramètres physiques (Photo original) -----	25
Figure 9: Test rapide pour déterminer les paramètres chimiques de marque JBL (Photo original) -----	26
Figure 10: Préparation de milieu de culture ; solide (Photo original) -----	28
Figure 11: Ensemencement et l'incubation de microalgues (Photo original) -----	30
Figure 12: variation de la température au niveau les deux stations de prélèvement (Original) ---	34
Figure 13 : Variation de pH au niveau les deux stations de prélèvement (Original) -----	35
Figure 14: variation de conductivité électrique au niveau les deux stations de prélèvement (Original) -----	36
Figure 15 : Observation microscopique(grossissement X40) des souche rencontré au niveau de région de Biskra (Photo original) -----	41
Figure 16: Observation microscopique(grossissement X40) des souche rencontré au niveau de région de Biskra (Photo original) la suite -----	42
Figure 17 : Fiche de préparation de BB -----	55
Figure 18 : Fiche de préparation 1/2 BG11 -----	56
Figure 19 : Schéma du transport acyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine -----	58
Figure 20: Schéma du transport cyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine -----	58

Liste des abréviations

$\frac{1}{2}$: milieu

3 N BBM+ V : Bold Basal Medium with 3- fold Nitrogen and Vitamins ; modified

AGOI : Acide Gras Polyinsaturé

BG11 : Bleu-Green Medium

CE : Conductivité électrique

CID : Carbone Inorganique Dissous

F : Fer

HCO₃⁻ : Hydrogénocarbonate

Mg : Magnésium

N : Azote

NH₄⁺ : Azote ammoniacal

NO₂⁻ : Dioxyde d'azote (nitrite)

NO₃⁻ : Nitrate

P : Phosphore

PBR : Photobioréacteurs

pH: Potentiel d'hydrogène

PL : Phospholipide

PO₄³⁻ : Phosphate

S : Soufre

Introduction

Introduction

Chez les végétaux certains espèces de microalgues peuvent accumuler dans certain condition de culture, le carbone fixé sous forme d'un lipide appelé triglycéride.

Les microalgues sont des microorganismes aquatiques unicellulaire photosynthétiques parfois rassemblés en colonies ou multicellulaires (filamenteux), vivant dans les mers, les océans, les eaux douces, les eaux saumâtre.

Ces microalgues sont très importantes dans divers domaine ; les alimentations et nutritions, les cosmétiques, les pharmaceutiques, les énergies. Chaque espèce des microalgues a des propriétés qui lui sont propres et toutes les microalgues produites n'ont pas une application unique. Il est possible de regrouper les espèces en fonction de leurs principales utilisations (FILALI, 2012).

De nombreuses recherches sont orientées vers la production de biocarburants à partir des microalgues, mais celles-ci comptent encore de nombreux défis à relever. L'un des premiers challenges consiste à identifier les microalgues les plus riches en lipides parmi les millions d'espèces existantes. En effet, actuellement beaucoup de travaux ont été réalisé dans le domaine de la sélection de souches de microalgues les plus efficaces pour la production de lipides (triglycérides). Les triglycérides sont le composant principal de l'huile végétal.

L'objectif principal de notre étude est l'isolement et identification des microalgues isolées à partir de la région de Biskra

Notre travail de fin d'étude basé sur les microalgues vertes riche en lipide, qui ont l'isoler à partir de lacs, de vallées, de barrages et de bassins artificiels d'irrigation

Cette étude comprend une synthèse bibliographique sur les microalgues vertes, leurs propriétés biologiques, leurs reproductions, et leurs importances

La partie méthodologie sera consacrée à la description de la zone d'étude et l'isolement et identification de microalgue

La troisième partie de ce travail et consacrée aux résultats et discussions

Ce travail sera finalisé par une conclusion qui répond au problème qui se pose

Quelle sont les espèces microalgues vertes peut les trouvés dans la région de Biskra ?

Partie théorique

Chapitre 1 Généralités sur les microalgues

1.1. Définition

Le terme « microalgues » regroupe donc, au sens strict sont de algues microscopiques ou plus spécifiquement phytoplancton ont généralement une taille de l'ordre du micron. Elles sont donc invisibles à l'œil nu (Diouf, 2009). Quelque fois et grâce à des conditions environnementale favorable, elles forment des « efflorescences » massives et mono-spécifique (appelé fleur d'eau ou *bloom* en anglais) qui peuvent entrainer une coloration des eaux (figure 1)

Ce sont définies comme des organismes unicellulaires ou pluricellulaires soit des eucaryotes ou des procaryotes (Sialve & Steyer, 2013). Les microalgues caractérisées principalement par l'absence de racine et de feuille mais possédant la chlorophylle ainsi que d'autres pigments pour réaliser la photosynthèse (BECERRA CELIS, 2009).



Figure 1: Coloration des surfaces des étangs due à la prolifération des microalgues (Photo original)

1.2. Composition et mode de nutrition

Les microalgues possèdent plusieurs mode de nutrition, ils sont généralement des organismes photoautotrophes

1.2.1. Mode autotrophe

Ce mode plus commun est basé sur des organismes qui captent l'énergie solaire et du CO₂ pour les convertir en biomasse par photosynthèse. Il est le plus souvent appliqué en mode ouvert dans des bassins extérieurs. Des développements sont aussi entrepris pour réaliser des applications en mode fermé avec des photobioréacteurs (PBR) plus efficaces (François, 2009)

1.2.2. Mode hétérotrophe

Le mode hétérotrophe est basé sur des organismes qui peuvent fonctionner sans lumière en utilisant, pour se développer, l'énergie chimique et le carbone issus d'autres matières organiques. Plusieurs espèces produisent des lipides et d'autres composés recherchés (Xu, Miao, & Wu, 2006)

1.2.3. Mode mixotrophe

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. (Lee, 2004)

1.3. Classification des microalgues et leurs caractéristiques

Les microalgues sont très rarement regroupées en fonction de leur métabolisme énergétique ou encore en fonction de leur habileté à synthétiser les métabolites nécessaires, mais plutôt en fonction de leurs propriétés morphologiques (Fogg, 1953) Il existe donc différentes classes taxonomiques de microalgues dont les principales

1.3.1. Diatomées ou bacillariophycées

C'est le groupe le plus important d'eucaryotes photosynthétique car ils sont les principaux fixateurs de CO₂ en milieu aquatique. Il existe 265 genres de diatomées et près de 10 000 espèces qui sont réparties à 50% en eau douce et 50% en eau mer. Les diatomées représentent 80% de la biomasse (plancton marin).

1.3.2. Algues vertes ou chlorophycées

Très répandues, elles sont riches en un pigment vert qui donne leur couleur : la chlorophylle

1.3.3. Algues rouge ou rhodophycées

Ces algues contiennent un pigment rouge : la phycoérythrine. Elles sont trouvées à la fois en eaux douces et marines (Lechevalier, 1977)

1.3.4. Algues cyanobactéries

Cette famille très ancienne de microalgues compte environ 2 000 espèces dans divers habitats. De structure semblable à celle des bactéries, ces organismes ne sont liés à aucun autre groupe d'algues et parfois appelées algues bleu-vert (Guillou, 2006)

1.3.5. Algues brunes ou chromophycées

Ces algues contiennent un pigment brun. Elles sont trouvées à la fois en eaux salée et saumâtre (Lechevalier, 1977)

1.4. Structure de microalgue

La microalgue est composée d'une paroi cellulaire synthétisée via l'appareil de Golgi, d'un cytoplasme constitué de minéraux, d'eau et de protéines solubles, de mitochondries, sièges de la respiration, ainsi qu'un chloroplaste contenant pigments et autres organites nécessaires au mécanisme de photosynthèse

La membrane plasmique est une structure composé de polysaccharide et de protéine plus ou moins complexes et en proportions et variables selon les espèces

Figure(2) représente les principales structures des algues eucaryotique

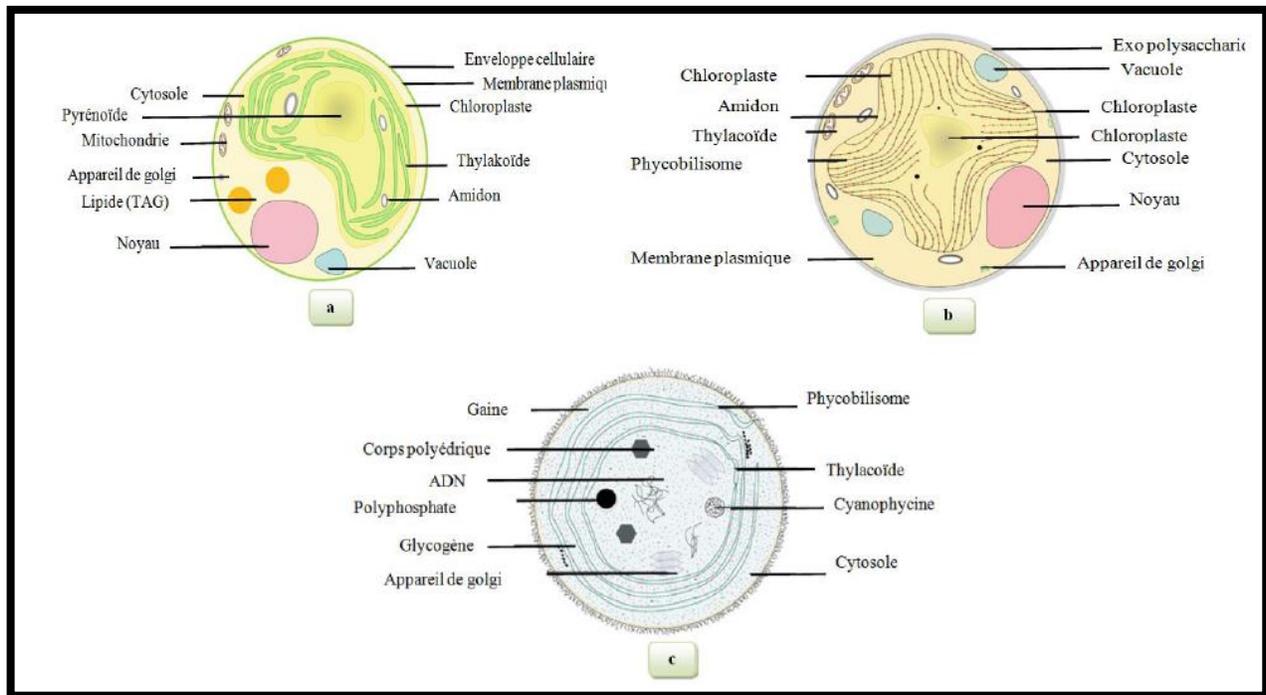


Figure 2 : Utrastructure des microalgues ; cellules des microalgues : a) vert ; b) rouge c) cyanobactéries (ASFOURI, 2019)

1.5. Reproduction de microalgue

La reproduction végétative asexuée est caractéristique des unicellulaires, avec divisions mitotique survenant après une période de croissance cellulaire. La reproduction sexuée se caractérise par la formation des gamètes, suivie de celle des zygotes. Chez les organismes avec une phase végétative haploïde. La méiose suit immédiatement la formation de zygotes. Chez les organismes diploïdes, la méiose ne survient qu'après la formation des gamètes (Niclin, Graeme, Paget, & Killington, 1999)

Les microalgues peuvent être unicellulaires, filamenteuses, lamellaires ou tubulaires. Toutes passent par une phase végétative haploïde et possède des gamètes mobiles ou non mobile. Les gamètes sont formés à partir de la différenciation d'une cellule végétative. La méiose suit la formation de zygotes, donnant naissance à des progénitures cellulaires.

Chapitre 2 Les facteurs limitants la croissance des microalgues

2.1. Croissance des microalgues

Les microalgues sont capables de se multiplier de manière rapide dans des conditions favorables de culture. Ces conditions de croissance vont faire varier la composition des cellules ainsi que les quantités et les caractéristiques des différentes substances qu'elles produisent.

