

**MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE**

**ECOLE NATIONALE SUPÉRIEURE AGRONOMIQUE DE  
MONTPELLIER**

**DIPLOME D'AGRONOMIE APPROFONDIE**

**Mention: Productions Animales**

**CULTURES INTENSIVES DE MICROALGUES SUR  
LISIER DE PORC: PERFORMANCES,  
CONTRAINTES, UTILISATION DES BIOMASSES**

par

**Lionel DABBADIE**

Soutenu le 5 octobre 1992, devant la commission d'examen

Pr. J. THIMONIER

Dr. J. SEVRIN-REYSSAC

Pr. R. CORDESSE

Dr. P. MORISSENS

ENSA.M  
Laboratoire de Zootechnie

2, place Pierre Viala  
34060 MONTPELLIER cedex

FRANCE

Muséum d'Histoire naturelle  
Laboratoire d'Ichtyologie

43, Rue Cuvier  
75231 PARIS cedex 05

FRANCE

## TABLE DES MATIÈRES

Table des matières .....	1
Résumé.....	3
Abstract .....	4
Remerciements .....	5
Introduction .....	6
PREMIÈRE PARTIE.....	8
1. Algues présentant une forte affinité pour les milieux eutrophisés.....	8
1.1. Chlorococcales.....	8
1.1.1. Genre <i>Chlorella</i> Beijerinck, 1890 .....	8
1.1.2. Genre <i>Scenedesmus</i> Meyen, 1829.....	10
1.1.3. Autres espèces de chlorococcales .....	10
1.2. Volvocales .....	10
1.3. Diatomées.....	11
1.4. Cyanobactéries.....	11
1.5. Autres algues .....	12
2. Composition chimique des algues .....	12
3. Mode de nutrition.....	12
3.1. Autotrophie.....	12
3.2. Hétérotrophie.....	15
4. Actions des algues sur le milieu .....	18
4.1. Oxygénation.....	18
4.2. Consommation de dioxyde de carbone CO <sub>2</sub> .....	18
4.3. Epuration .....	19
4.4. Action antibactérienne.....	19
5. Production algale .....	21
5.1. Types de production.....	21
5.2. Facteurs de production .....	23
5.3. Choix des emplacements et configuration des bassins .....	24
5.4. Techniques de production .....	24
6. Performances de production .....	25
7. Récolte des microalgues.....	25
8. Utilisation des algues .....	26
8.1. Alimentation d'animaux aquatiques, et notamment des daphnies .....	26
8.2. Alimentation humaine et animale .....	30
8.3. Utilisations industrielles.....	30
8.3.1. Colorants.....	30
8.3.2. Polysaccharides .....	31
8.3.3. Vitamines et autres produits.....	31
8.3.4. Imperméabilisants .....	31
8.4. Autres utilisations. ....	31
DEUXIÈME PARTIE.....	34

1. Milieux expérimentaux .....	34
2. Mesures et prélèvements effectués dans les cultures d'algues.....	34
3. Analyses et observations réalisées au laboratoire.....	35
4. Protocoles expérimentaux .....	37
4.1. Suivi des populations algales en fonction de la saison et de la fertilisation apportée.....	37
4.2. Action des tanins sur la population algale.....	38
4.3. Effet de l'aération sur les cultures d'algues.....	39
5. Critique des méthodes .....	39
TROISIÈME PARTIE .....	40
1. Conditions climatiques.....	40
2. Physico-chimie.....	42
2.1. Température de l'eau dans les enceintes.....	42
2.2. Oxygène dissous dans les enceintes .....	42
2.3. pH dans les enceintes .....	44
2.4. Eléments nutritifs minéraux .....	46
- Azote ammoniacal .....	46
- Nitrite .....	47
- Nitrate.....	49
- Phosphate .....	50
3. Biologie .....	52
3.1. Algues.....	52
- Systématique .....	52
- Biomasse .....	55
3.2. Zooplancton.....	58
- Rotifères .....	58
- Daphnies.....	58
- Copépodes .....	59
- Autres .....	60
3.3. Bactéries .....	60
QUATRIÈME PARTIE .....	61
1. Contraintes liées aux conditions environnementales .....	61
1.1. Basse température et faible luminosité .....	61
1.2. Turbidité et présence de tanins .....	62
2. Nécessité du brassage.....	65
2.1. Flottation .....	65
2.2. Sédimentation des cellules .....	67
2.3. Désoxygénation et apparition de bactéries anaérobies.....	69
3. Développement d'organismes filtreurs .....	71
3.1. Cladocères .....	71
3.2. Rotifères .....	73
4. Evolution de la composition bactérienne en fonction du bullage.....	75
Conclusion.....	76
Références bibliographiques .....	81
Annexes.....	87
Liste des figures.....	119
Liste des tableaux .....	122
Liste des planches .....	123