La croissance en culture des microalgues suit un développement en 4 phases :

2.1.1. Phase de démarrage

C'est une phase de latence, La cellule a besoin d'un temps d'acclimatation aux nouvelles conditions de culture qui lui sont appliquées; la croissance est très faible (Lar12)

2.1.2. Phase de croissance exponentielle

Les cellules ont accumulé suffisamment de composés intracellulaires et ont doublé leur matériel génétique. La population va commencer à croître grâce à la reproduction végétative. Les cellules se divisent donc en deux cellules filles identiques contenant chacune la moitié du contenu de la cellule mère et qui par la suite se diviseront elles-mêmes en deux. Elles présentent au cours de celle-ci leur meilleur profil nutritionnel (Andersen, 2005)

2.1.3. Phase stationnaire

La vitesse de croissance de la culture reste constante et maximale. Les conditions du milieu sont optimales pour la croissance cellulaire. La quantité moyenne des constituants cellulaires ainsi que l'évolution de la population sont constantes (Andersen, 2005)

2.1.4. Phase de décroissance

C'est une phase de décroissance rapide. La majorité des cellules ont épuisés leurs réserves intracellulaires, elles ne peuvent donc plus produire l'énergie nécessaire pour les processus de maintenance cellulaire et elles meurent (Richmond A. , 2004). La quantité de cellules qui meurent est fortement supérieure à la quantité de cellules pouvant encore se reproduire.

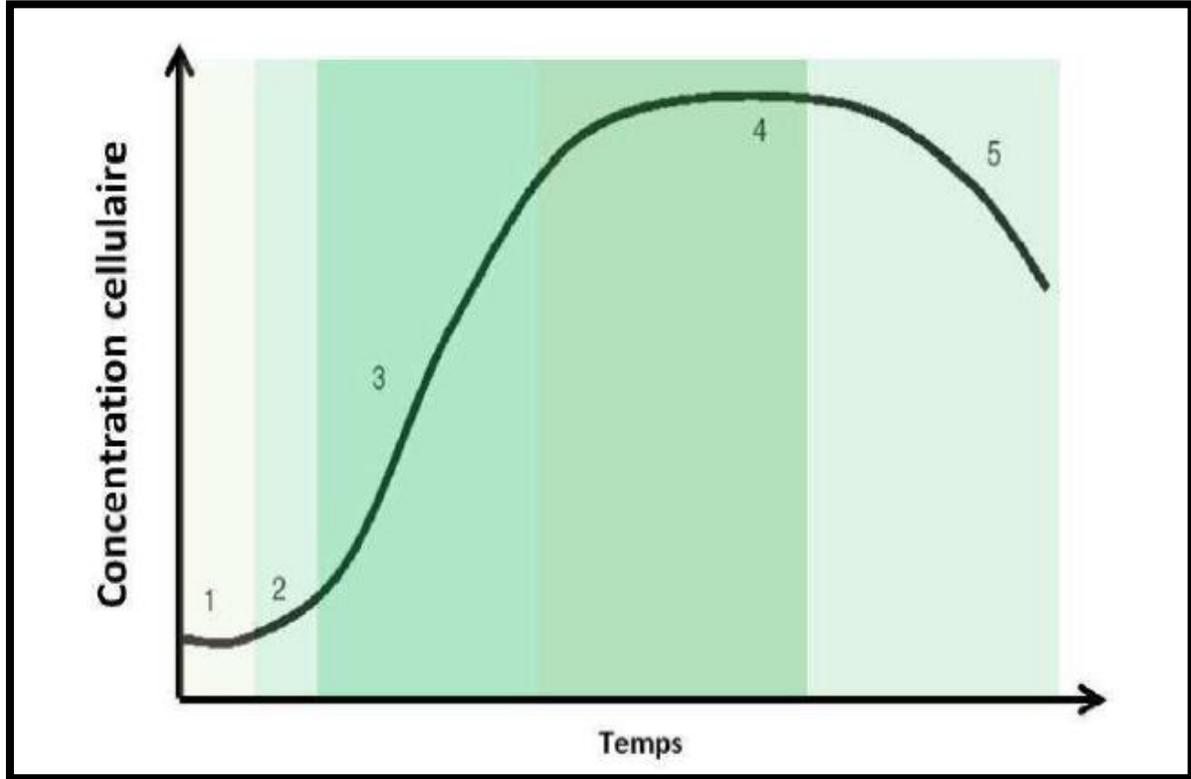


Figure 3: Courbe de croissance théorique d'une population de microalgues en fonction du temps.
D'après. (Richmond, 2007)

2.2. Facteurs de croissance des microalgues

Plusieurs paramètres et exigences peuvent réguler la croissance des microalgues ; ils peuvent être divisés en exigences physique et chimique

2.2.1. Température

La température est un des facteurs importants affectant la croissance des microalgues. Chaque espèce de microalgues possède une température caractéristique optimale pour son développement et pour sa croissance (Villay, 2013). A proposé qu'un intervalle entre 21°C et 26°C soit convenable pour la plupart des espèces algales.

2.2.2. pH

La plupart des microalgues sont alcalophiles et se développent dans des milieux de culture de pH compris entre 7 et 10.5 et peut atteindre 11 ou plus. Ces pH fortement basique, on assiste à un phénomène d'auto-floculation (formation d'agrégation par les cellules)

Le pH n'a pas d'influence notable sur la composition et production des métabolites tels que les lipides (vidyashankar et al., 2013). A l'opposé il existe des microalgues qui se développent à pH acide.

2.2.3. Lumière

La lumière est un des facteurs indispensables au métabolisme photosynthétique des microalgues. L'apport de l'énergie lumineuse peut se produire de manière naturelle grâce à l'énergie solaire ou bien artificielle grâce à des tubes fluorescents émettant de la lumière à de longueur d'onde bien spécifique

2.2.4. Conductivité

La conductivité électrique représente l'aptitude de l'eau à conduire le courant électrique et dépend de sa concentration en ions présents en solution. La plupart des eaux naturelles sont caractérisées par une conductivité comprise entre 10 et 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Chapman, 1996), des changements notables des valeurs de la conductivité peuvent traduire des apports importants de sels minéraux issus du bassin versant ou un apport ponctuel important (rejet industriel).

2.2.5. Microélément

Les micronutriments sont des nutriments nécessaires pour la croissance algale mais en une petite quantité. Nous citons, le manganèse, le molybdène, le cuivre, le fer, le zinc, le chlore et le nickel ainsi que quelques éléments sont essentiels pour certaines espèces de microalgues comme le sodium, le cobalt, l'iode et le sélénium (*Fogg, 1975*)

2.2.6. Macroélément

Les macronutriments comme le phosphore (P), l'azote (N), le carbone (C), le soufre (S), le potassium (K), le calcium (Ca) et le magnésium (Mg), sont assimilés en quantités importantes par les microalgues. Le plus important dans cette partie les éléments Carbone, Azote et phosphore

2.2.6.1. Carbone

Les microalgues peuvent assimiler le carbone inorganique par la photosynthèse. L'énergie solaire est utilisée pour assimiler le CO₂ et le transformer en sucre selon la réaction suivante (*Chen, 2011*)



2.2.6.2. Azote

L'azote est un second nutriment essentiel pour la croissance des microalgues comme il constitue 10 % de la biomasse (*Becker, 1981*).

2.2.6.3. phosphore

Un autre macronutriment essentiel pour la croissance des microalgues est le phosphore. Les algues assimilent le phosphore principalement sous la forme d'orthophosphates O-PO₄³⁻. Les phosphates organiques se trouvant dans l'eau seront hydrolysés en orthophosphates par les phosphatases qui sont présentes sur les membranes cellulaires externes des microalgues. Les phosphates seront stockés dans les cellules algales sous forme de granules polyphosphates (*Gupta*)

Chapitre 3 Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts

3.1. Synthèse des lipides chez les microalgues

3.1.1. Lipides chez les microalgues

Les lipides sont des molécules organiques hydrophobes insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires. Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras ou chaîne grasse

Ce sont des constituants indispensables des cellules de microalgues. On les retrouve au niveau structural (phospholipide constitutifs des membranes) et énergétique (molécules de réserve) (Harun, 2010)

Les microalgues stockent les lipides sous forme de triacylglycérols. Les triglycérides sont composés de trois molécules d'acides gras et d'un glycérol. Les microalgues contiennent une grande variété d'acide gras, dont la composition varie en fonction des espèces. Ainsi il existe des microalgues oléagineuses ayant de fortes teneurs en lipides (Li, 2011).

3.1.2. Photosynthèse

3.1.2.1. Phase claire

Appelée aussi la phase photochimique puisque c'est elle qui nécessite l'énergie lumineuse

Dans la photosynthèse les microalgues transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique et fixent le carbone inorganique dissous (CID). Il en résulte la synthèse de matière organique et la production d'oxygène. Ainsi l'activité photosynthétique est la fixation du CO₂ et la production d'O₂ via les mécanismes de la photosynthèse. Elle se compose de deux phases indépendantes chimiquement et physiquement, mais liées par des intermédiaires communs et des régulations enzymatiques (Larosiére, 2012)

Le processus photosynthétique dans son ensemble peut être décrit par l'équation suivante :



Bien que les deux phases se déroulent toutes les deux dans le chloroplaste de la cellule, elles se localisent au niveau de sites distincts. L'oxydation de l'eau et la réaction photochimique (Annexe3) ont lieu dans la membrane des thylakoïdes alors que la réduction de CO₂ se déroule dans le stroma des chloroplastes (Larosiére, 2012).

3.1.2.2. Phase sombre : fixation de CO₂ : cycle de Calvin

Dans la cellule le CO₂ va être intégré au cycle de Calvin, au niveau du chloroplaste. De ce processus va résulter la synthèse de matière organique

Cette réaction peut s'écrire:



C'est l'enzyme Ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) qui va catalyser cette réaction de carboxylation. CO₂ réagit avec le Ribulose-1,5-biphosphate pour donner le glycéraldéhyde 3-phosphate (Figure 3) Cette réaction nécessite un apport d'énergie sous forme d'ATP et de NADPH. Le cycle de Calvin va consommer 95% du NADPH et plus de 60% de l'ATP générés lors de la phase photochimique (Falkowski & Raven, 2007)

Les 5/6 du glycéraldéhyde 3-phosphate vont être utilisés pour fournir le cycle en Ribulose-1,5-biphosphate et le 1/6 restant est exporté dans le cytoplasme de la cellule pour servir à la synthèse de molécules organique (Figure 3) Ces molécules organiques sont essentiellement des glucides et en faible proportion des acides organiques et acides aminés. Ces différentes molécules seront utilisées par la cellule pour la synthèse de nouveaux composés ou comme réserves (Falkowski & Raven, 2007).

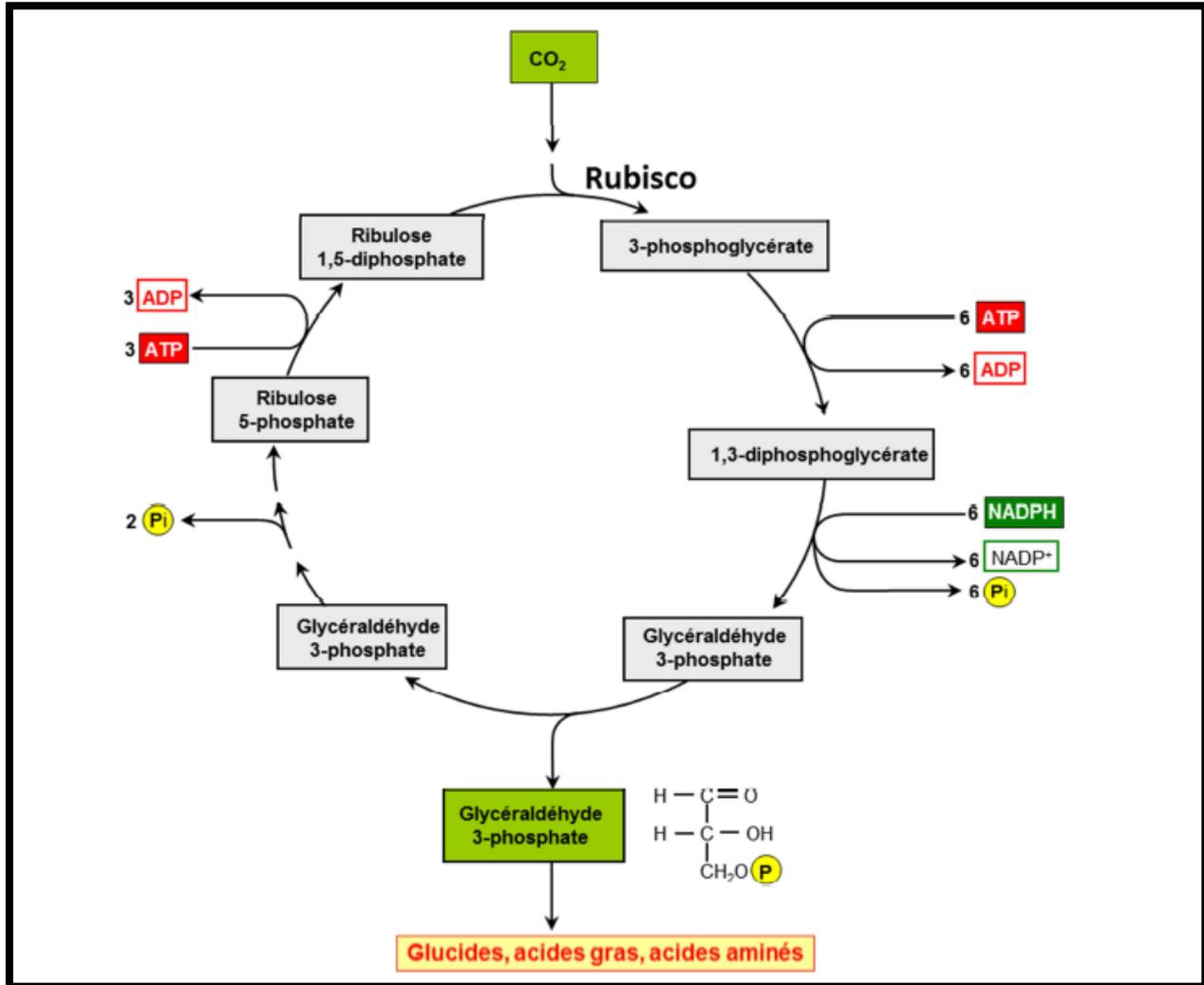


Figure 4: Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde 3 phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté. D'après Albert *et al.*,1995.

3.2. Application des microalgues

Les microalgues sont au centre de beaucoup d'attention et intéressent les industriels dans de nombreux domaines très variés

3.2.1. Alimentation et nutrition

L'importance de l'utilisation des microalgues dans l'industrie alimentaire vient de sa richesse cellulaire. En effet, elle est riche en caroténoïdes utilisés comme colorants alimentaires, en lipides, protéines, en vitamines, en minéraux, acides aminés

Elle est aussi utilisée comme complément alimentaire (Halle, Janczyk, Freyer, & Souffrant, 2009)

3.2.2. Cosmétique et santé

Les microalgues a également une utilisation dans le domaine de la cosmétologie. Elle sert de colorant dans les émulsions et rentre dans la composition de crèmes antirides car elle contient des molécules stimulant la synthèse du collagène par la peau (Gouveia & al, 2008)(Spolaore & al, 2006)

Aussi des nombreux applications pharmacologiques elle présente des propriétés intéressantes dans le traitement contre l'hypertension (Okamoto & al, 1978).

3.2.3. Energie

Utiliser les microalgues pour fabriquer du biocarburant, aussi appelé biocarburant de troisième génération. En effet, de par leur contenu lipidique et leur capacité à croître rapidement elles se présentent comme des candidates intéressantes pour cette application.

Partie expérimentale

Chapitre 1 Zone d'étude

1.1. Zone d'étude

Notre étude a été effectuée pendant le mois Novembre 2019 au niveau de deux stations situées dans la région de Biskra

1.1.1. Présentation de la zone d'étude et localisation des points de prélèvement

Nous avons prélevés des échantillons d'eau de plusieurs endroits selon leur origine pour la réalisation de cette étude, nous choisisons deux stations dans chacun il y a trois site d'échantillonnage

1.1.1.1. Fontaine des gazelles (barrage el kantara)

Il est situé dans le nord-est de l'état de Biskra, avec un taux de remplissage de 55.5 millions de m³. Sa superficie totale est estimée à 16 millions de m³s'étendant entre les contreforts des montagnes des autres et le désert de l'Atlantique Nord, il est réali pour l'irrigation des terrains agricole

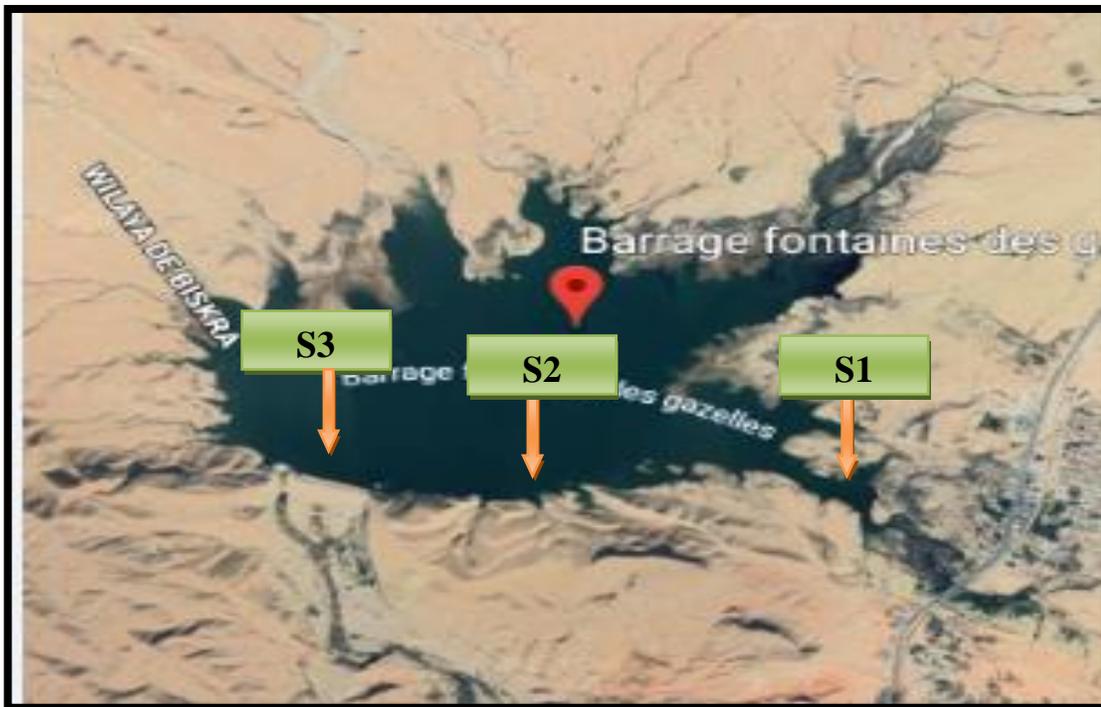


Figure 5 : Localisation des points de prélèvements de fontaine des gazelles (Google Maps)

Station 1) Située en amant de barrage ; **Station 2)** située en centre de barrage ; **Station 3)** en aval de barrage

1.1.1.2. Foum El Kherza

Il est situé dans la région de sriyana, à l'est de Biskra à environ 10 Km de la capitale de l'état

Le barrage de Foum El Kherza a été construit pendant la période coloniale par une entreprise Batignolles, sa superficie totale est d'environ 1300.000 Km²et sa hauteur est de 73 mètre, pour une taille totale de 400.000 mètre. Sa capacité en eau est de 47 millions

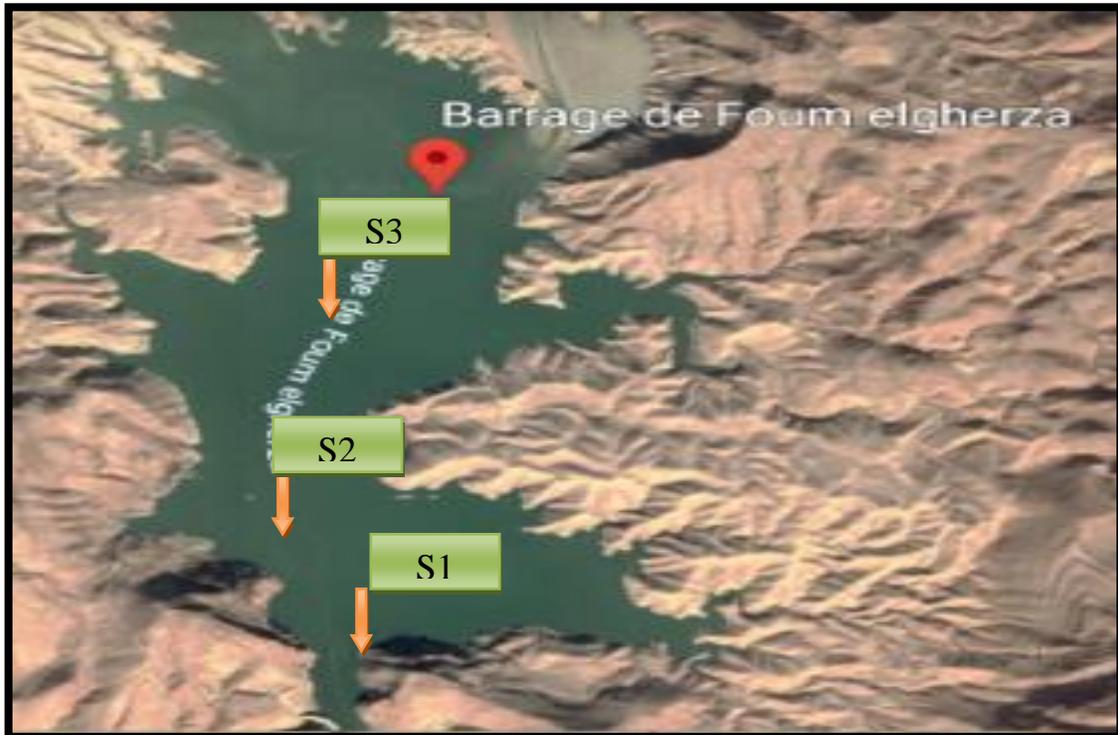


Figure 6 : Localisation des points de prélèvement de Foum El Kherza (Google Maps)

Station1) Situe en amant de barrage ; **Statio2)** Située en centre ; **Station 3)** Située en aval

Chapitre 2 Matériel et Méthode

2.1. Matériel

Tous le matériel utilisée dans cette étude tel que (les appareils, les solutions, les réactifs...) est représenté dans les tableaux suivants

Tableau 1: Matériel utilisée

Appareillage		
Autoclave	Bain marie	Etuve
Etuve de séchage	Frigidaire	Chambre d'incubation
Agitateur magnétique	Balance analytique	Microscope optique
Verreries et instruments		
Béchers	bec benzène	Boite de pétri
Cotton	Erlenmeyer (100,250ml, 1000ml)	Eprouvette graduées
Lame et lamelle (en verre)	Pipette pasteur	Lance de platine
Portoir en plastique	Tube à essai	Flacons
Papier aluminium	Entonnoir	Bouteilles en plastique
Dessiccateur	Pipette graduée	

2.2. Méthode

Notre méthodologie d'analyses est basée sur :

- L'isolement et identification de microalgue de la région de Biskra

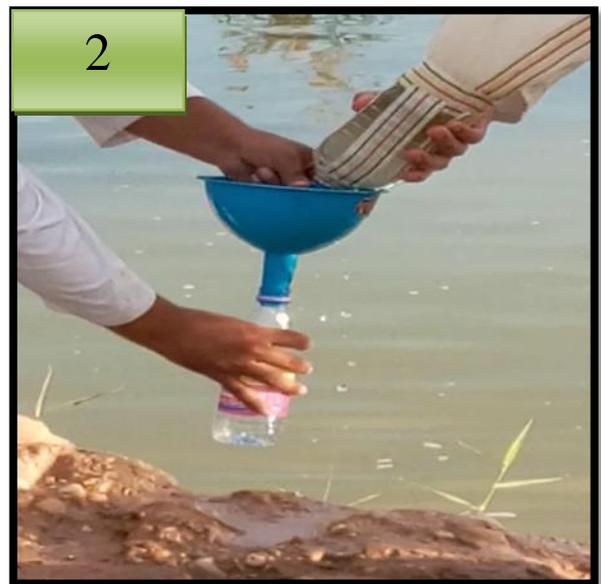
2.2.1. Echantillonnage

Nous avons prélevé un échantillon pour des analyses physico-chimiques et un échantillon pour isoler les microalgues dans chaque point de prélèvement et cette échantillonnage se fait par les étapes suivantes

- ❖ L'opération consiste à filtrer l'eau à l'aide du filet du phytoplancton de diamètre 30 μ m de vide de maille
- ❖ Collecté et verse dans une bouteille (marqué la date, lac,...)
- ❖ Stockés les échantillons dans des glacières pour être transportés au laboratoire
- ❖ Les bouteilles couvrant par des cotons stériles



1) filtration d'eau à l'aide du filet du phytoplancton



2) Recueillir l'eau filtré dans une bouteille

Figure 7: L'échantillonnage des microalgues (Photo original)

2.2.2. Analyse physico-chimique des eaux de prélèvements

L'analyse sur terrain devant être effectuée dans 10 minutes qui ont suivies le prélèvement.