## RÉSUMÉ

Les microalgues vertes du groupe des volvocales et des chlorococcales sont utilisées pour mobiliser les nutriments contenus dans le lisier de porc. Il s'agit essentiellement de *Scenedesmus falcatus* et de *S. quadricauda*, espèces mixotrophes qui présentent une forte affinité pour l'azote ammoniacal, forme d'azote prépondérante dans le lisier. Pour que l'épuration soit effective, les biomasses algales produites doivent être exportées. Le moyen le plus simple consiste à faire ingérer ces algues par un crustacé cladocère (*Daphnia magna*) qui, grâce à sa taille relativement importante (jusqu'à 8 mm), se récolte plus facilement que les algues.

Pour apporter des éléments de gestion destinés à la station pilote mise en place au cours de l'été 1992 à Château-Thierry, de nombreuses expérimentations ont été effectuées à petite échelle au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris.

Bien que, dans certains cas, de très bonnes productions algales (jusqu'à 315 g MS.m<sup>-2</sup>.sem<sup>-1</sup>) et une épuration parfois totale de certains éléments azotés comme l'azote ammoniacal aient été obtenues, il est ressorti des expériences que le brassage est absolument nécessaire pour obtenir des biomasses importantes et un enlèvement satisfaisant des éléments nutritifs. Dans les cultures non brassées, de nombreuses nuisances surviennent: flottation ou sédimentation des algues, désoxygénation et production de gaz toxiques. L'accumulation des matières organiques provoque la formation de floccs (agglomérats d'algues) qui augmente encore le processus de sédimentation.

Une autre nuisance qui provoque une diminution de la biomasse algale est due à la turbidité provoquée par la présence de parenchymes de végétaux terrestres (feuilles) en décomposition. Il est donc impératif que les cultures soient placées en dehors des zones boisées. Les expériences ont aussi montré que la prolifération des rotifères (jusqu'à 10 000 ind.l<sup>-1</sup>) qui avait été tenue pour responsable de l'effondrement du phytoplancton pourrait être un effet et non une cause de celui-ci et que le développement des algues serait plus limité par les basses températures que par les faibles luminosités.

Les algues de taille relativement grande (15 à 20  $\mu$ m) sont favorisées par un allongement du temps de rétention de l'eau dans les cultures (23 d au lieu de 15 d en hiver). La biomasse produite est alors plus stable.

## ABSTRACT

Microscopic green algae belonging to Volvocaceae and Chlorococcaceae have been used for mobilizing nutrients of pig manure. The main species used, *Scenedesmus falcatus* and *S. quadricauda* are mixotrophs and prefer environments enriched with ammonia, the most important nitrogenous part of pig manure. For effective nutrient removal, algae must be harvested. The best way to achieve this is by using *Daphnia magna*, which feeds on the phytoplankton and can be more easily harvested.

Many experiments have been carried on at the Muséum national d'Histoire naturelle (Paris) with 700 l tanks to improve the pilot plant built in Château-Thierry during spring 1992.

Algal production has often been substantial, and removal of ammonia sometimes reached 100%. Agitation is essential to achieve such performances, otherwise algal flottation and sedimentation, production of toxic gases and deoxygenation occur. Accumulation of organic matter induces algal flocculation with increased sedimentation.

It is necessary that cultures take place away from trees to limit problems caused by leaves.

Experiments also showed that rotifer development, supposed to cause algal population collapses, might be in fact the consequence of them.

The growth of microscopic green algae appears to be more restricted by low temperature than short photoperiod.

Increasing the duration of water retention from 15 to 23 days in winter favors larger algae with up to 4 cells (15 to 20  $\mu\text{m}$ ) and stabilizes productivity.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord Madame Josette Sevrin-Reyssac pour son encadrement exceptionnel.

Que Monsieur le professeur Roland Billard me permette aussi de lui exprimer ma reconnaissance pour son accueil au Muséum d'Histoire naturelle, sa sympathie, et pour le reste...

Mes remerciements s'adressent également à tous les stagiaires et employés du laboratoire d'Ichtyologie pour leur gentillesse et leur disponibilité, et notamment mesdames Jacqueline Goy et Françoise André qui ont participé à la relecture du manuscrit.

Cette année de DAA n'aurait jamais pu se dérouler dans ces conditions sans:

- Monsieur le professeur J. de la Noüe qui a participé à la relecture de ce rapport et Monsieur D. Proulx, de l'université Laval (Québec)
- Monsieur le professeur C. Salomoni, de Bologne
- Monsieur le professeur J.P. Benzecri, de l'université P. et M. Curie
- Messieurs les professeurs R. Cordesse et J. Thimonier de l'ENSA.M. pour leur encadrement sans faille.

Qu'ils en soient tous très sincèrement remerciés.

## INTRODUCTION

En supprimant la manutention de la paille et des fumiers grâce à la récupération des déjections animales sous forme liquide (lisier), l'élevage hors sol a permis aux agriculteurs de se consacrer à l'élevage d'effectifs zootechniques plus importants, mais également plus polluants pour l'environnement.

La situation française n'est pas encore aussi catastrophique qu'elle l'est aux Pays-Bas, mais elle peut devenir rapidement critique dans certaines régions (Coillard, 1990). C'est le cas de la Bretagne qui, avec 7% de la SAU<sup>1</sup> nationale, contribue pour moitié à la production porcine française et pour 43% à la production de volailles.

Les déjections animales possèdent une valeur fertilisante qui permet de les valoriser en les épandant sur les terres agricoles. Mais lorsqu'un excédent structurel existe (i.e. que les quantités produites sont régulièrement supérieures aux volumes épandables) ou lorsque la situation de l'élevage expose son voisinage à des nuisances (olfactives notamment), le traitement des lisiers s'impose.

De très nombreuses techniques existent: tamisage, centrifugation, décantation, désodorisation, boues activées, aération, méthanisation, évaporation forcée, procédés Solépur, Airbi EFL<sup>2</sup>.... (Coillard, 1990). Si certaines sont fantaisistes, la plupart fonctionnent, mais elles sont généralement trop coûteuses ou se contentent d'atténuer une nuisance (l'odeur le plus souvent), sans dépolluer pour autant.

L'utilisation des effluents organiques pour fertiliser les étangs est très ancienne. En Chine, des déchets de toutes origines sont épandus dans les bassins d'élevage piscicole depuis deux millénaires. Il en est de même du fumier qui est apporté traditionnellement dans les étangs d'alevinage en Europe centrale (Billard, 1980).

Pourtant, malgré l'ancienneté de l'emploi de la fertilisation organique dans le but d'augmenter la production piscicole ou d'épurer des déchets, le suivi des interactions

---

<sup>1</sup>Surface agricole utile

<sup>2</sup>Evaporation forcée du lisier

entre les paramètres physico-chimiques et les organismes biologiques intermédiaires est relativement récent (Sevrin-Reyssac, sous presse).

Grâce aux connaissances que ces travaux ont permis d'acquérir sur les milieux soumis à de forts apports de matières organiques et en raison des problèmes posés par les déchets dans certaines régions, un dispositif de lagunage qui intégrerait l'aquaculture à l'agriculture (avec leurs déchets d'élevages hors-sol) et aux industries agro-alimentaires (laiteries, sucreries...) a pu être élaboré dès le début des années 1980 par de Pauw *et al* (1980). Il pourrait constituer une alternative intéressante aux nombreux procédés d'épuration des lisiers.