Pour d'autre élément, ce sont les moyens de conservation des échantillons qui ont été mis en œuvre sur le site lors de prélèvement (TESTLAB).

2.2.2.1. Détermination des paramètres physiques

Les paramètres physique tels que la température (C°), potentiel hydrogène (pH), la salinité (‰), la conductivité électrique (us/cm) a été effectué à l'aide de l'appareil multi paramètres

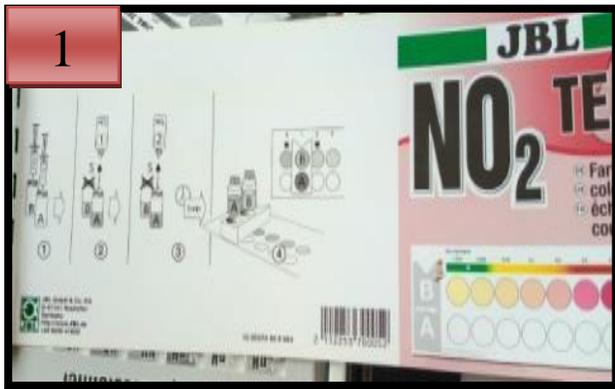


1) Appareil multi paramètres

Figure 8: Test rapide pour déterminer les paramètres physiques (Photo original)

2.2.2.2. Détermination des paramètres chimiques

Le dosage des paramètres chimiques tels que (Nitrate NO_3 , Ammonium NH_4 , Nitrite NO_2 , PO_4 ...) se fait par des tests rapides (analyses colorimétriques) à l'aide de l'appareil JBL



1) Dosage de Nitrite ; 2) Ammonium ; 3) Fer ; 4) Nitrate ; 5) phosphate

Figure 9: Test rapide pour déterminer les paramètres chimiques de marque JBL (Photo original)

2.2.3. Isolement et identification des microalgues

2.2.3.1. Milieux de culture

Tout d'abord, nous préparons les solutions nécessaires pour un milieu de culture BG11 (Bleu-Green Medium) et 3N-BBM+V (Bold Basal Medium with 3- foldNitrogen and Vitamins ; modified) pour isolée les microalgues ; leurs composants se trouvent dans l'annexe 2 et 3

2.2.3.1.a. Milieu BG11 (Bleu-Green Medium)

Nous avons préparé la solution BG11 par la préparation individuelle de 3 solutions mères. Et pour préparer 1000 ml de milieu BG11 nous avons ajouté 100 ml de solution NaNO_3 ; 10 ml de stocke solution 2-8 et 1 ml de trace métal est autoclave à 120°C pendant 15 min.

Nous avons mettez 15 g de agar pour un milieu solide c'est à dire (milieu liquide +0.1% agar) et homogénéisé la solution est autoclave à 120 °C pendant 15 min. Puis nous remplissons la solution BG11 gélosé dans les boîtes de pétri environ 20 m.

2.2.3.1.b. Milieu BBM

Nous avons préparé le milieu BBM+V par la préparation individuelle de 9 solutions mères. Ces solutions stérilisées à 120°C pendant 15 minutes

Pour préparer 1000 ml de milieu BBM+V nous avons ajouté 30 ml de NaNO_3 ; 6 ml de trace élément et 10 ml pour les autres solutions est autoclave à 120 °C pendant 15 min.

Et nous ajoutons 15 g de agar pour un milieu solide est autoclave. Puis on ajouter 1 ml de vitamine B1 et B12 pour éviter la dénaturation de vitamine.

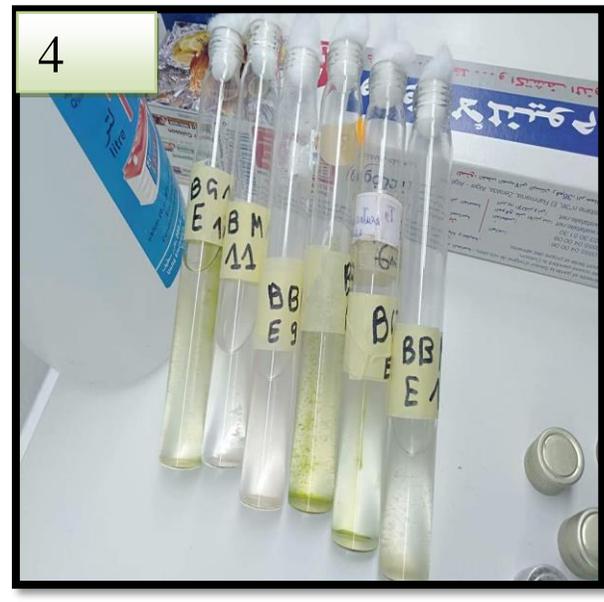
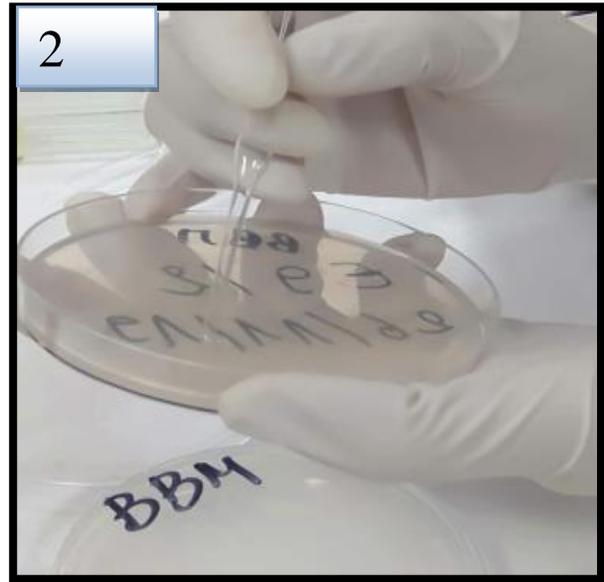
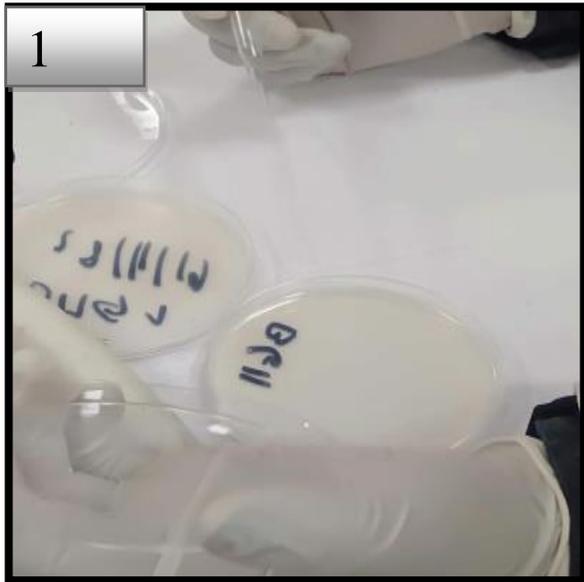


1) Solutions préparées de BG11, BBM ,2) BG11, BBM sur plaque chauffante 3) stérilisation dans l'autoclave 4) Remplissage de 1/2 solide

Figure 10: Préparation de milieu de culture ; solide (Photo original)

2.2.3.2. Ensemencement et incubations

- ❖ Nous prenons environ 1 ml de l'eau du lac et le distribuons dans boîtes de pétri.
- ❖ Faire un ensemencement par lance de platine ou bien par pipette pasteur.
- ❖ Incubé biotes dans une chambre thermostatée grâce à un climatiseur à température 25 °C.
- ❖ Disposée les biotes de pétri sur les étagères de la chambre lumineuse.
- ❖ Fournir l'éclairage (photopériode lumière/obscurité) et la durée de l'incubation variée de 10 à 15 jours.



- 1) Mettre 1 ml de l'eau prélevé ;2) Ensemencement par pipette pasteur ;3) incubation dans chambre lumineuse et climatisé ½ solide ; 4) ½ liquide

Figure 11: Ensemencement et l'incubation de microalgues (Photo original)

2.2.4. Identification et purification des microalgues

Après avoir isolés les microalgues et fournir toutes les conditions nécessaires au développement et reproduction, nous remarquons après une période d'environ 10 à 15 jours des différents colonies à la surface de milieu gélosé et lorsque ces colonies apparaissent, nous faisons une observation microscopique

2.2.4.1. Observation microscopique

Nous avons examiné les échantillons morphologiquement au microscope optique grossissement (X10, X40).

Pour l'observation microscopique, nous effectuons les étapes suivantes :

- Nous prenons un échantillon du milieu solide en grattant une partie de chaque colonie verte et doit être le plus fin possible
- Placer l'échantillon (l'objet) à observer au centre de la lame
- Déposer une goutte d'eau physiologie et mélange par pipette pasteur
- Prendre délicatement une lamelle entre le pouce et l'index
- La poser à 45° sur le bord de la lame
- La faire glisser jusqu'au liquide
- Concernant les échantillons de milieu liquide elle placés directement sur la lame
- Des observations aux différents grossissements ont été réalisées sous microscope optique

Nous avons pris l'identification des différents genres à travers le livre FRESHWATER ALGAE (avec une comparaison entre les images obtenues et les images du livre)

2.2.4.2. Purification

Pour purifier les échantillons, nous réalisons plusieurs repiquages successifs sur BG11 et BBM soit (solide –solide ou liquide –liquide ; solide-liquide)

Chapitre 3 Résultats et Discussions

3.1. Résultats des analyses physico-chimiques des eaux de lac

La connaissance de la nature et la composition de l'eau donne une idée sur les conditions favorables du développement de microalgues, et la qualité d'eau dans chaque site d'échantillonnage

Ces paramètres permettent une interprétation des résultats analytiques

3.1.1. Détermination des paramètres physiques de lac

Dans ces analyses, nous avons utilisé une méthode potentiométrique qui permet une mesure rapide, elle est utilisable sur le terrain. Nos résultats de ces analyses effectuées pour les deux sites de prélèvement sont exprimés dans les tableaux suivants

Tableau 2 : Variations des valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques (périodes Novembre 2019)

	Température (C°)	Conductivité (µs/cm)	pH
P1-1	21.9	1505	7.44
P1-2	22.7	1497	7.62
P1-3	22.4	1500	7.84
P2-1	24.3	1469	7.61
P2-2	23.9	1472	7.56
P2-3	22.6	1483	7.77

3.1.1.1. Température

La température est un facteur important affectant la densité de l'eau et les réactions biochimiques. En effet, la température joue un rôle important dans la solubilité du gaz, la dissociation des sels dissous et la détermination du Ph. La source d'eau et de mélanges, généralement, est affectée par la température (superficielles ou profondes) (Rodier, 1984).