Cette technique, qui suscite un intérêt croissant, est actuellement étudiée au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris dans le cadre d'un programme "Mise au point d'un système de recyclage de lisier de porcherie par lagunage avec production de daphnies et de poissons". Ce projet, financé par le Ministère de la Recherche et de l'Espace et le Ministère de l'Agriculture, associe le laboratoire d'Ichtyologie du Muséum et la chaire de Zootechnie de l'INAPG avec différents instituts techniques agricoles: l'ACTA<sup>3</sup>, l'IITP<sup>4</sup>, l'ITAVI<sup>5</sup> et l'UCAAB<sup>6</sup> qui seront chargés de diffuser la technologie auprès des éleveurs. Des coopérations avec le Québec et l'Italie portent également sur ce sujet.

**Le travail présenté dans ce rapport s'inscrit dans ce programme et porte plus précisément sur la culture des microalgues qui constitue l'étape au cours de laquelle l'épuration se réalise.**

Les résultats des expérimentations, leurs limites et les applications qui peuvent en découler sont présentés après un rappel des connaissances déjà acquises sur la culture des microalgues réalisée avec des déchets organiques.

---

<sup>3</sup>Association de coordination technique agricole.

<sup>4</sup>Institut technique du porc.

<sup>5</sup>Institut technique de l'aviculture et des petits élevages.

<sup>6</sup>Union des coopératives agricoles d'alimentation du bétail.



# PREMIÈRE PARTIE

## CULTURE DES MICROALGUES SUR DÉCHETS ORGANIQUES

### 1. ALGUES PRÉSENTANT UNE FORTE AFFINITÉ POUR LES MILIEUX EUTROPHISÉS

Ce sont essentiellement des algues vertes qui appartiennent aux groupes des chlorococcales et des volvocales, mais les milieux eutrophes conviennent aussi à quelques espèces de diatomées et d'eugléniens.

#### 1.1. Chlorococcales

##### 1.1.1. Genre *Chlorella* Beijerinck, 1890

C'est une algue unicellulaire de petite taille (diamètre inférieur à 20  $\mu\text{m}$ ) généralement sphérique ou ellipsoïdale, et toujours solitaire (Pl. 1).

Sa culture est très ancienne; Beijerinck l'a réalisée pour la première fois de façon axénique en 1891 (Soeder et Grimme, 1970). En raison de sa croissance rapide, elle a été utilisée en laboratoire par les physiologistes (Soeder et Grimme, *ibid*).

Sa culture intensive a été lancée en Allemagne dès la seconde guerre mondiale pour tenter de combler un manque de protéines (von Witsch, 1970). Parallèlement à ces travaux, d'autres tentatives de culture en masse débutèrent dans le monde, notamment aux Etats-Unis et au Japon (Goldman, 1979), avec un fertilisant de nature minérale.

L'emploi de la chlorelle pour traiter les effluents agricoles et domestiques remonte à 1969, à la suite des travaux de Oswald *et al.* (cités par Goldman, 1979). Cette utilisation s'est développée car, outre la mobilisation des polluants, elle permettait d'obtenir d'importantes productions à faible coût. De nombreux travaux ont été réalisés sur les cultures de chlorelles, notamment en Israël (Goldman, 1979) et en Belgique (de Pauw *et al.*, 1980).

Leur culture en station orbitale a été envisagée par la NASA (Lubitz, 1961; Soeder et Pabst, 1970), ainsi que dans les sous-marins à propulsion nucléaire (Fox, 1986) dans un double objectif alimentaire et de régénération de l'air ambiant.

## PLANCHE 1

### **Chlorococcales**

1, *Chlorella vulgaris*; 2, *Chlorella miniata*; 3, *Coelastrum microsporum*; 4, *Crucigenia quadrata*; 5, *Scenedesmus falcatus*; 6, *Scenedesmus quadricauda*; 7, *Ankistrodesmus falcatus*; 8, *Oocystis lacustris*; 9, *Micractinium pusillum*; 10, *Pediastrum boryanum*.

### **Volvocales**

11, *Chlamydomonas* (Agloè) *cylindrica*; 12, *Cryptomonas ovata*; 13, *Mallomonas tonsurata*.

### **Diatomées**

14, *Cyclotella compta*; 15, *Stephanodiscus niagareoe*; 16, *Melosira varians*.