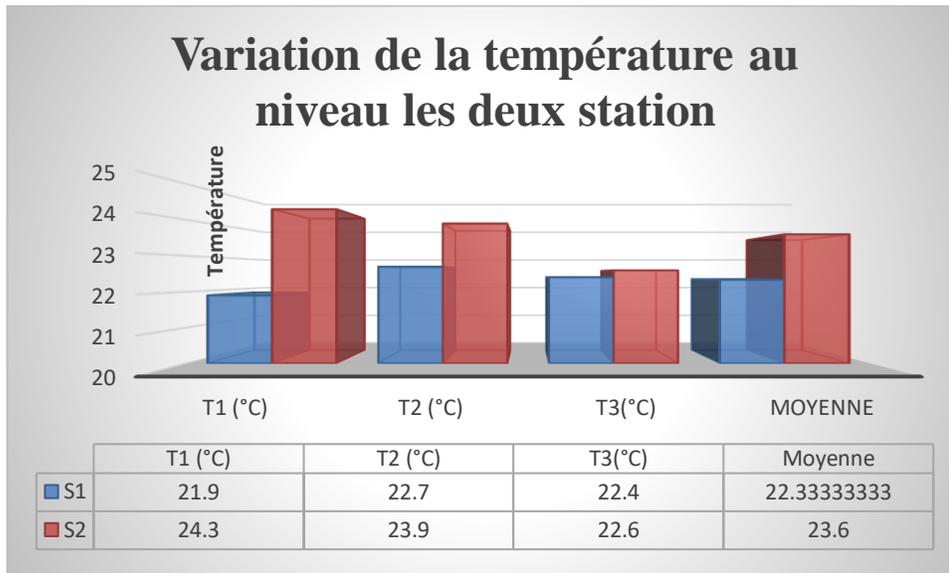


Figure 12: variation de la température au niveau les deux stations de prélèvement (Original)

Dans notre zone d'étude, nous avons remarqué que les variations des valeurs moyennes de la température de l'eau mesurée au niveau de deux stations est entre 22.333 mesuré au niveau de la station S1. Et 23.6 mesuré au niveau de la station S2

La température est une mesure momentanée en fonction de temps, de l'heure et du lieu de prélèvement. Elle agit comme un facteur écologique majeur dans les biotopes terrestre et aquatique (ramade, 2000).

3.1.1.2. PH

Le pH mesure la concentration en ions H^+ de l'eau. Il traduit ainsi la balance entre bas et acide sur une échelle de (0 à 14), 7 étant le pH de neutralité. Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibre physico-chimiques, et dépend de facteurs multiples, dont la température et l'origine de l'eau, il représente une indication importante en ce qui concerne l'agressivité de l'eau (aptitude à dissoudre le calcaire)

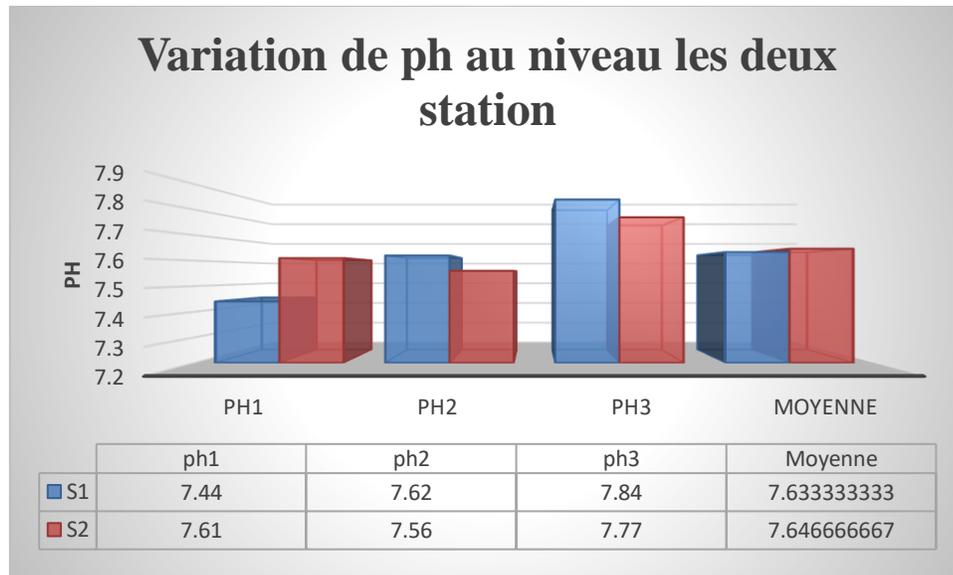


Figure 13 : Variation de pH au niveau les deux stations de prélèvement (Original)

Ce diagramme représente les variations des valeurs moyennes du pH de l'eau mesurée au niveau de deux stations et entre 7.6333 mesuré au niveau de la station S1 à la position 1. Et 7.6466 mesuré au niveau de la station S2.

3.1.1.3. Conductivité électrique

Les deux sites de prélèvement ; les valeurs de conductivité électrique est supérieur de 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ces signifies que il y a une minéralisation élevée celle-ci grâce à les rejets domestique.

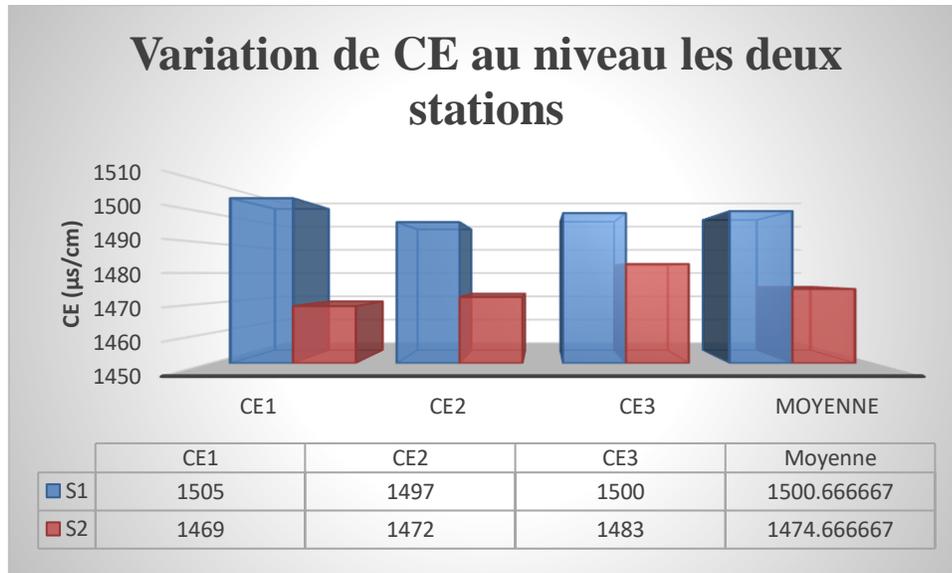


Figure 14: variation de conductivité électrique au niveau les deux stations de prélèvement (Original)

- D'après la figure (14) qui montre la variation de CE au niveau les deux stations de prélèvement

Nous avons observé dans ce diagramme des valeurs élevées de la CE dans l'eau, tandis que les variations des valeurs moyennes de la CE de l'eau mesurée au niveau de deux stations varient entre 1474.66 (la plus basse) mesuré au niveau de la station S2. Et 1500.66 (la plus élevée) mesuré au niveau de la station S1.

3.1.2. Détermination des paramètres chimiques de lac

La méthode utilisée pour le dosage des éléments nutritifs est colorimétrique qui basée sur les réactions de coloration (changement de couleur)

Le tableau suivant résumé les résultats obtenus des analyses effectuée pour les deux sites de prélèvement

Tableau 3: Variations des valeurs moyennes des différents paramètres physico-chimiques (périodes Novembre 2019)

	NH₄ (mg/l)	NO₂ (mg/l)	NO₃ (mg/l)	Fe (mg/l)	PO₄ (mg/l)
P1-1	< 0.05	<0.01	<0.05	<0.02	<0.02
P1-2	<0.05	<0.01	<0.5	<0.02	<0.02
P1-3	<0.05	<0.01	<0.5	<0.02	<0.2
P2-1	0.1	0.2	<0.5	<0.02	<0.02
P2-2	0.1	0.1	<0.5	<0.02	<0.02
P2-3	<0.05	0.1	<0.5	<0.02	<0.02

3.1.2.1. Dosage de l'azote ammoniacal (NH_4^+)

La détermination de l'azote ammoniacal est obtenue par méthode colorimétrique ; composé couleur bleu qui formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitropussiate de sodium

Notre résultats obtenu est moins de 0.05 mg/l et cela signifié que on a une bonne conversion d'ammonium en nitrite

3.1.2.2. Dosage des nitrites (NO_2^-)

La présence des ions ammonium traduit une dégradation incomplète de matière organique ion avec NI Naphtylènediaminedichloride donne une coloration rose

Notre résultats de NO_2^- est entre <0.01 la plus basse mesuré au niveau de station 1 et 0.1 plus élevé mesuré au niveau station 2 cela signifie nitrification des ions ammonium par les Nitrosomonas

3.1.2.3. Dosage des Nitrates (NO_3^-)

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosnylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique

Notre résultats de NO_3^- est entre <0.05 la plus basse mesuré au niveau de station 1 et <0.5 plus élevé mesuré au niveau station 2 cela signifie par une nitrification de l'ion ammonium par la bactérie Nitrobacter

3.1.2.4. Dosage phosphate (PO_4^{3-})

Dans l'eau superficielle, le phosphore est essentiel aux végétaux, mais, en trop grande quantité, il contribue principalement à modifier l'équilibre biologique des milieux aquatiques

D'après nos résultats on remarque que les variations des valeurs moyennes de phosphate au niveau les deux stations S1 et S2 varient entre <0.02 la plus basse mesuré au niveau de station 2 et 0.2 la plus élevée mesuré au niveau de station 1; ces concentrations est un petit peu faible cela est dû à moins disponible que les autres éléments essentiels comme l'azote à cause de faible source industriel c'est-à-dire le phosphore naturellement présent en très faible quantité dans les eaux

3.2. Résultats des identifications phénotypiques des microalgues

3.2.1. Caractère principaux des microalgues observées

Résultats des identifications phénotypiques des microalgues dans des barrages à montrer aux tableaux suivantes :

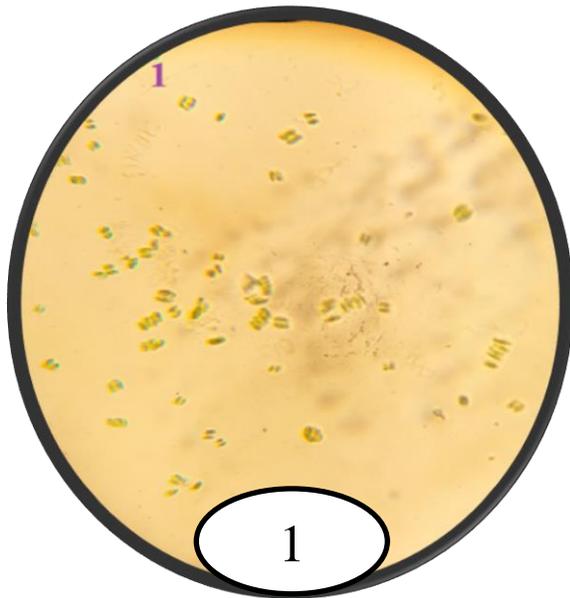
Tableau 4: Caractère principaux des micro-algues dans le barrage Fontaine de Ghazelle

Genre	Classe	Thalle	Forme	Agencement
2) <i>Planothidium.sp</i>	<i>Bacillariophyceae</i>	Unicellulaire	Sommet parfois étirés ou largement capitalisé, Légèrement incurvée	Solitaire
3) <i>Nannochloropsis.sp</i>	<i>Eustigmatophyceae</i>	Unicellulaire	Sphérique à ovoïde	Solitaire
6) <i>Selenastrum</i>	<i>Chlorophyceae</i>	Unicellulaire	Hélicoïdale, semi-circulaire incurvée	Solitaire alvéoles grappes pendant la division cellulaire
7) <i>Kirchneriella.sp</i>	<i>Chlorophyceae</i>	Unicellulaire	Hélicoïdale, semi-circulaire incurvée	Solitaire alvéoles grappes

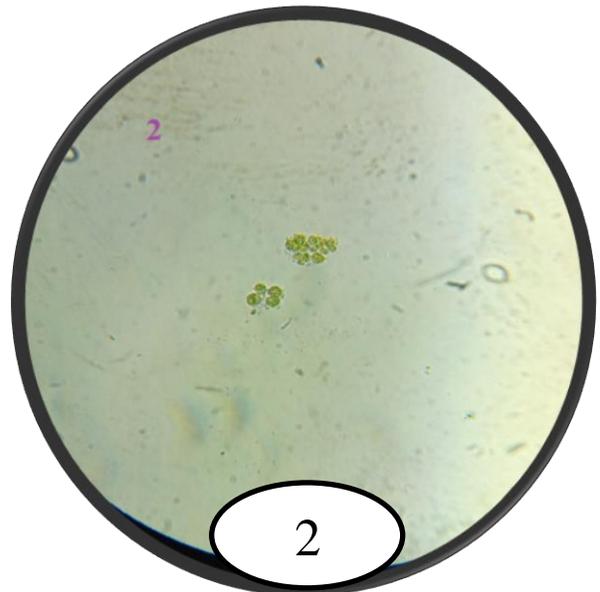
Tableau 5 : Caractère principale des micro-algues observées dans le barrage Fom El Kherza

Genre	Classe	Thalle	Forme	Agencement
1) <i>Scendesmus</i> <i>Obliquus.sp</i>	<i>Chlorophyceae</i>	Pluricellulaire	Cylindrique Fusiforme Ovoïde Ellipsoïde	Cénobie plats ou peu arqué linéaire ou 2 séries
4) <i>Manoraphidium.sp</i>	<i>Chlorophyceae</i>	Unicellulaire	Linéaire à sigmoïde ou hélice avec extrémités allongés	Solitaire
5) <i>Scendesmus</i> <i>Opaliensis.sp</i>	<i>Chlorophyceae</i>	Pluricellulaire	Cylindrique Fusiforme Ovoïde Ellipsoïde	Cénobie plats ou peu arqué linéaire ou 2 séries
8) <i>Chroococcus.sp</i>	<i>Cyanophyceae</i>	Pluricellulaire	Sphérique à ovoïde	Solitaire 2 séries

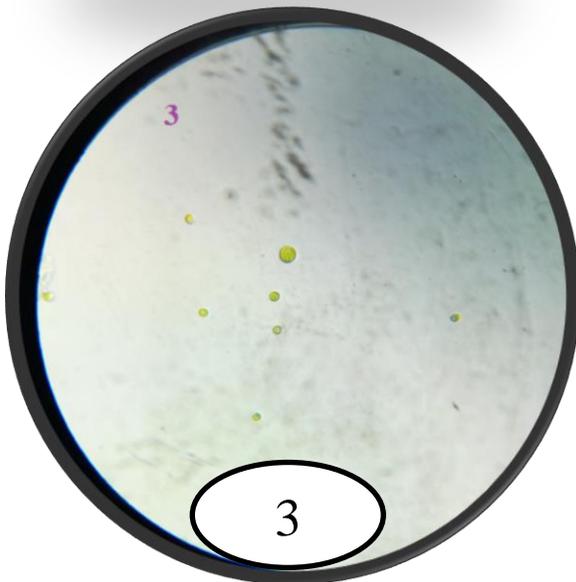
3.2.2. Caractère principaux des genres des microalgues observées



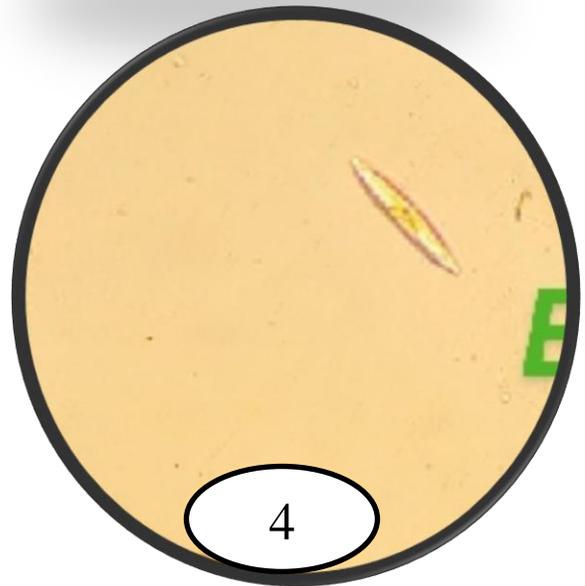
Scendesmus Obliquus.sp



Planothidium.sp

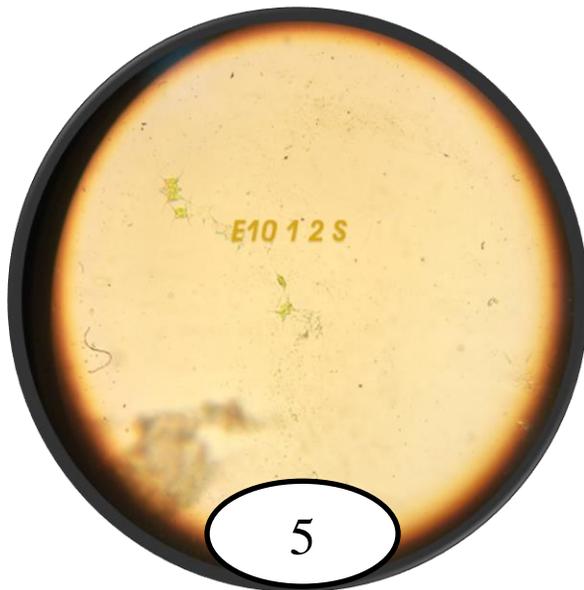


Nannochloropsis.sp



Manoraphidium.sp

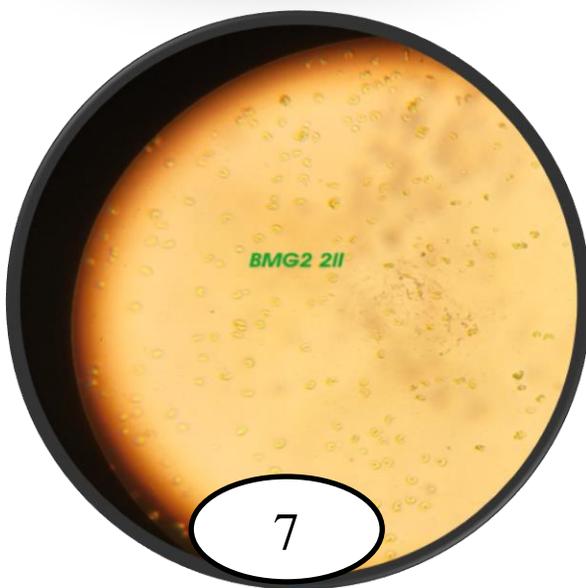
Figure 15 : Observation microscopique(grossissement X40) des souche rencontré au niveau de région de Biskra (Photo original)



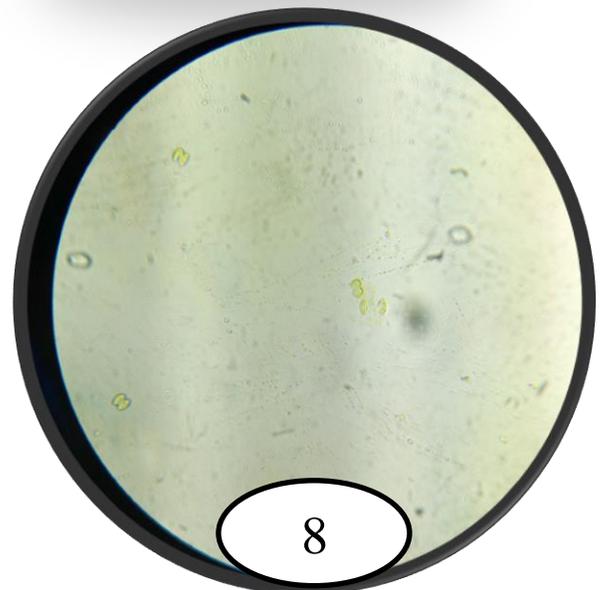
Scendesmus Opaliensis.sp



Selenastrum. Sp



Kirchneriella.sp



Chroococcus.sp

Figure 16: Observation microscopique(grossessement X40) des souche rencontré au niveau de région de Biskra (Photo original) la suite

3.3. Discussions des identifications phénotypiques des microalgues

L'identification des espèces se fait par méthode se basent sur l'aspect morphologique en utilisant le microscope optique

L'étude qui a été réalisée représente en conséquence une source de données nouvelles permettant d'apprécier l'effet de différents paramètres physico-chimiques sur la composition biochimique d'une souche de microalgue

La croissance de population, en termes d'augmentation de nombre d'individus, résulte d'un grand nombre de processus cellulaire. Dans certain condition de culture favorable : toutes les souches ont présentes une bonne croissance, en fin de période expérimentale nous remarquons un changement de couleur du vert clair en vert foncé pour *Scendesmus Opaliensis.sp* et *Nannochloropsis.sp* et *Planothidium.sp* et du vert marron pour *Selenastrum. Sp* *Kirchneriella.sp* signe de croissance considérable (ASFOURI, 2019)

Les méthodes microscopiques, sont encore le seul moyen susceptible d'apporte des informations détaille sur la morphologique des microalgues

L'environnement physico-chimique dans lequel se trouve la microalgue influence fortement se croissance et son métabolisme et donc impact directement les rendements de production de biomasse ou/et production de biomolécule. Dans littérature, le pH, la température sont les principaux paramètres décrits (Villay, 2013)

De nombreux paramètres influencent la production de microalgue, la quantité d'azote excrétée sous forme d'ammoniac diminue avec l'augmentation de la quantité de lipide dans la ration

Le phosphore est essentiel aux végétaux, mais, en trop grande quantité, il contribue principalement à modifier l'équilibre biologique des milieux aquatiques

Conclusion

Conclusion

Les microalgues photosynthétiques s'affirment comme l'une alternatives convenables pour remplacer les énergies fossiles et suscitent un intérêt grandissant, en raison de leurs propriétés biologique et métabolique intéressantes, en particulier les microalgues qui sont progressivement imposées dans le monde scientifique et industriel.

L'intérêt de ces microorganismes photosynthétiques réside également dans l'étendue de la palette de molécule qu'ils peuvent produire, telle que les lipides, les protéines ou encore des pigments.

Le présent travail a porté d'une part sur l'isolement et identification des microalgues vertes isolées à partir de la région de Biskra, pendant le mois Novembre 2019 au niveau de deux stations

D'après les analyses des caractéristiques physico-chimiques des deux stations, les résultats montrent que les paramètres physiques la T° et le pH de cette étude est selon les normes

Et pour la CE nous trouvons des valeurs élevé plutôt important ce signifié par une minéralisation

D'autre part les résultats chimiques montrent que les éléments nutritif NH_4^+ ; NO_3 ; NO_2 ; PO_4 ; Fe est se trouve en très petite quantité dans les deux stations à cause de faible source industriel c'est-à-dire naturellement présent en faible quantité dans l'eau

Tandis que l'observation microscopique des différents échantillons nous avons obtenus des communautés algales diversifiées. Au niveau station1 on le trouve les espèces suivants: (*Planothidium* ; *Kirchneriella* ; *Nannochloropsis.sp* ; *ScendesmusOpaliensis*) et dans la station 2 (*Scendesmus Obliquus* ; *Chroococcus* ; *Manoraphidium* ; *Selenastrum*)

D'après avoir obtenu les souches pures de microalgues verts, nous n'avons pas terminé les étapes suivantes (screening chimique et stress de croissance de microalgues isolées, l'optimisation de la production de microalgues) en raison de la pandémie Corona.

Ces problèmes ont conduit à ne pas terminer le travail requis et n'atteindre l'objectif recherché d'isoler les microalgues vert à partir de région de Biskra.

Perspective et recommandation

Perspective et recommandation

Dans les études de recherche il faut faire :

- ❖ Optimisation de la production de microalgues isolées
- ❖ Extraction des lipides des microalgues
- ❖ Essayez de valoriser les microalgues dans d'autres produits (protéine, carbohydate...)

Référence bibliographie

1. Ahmed E.M. Abdelaziz, G. B. (2014). Screening microalgae native to Quebec for wastewater treatment and biodiesel production. *journal homepage* , 157:140-148.
2. Andersen, R. A. (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press.
3. ASFOURI, N. Y. (2019). *production en masse de microalgue: optimisation des paramètres physico-chimique*. oran.
4. BECERRA CELIS, G. P. (2009). *Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un ohotobioréacteur continu*. paris: Supélec.
5. Becker, E. W. (1981). *Algae mass cultivation- production and utilization*.
6. Boileau, M.-E. (2015). *ÉVALUATION DU POTENTIEL D'UTILISATION D'UNE EAU USÉE INDUSTRIELLE COMME SUBSTRAT DE CULTURE POUR DES MICROALGUES D'EAU DOUCE DANS UNE OPTIQUE DE PRODUCTION DE BIOCARBURANTS DE 3e GÉNÉRATION*. canada: Centre universitaire de formation en environnement et développement durable.
7. Cadoret, J.-P. (2008). La production de biocarburant lipidique avec des microalgues :promesses et défis. *journal de la Société de Biologie* , 5.
8. Cantin, I. (2010, juillet). Essai présenté au Centre Universitaire de Formation en Environnement en vue de. *LA PRODUCTION DE BIODIESEL À PARTIR DES MICROALGUES DE MÉTABOLISME HÉTÉROTROPHE* , p. 14.
9. Chaumont, D. (1993). Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for. *Journal of Applied Phycology* , 5: 593-604,.
10. Chen, C. Y. (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production:a crical review. Dans K. L. Yeh, R. Aisyah, & al, *PROSPECTS END CHALLENGES IN ALGAL BIOTECHNOLOGIE* (pp. 102,71-81).
11. Davide.Sigee. (2010). FRESHWATER ALGAE. Dans Edwardo.Billinger, *Identification and Use as Bioindicators*. First published .
12. DE VILLERS Juliette, S. M. (2005). QUALITÉ PHYSICO- CHIMIQUE ET CHIMIQUE DES EAUX DE SURFACE: CADRE GÉNÉRAL. *Les données de l'IBGE : "L'eau à Bruxelles"* (p. 16). Institut Bruxellois pour la Gestion de l'Environnement.

13. Diouf, D. (2009). *production d'aliments enrichis en acides gras polyinsaturés*. Rimouski: université du Québec.
14. Elumalai*, R. S. (2011). Isolation, Identification, Morphological Studies and Lipid Granules Staining (Nile red) of Different Micro-Algae for Biodiesel Production from Fresh Water and Saline Water. *Journal of Experimental Sciences* , 26-29.
15. Falkowski, P. G., & Raven, J. A. (2007). *Aquatic photosynthesis*. Second edition Princeton university press.
16. FILALI, R. (2012). *Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO2*. paris : STiTS ecile doctorale .
17. Fogg, G. E. (1953). *The metabolism of algae*. London.
18. Folmer. (2010). organismes marins photosynthétiques comme source de composés anticancéreux. *Revue phytochimique* , pp. 9,557-579.
19. François, D. D. (2009). *UTILISATION DES MICROALGUES COMME SOURCE D'ÉNERGIE DURABLE*. Canada: UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE.
20. Gouveia, L., & al. (2008). *microalgae in novel food product*.
21. Guillou, A. (2006). *Étude d'opportunité des biotechnologies marines sur la production et l'utilisation des microalgues*. CRBM (Centre de recherche sur les biotechnologies marines de Rimouski).
22. Gupta, S. K. Challenges For Cultivation of Microalgae in Food Industry Wastewater. Dans Bux, & Faizal, *Application of microalgae in wastewater treatment* (p. 97). ISBN978-3-030-13908-7.
23. Halle, I., Janczyk, P., Freyer, G., & Souffrant, W. B. (2009). *Effect of microalgae Chlorella vulgaris on laying hen performance*. *Archiva Zootechnica*.
24. Hang, a. (2010). production de biodiesel par biotechnologie microalgale. *Energie appliquée* 87 , pp. 38-46.
25. Harun, R. (2010). Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. Dans M. Singh, S. Thiruvankadam, W. A. Ghani, T. Cherrington, & M. K. Dunquah, *Renewable and Sustainable energy reviews* (pp. 14:1037-1047).
26. Jean, R. (1984). *l'analyse de l'eau naturelles, esu résiduaire, eau de mer chimie, physico-chimie, bactériologie, biologie* . paris: Montreuil Impr. Gauthier-Villars .
27. John Sheehan, T. D. (1998). *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species*. U.S. Department of Energy's Office of Fuels Development Under Contract No. DE-AC36-83CH10093.

28. Justo, G. Z. (2001). Effects of the green algae *Chlorella vulgaris* on the response of the host hematopoietic system to intraperitoneal ehrlich ascites tumor transplantation in mice. Dans M. R. Silva, M. L. Queiroz, & Jan, *Immunopharmacology and Immunotoxicology* (pp. 23.119-132).
29. Konishi, F., & al. (1990). *Enhanced resistance against Escherichia coli infection by subcutaneous administration of the hot-water extract of Chlorella vulgaris in cyclophosphamide-treated mice. Cancer immunology, immunotherapy. CII.*
30. Larosière, B. C. (2012). *Etude de la croissance de Chlorella vulgaris en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO2.* Paris: ECAP.
31. Lechevalier, H. (1977). Algae, Protozoa, and Viruses. Dans A. Laskin, & Floride, *CRC handbook of microbiology* (Vol. II Fungi, p. 874). CRC Press.
32. Li, Y. (2011). Photosynthetic carbon partitioning and lipid production in the oleaginous microalgae *Pseudochlorococcum* sp. Under nitrogen-limited condition. *Bioresource Technology* , pp. 102: 123-129.
33. Ljutovac, K. R., Bouvier, j., Gayet, C., Noemie, S., Florent, J., Frédéric, F., et al. (2011). Organisation structurale et moléculaire des lipides dans les aliments: impacts possibles sur leur digestion et leur assimilation par l'homme. 324-351.
34. Metting, F. (1996). Biodiversité et application des microalgues. *Journal of Industrial Microbiology* , 17:477-489.
35. MICHAUD, J.-C. (2016). *STRATÉGIE DE CULTURE ALGALE EN DEUX ÉTAPES. QUÉBEC: L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC A TROIS-RIVIÈRES.*
36. Mitchell, R. (1974). *The Evolution of Thermophily in Hot Springs.* Chicago.
37. Niclin, J., Graeme, K. C., Paget, T., & Killington, R. (1999). *Microbiologie.* paris.
38. O. Bernard, J.-P. C. (2008). La production de biocarburant lipidique avec des microalgues :. *journal de la Société de Biologie* , 5.
39. Okamoto, K., & al. (1978). Effects of *Chlorella* alkali extract on blood pressure in SHR. *Japanese heart journal* , 19:622-623.
40. Pukan, M. M., & al. (2011). *Microalgae Chlorella as a potential bio-energy feedstock.*
41. Pugh, N., & al. (2001). *Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from Spirulina platensis, aphanizomenon flos-aquae and Chlorella pyrenoidosa.* Planta medica.
42. Richmond. (2007). Biofixation de CO2 par les microalgues. Dans S. Tebbani, R. Filali, D. Dumur, F. Lopes, & D. Pareau, *Modélisation, estimation et commande* (p. 156). ISTE

43. Richmond, A. (2004). Handbook of microalgae culture. Dans *biotechnology and applied phycology*.
44. Rodier. (1984). *L'analyse des leau eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer chimie,physico-chimie,bactériologie,biologie*. paris: Montreuil Impr.Gauthier-Villars.
45. RODIER, J. (2005). eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, chimie, physico-chimie,microbiologie, biologie, interprétation des résultats. Dans C. BAZIN, J. P. BROUTIN, P. CHAMBON, H. CHAMPSAUR, & L. RODI, *L'analyse de l'eau* (p. 1384). Paris: Dunod.
46. Sialve, B., & Steyer, J. P. (2013). *Lesmicroalgues,promessesetdéfis.InnovationsAgronomiques,*.
47. Spolaore, P., & al. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* , 101:87-96.
48. T. Catalina Adarme-Vega, S. R.-H. (2014, Avril 10). Effects of Long Chain Fatty Acid Synthesis and Associated Gene Expression in Microalga Tetraselmis sp. *Algae Biotechnology Laboratory, School of Agriculture and Food Sciences* .
49. Takagi. (2006). Effet de la concentration en sel sur l'accumulation intracellulaire de lipides et de triacyglycérider dans les cellules de microalgues marines Dunaliella. *journal of bioscience and bioengineering* , 101:223-226.
50. Villay, A. (2013). *Production en photobioréacteurs et caractérisation structurale d'un exopolysaccharide produit par une microalgue rouge, Rhodella violacea : application à l'obtention d'actifs antiparasitaires*. paris.
51. Wolff, A. *L'utilisation des microalgues pour la fabrication de biocarburants : analyse de la chaîne de valeur - contexte français et international*. Mineure en Environnement CERES-ERTI.
52. Xin-Guang Zhu¹, S. P. (2008). What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? *Current Opinion in Biotechnology* , pp. 19:153-159.
53. Xu, H., Miao, X., & Wu. (2006). High Quality Biodiesel Production from a Microalga Chlorella protothecoides by Heterotrophic Growth in Fermenters. *Journal of Biotechnology* , 499-507.

Site d'internat:

www.passeportsante.net

[www.google.fr>maps>](http://www.google.fr/maps)

Annexe

Annexe 1

Mode de nutrition	Source d'énergie	Source de carbone
Photo-autotrophe	Radiation solaire	CO₂ seulement
Photo-hétérotrophe	Radiation solaire	CO₂ et carbone organique
Chemo-autotrophe	Composé inorganique	CO₂
Chemo-hétérotrophe	Composé organique	Carbone organique

Tableau 6 : Différent type nutritionnel des microalgues (BECERRA C, 2009).

Annexe 2

3N-BBM+V (Bold Basal Medium with 3-fold Nitrogen and Vitamins; modified)

Stock solutions in g / 1000 ml water	for 1 litre final medium
(1) 25.0 g NaNO ₃	30.0 ml
(2) 2.5 g CaCl ₂ ·2H ₂ O	10.0 ml
(3) 7.5 g MgSO ₄ ·7H ₂ O	10.0 ml
(4) 7.5 g K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	10.0 ml
(5) 17.5 g KH ₂ PO ₄	10.0 ml
(6) 2.5 g NaCl	10.0 ml
(7) trace element solution (see below)	6.0 ml
(8) vitamin B ₁ (see below)	1.0 ml
(9) vitamin B ₁₂ (see below)	1.0 ml

Make up to 1 litre with distilled water. Autoclave at 15 psi for 15 minutes.

Trace element solution (7)

Add to 1000 ml of distilled water 0.75 g Na₂EDTA and the minerals in exactly the following sequence:

FeCl ₃ ·6H ₂ O	97.0 mg
MnCl ₂ ·4H ₂ O	41.0 mg
ZnCl ₂ ·6H ₂ O	5.0 mg
CoCl ₂ ·6H ₂ O	2.0 mg
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	4.0 mg

Vitamin B₁ (8)

0.12 g Thiaminhydrochloride in 100 ml distilled water. Filter sterile.

Vitamin B₁₂ (9)

0.1 g Cyanocobalamin in 100 ml distilled water, take 1 ml of this solution and add 99 ml distilled water. Filter sterile.

Figure 17 : Fiche de préparation de BB

Annexe 3



culturecollection

of algae and protozoa

BG11 (Blue-Green Medium)

Freshwater algae and protozoa

Stocks	per litre
(1) NaNO ₃	15.0 g
per 500 ml	
(2) K ₂ HPO ₄	2.0 g
(3) MgSO ₄ .7H ₂ O	3.75 g
(4) CaCl ₂ .2H ₂ O	1.80 g
(5) Citric acid	0.30 g
(6) Ammonium ferric citrate green	0.30 g
(7) EDTANa ₂	0.05 g
(8) Na ₂ CO ₃	1.00 g
(9) Trace metal solution:	
H ₃ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.39 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.08 g
Co(NO ₃)2.6H ₂ O	0.05 g
Medium	
Stock solution 1	100.0 ml
Stock solutions 2 - 8	10.0 ml each
Stock solution 9	1.0 ml

Make up to 1 litre with deionized water. Adjust pH to 7.1 with 1M NaOH or HCl. For agar add 15.0 g per litre of Bacteriological Agar (Oxoid L11)*. Autoclave at 15 psi for 15 minutes.

Supply
*Unipath Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hants, RG24 0PW, UK

Reference
Stanier RY, Kunisawa R, Mandel M & Cohen-Bazire G (1971) Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales). *Bacteriol. Rev.* **35**: 171-205.

media recipes

CCAP (Culture Collection of Algae and Protozoa), Dunstaffnage Marine Laboratory,
Oban, Argyll, PA37 1QA, UK
Tel: +44 (0)1631 559000 Fax: +44 (0)1631 559001 Email: ccap@sams.ac.uk Web: www.ccap.ac.uk

Figure 18 : Fiche de préparation 1/2 BG11

Annexe 4 : Réaction photochimique

C'est au sein de la membrane des thylakoïdes que se trouve l'appareil photosynthétique. Il est composé de pigments photosynthétiques associés à des photosystèmes I et II (PSI et PSII), d'accepteurs et de donneurs d'électrons. Le PSI et PSII sont aussi appelés respectivement PS 700 et PS 680. Les photosystèmes sont des complexes au sein desquels sont associées des protéines et des pigments. Le PSII comporte trois domaines : une antenne, un centre réactionnel et un complexe d'oxydation de l'eau. Et le PSI comporte une antenne et un centre réactionnel. Les pigments photosynthétiques sont la chlorophylle a, b, c et d en fonction des espèces d'algues. Les Chlorophytes ne contiennent que des chlorophylles a et b. La chlorophylle a est un pigment actif car elle capte et convertit l'énergie lumineuse en énergie chimique. Alors que la chlorophylle b est un pigment surnuméraire car elle ne fait que transmettre les photons à la chlorophylle a. Il existe d'autre type de pigments surnuméraires chez les algues vertes, appelés caroténoïdes qui en plus de capter la lumière sont impliqués dans la dissipation de l'excès d'énergie lié à un excès de lumière (Jeffrey et Wright, 2006). Une fois que l'énergie lumineuse a atteint la chlorophylle a des centres réactionnels des photosystèmes, celle-ci passe à un état excité et expulse alors un électron. A partir de là va se dérouler le transport des électrons au travers de différents accepteurs de l'appareil photosynthétique jusqu'à un accepteur final permettant la production de pouvoir réducteur NADPH. En parallèle la réaction de photosynthèse permet aussi la synthèse d'ATP. Il existe deux types de transport des électrons: cyclique et non cyclique.

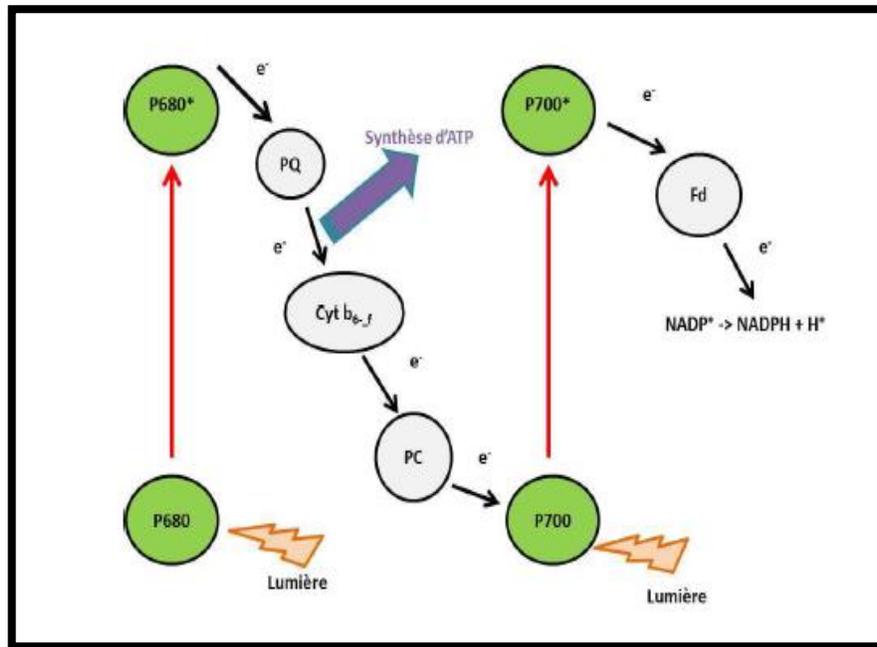


Figure 19 : Schéma du transport acyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC, PC : plastocyanine, Cyt b₆_f : cytochrome b₆_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine

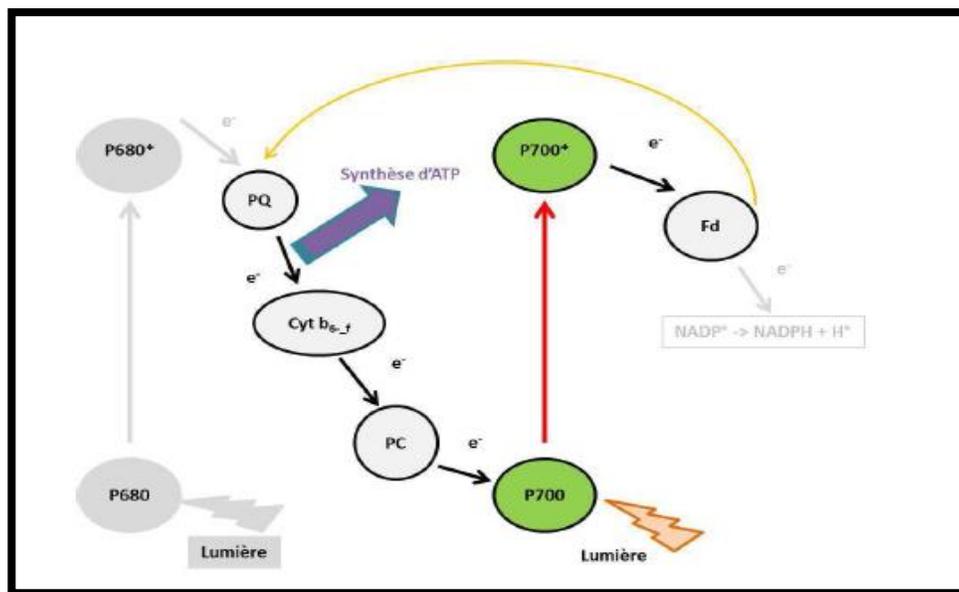


Figure 20: Schéma du transport cyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC, PC : plastocyanine, Cyt b₆_f : cytochrome b₆_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine

Résumé

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى عزل والتعرف على الطحالب الدقيقة في منطقتين رطبتين (منبع الغزلان وسد فم الخرزة) المتواجدة في منطقة بسكرة والتي تتميز بقيمتها الغذائية واستعمالاتها المتعددة تعتمد منهجية تحليلنا لهذه الدراسة على قياس الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمختلف المحطات اخذ العينة كذلك تعتمد على عزل وتحديد النمط الظاهري للطحالب الدقيقة الخضراء وفقا لتحليلات الفيزيائية والكيميائية للمحطتين، تظهر لنا النتائج الفيزيائية والكيميائية أن درجة الحرارة والرغم الهيدروجيني لهذه الدراسة وفقا للمعايير العادية وأن نجده نوعا ما مرتفع وهذا يدل على التمدن ومن ناحية أخرى أظهرت النتائج الكيميائية أن العناصر الغذائية متواجدة بكميات قليلة جدا في المحطتين بسبب ضعف المصدر الصناعي، بينما حصلنا في المراقبة الدقيقة للطحالب على تجمعات طحالب متنوعة نذكر منها:

Planothidium sp ; Kirchneriella sp ; Nannochloropsis.sp ; Scendesmus Opaliensis sp) في المحطة الأولى

و(*Scendesmus Obliquus ; Chroococcus ; Manoraphidium ; Selenastrum*) في المحطة الثانية

الكلمات الرئيسية: الطحالب الدقيقة الخضراء، الدهون، منطقة رطبة، التحاليل الفيزيائية والكيميائية، تحديد الوصفية

Résumé

Cette étude a pour objectif, d'isoler et identifier des microalgues vertes (riche en lipide) au niveau de deux zones humides (fontaine de Ghazel, et Foug El Kherza) de la région de Biskra qui se caractérisent par leur importance dans divers domaines.

Une méthodologie d'analyse a été étendue pour cette étude qui est basée sur la mesure des caractéristiques physico-chimiques au niveau des différentes stations de prélèvement et l'isolement ; l'identification phénotypique des microalgues vertes riches en lipides.

D'après les analyses des caractéristiques physico-chimiques des deux stations : les résultats physiques démontrent que la T° et le pH de cette étude est selon les normes et là CE nous trouvons des valeurs élevées plutôt importantes ce qui signifie par une minéralisation.

D'autre part les résultats chimiques démontrent que les éléments sont trouvés en très petite quantité dans les deux stations à cause d'une faible source industrielle.

Tandis que l'observation microscopique des différents échantillons prélevés nous avons obtenus des communautés algales diversifiées. Au niveau de la station 1 on les trouve les espèces suivantes: (*Planorhynchium sp* ; *Kirchneriella sp* ; *Nannochloropsis.sp* ; *ScenedesmusOpaliensis sp*) et dans la station 2 (*Scenedesmus Obliquus sp* ; *Chroococcus sp* ; *Manoraphidium sp* ; *Selenastrum sp*).

Mots clé : Microalgues vertes, lipide, Zone humide, analyses physico-chimiques, identification.

Abstract

The objective of this study is to isolate and identify green microalgae (high in lipid) at the level of two wetlands (Gazel Fontain ; and Foun El Kherza) of the Biskra region which is characterized by its importance in various fields. An analytical methodology has been extended for this study which based on the measurement of the physico-chemical characters at the level of the different sampling stations and the isolation phenotypic identification of the high lipid green microalgae

According to the analyses of the physico-chemical characteristics of the two stations the physical results show that the T° and pH of this study is according to the norms and EC we find high values rather important that meat by a mineralization. On the other hand the chemical results show that the elements are found in very small quantities in both stations due to low industrial sources.while the microscopic observation of the different sample we have obtained diversified algal communities. At the level of station 1 we find the following species :

(*Planothidium sp*; *Kirchneriella sp*; *Nannochloropsis.sp*; *ScendesmusOpaliensis sp*) and (*Scendesmus Obliquus sp*; *Chroococcus sp*; *Manoraphidium sp*; *Selenastrum sp*) to station2.

Keywords : Green microalgae, lipid, wet area, physico-chemical analysis, identification