### **Euglénophycées**

17, *Trachelomonas intermedia*; 18, *Phacus longicauda*; 19, *Euglena spirogira*.

### **Cyanobactéries**

20, *Anabaena circinalis*; 21, *Microcystis aeruginosa*; 22, *Spirulina major*; 23, *Phormidium subfuscum*; 24, *Aphanizomenon flos aquae*.

Echelle: 10  $\mu$ m

### 1.1.2. Genre *Scenedesmus* Meyen, 1829

C'est une algue unicellulaire, mais dont les cellules peuvent s'associer par 2, 4, 8 voire plus au sein d'un coenobe dont les pôles sont souvent ornés d'épines plus ou moins longues (Bourrelly, 1966). Les cellules, de forme ellipsoïdale ou fusiforme, ont des tailles très variables: de quelques microns à plusieurs dizaines pour les plus grosses (Pl. 1).

L'historique de l'utilisation des *Scenedesmus* est identique à celui de la chlorelle: bien que sa culture soit très ancienne, elle n'a été réalisée de façon intensive qu'après la seconde guerre mondiale (Soeder et Pabst, 1970).

Elle a été cultivée sur déchets organiques par de Pauw *et al.* (1980). De nombreux travaux ont ensuite été menés à très petite échelle au Québec (de la Noüe et Proulx, 1986), puis dans une station de lagunage pilote en Italie (Salomoni, 1991), une autre station ayant été mise en place en France au cours de l'été 1992.

### 1.1.3. Autres espèces de chlorococcales

Elles peuvent être considérées comme "secondaires" car leurs effectifs sont peu importants par rapport à ceux des algues précédentes. Elles appartiennent aux genres suivants (Pl. 1) :

- *Pediastrum* Meyen, 1829
- *Ankistrodesmus* Corda, 1838
- *Crucigenia* Morren, 1930
- *Micractinium* Fresenius, 1858
- *Coelastrum* Nägeli, 1849
- *Oocystis* Nägeli, 1855

## 1.2. Volvocales

Les algues unicellulaires du genre *Chlamydomonas* Ehrenberg, 1833 (Pl. 1) sont fréquentes dans les eaux polluées riches en azote et en substances organiques (Angeli, 1980). Les cellules, solitaires, ont généralement une forme ovoïde et portent deux flagelles permettant la locomotion (Bourrelly, 1966).

Les espèces des genres *Cryptomonas* et *Mallomonas* apparaissent aussi très souvent lorsque le milieu devient putride (Pl. 1).

### 1.3. Diatomées

Unicellulaires, elles sont souvent réunies en chaîne. Leur paroi cellulaire (ou frustule) est composée de substances pectiques associées à de la silice. Elle est constituée de deux valves qui s'emboîtent l'une dans l'autre (Bougis, 1974).

Les premières cultures ont été réalisées par des Allemands, mais elles ont été très rapidement abandonnées au profit des cultures d'algues vertes comme *Chlorella* ou *Scenedesmus* (von Witsch, 1970).

Certaines espèces présentent une forte affinité pour les milieux riches en matières organiques qu'elles colonisent essentiellement au printemps et à l'automne. Elles appartiennent principalement aux genres *Melosira*, *Cyclotella* et *Stephanodiscus* (Pl. 1)

### 1.4. Cyanobactéries

Ces algues sont bien connues des pisciculteurs en raison des nuisances qu'elles occasionnent dans les étangs (Pl. 1). Certaines espèces, très fréquentes, sont toxiques et peuvent entraîner des mortalités de poissons (*Microcystis aeruginosa*).

Les cyanobactéries se développent en masse et forment des "fleurs d'eau" qui constituent une couche plus ou moins épaisse d'algues flottant à la surface de l'eau. La décomposition de cette matière végétale peut ensuite entraîner une désoxygénation et, par conséquent, des mortalités de poissons.

De nombreuses autres espèces sécrètent des substances qui donnent un goût de vase à la chair des poissons. Elles sont à l'origine de pertes économiques importantes pour le pisciculteur (Sevrin-Reyssac et Pletikovic, 1990).

Une cyanobactérie du genre *Phormidium* (Pl. 1) se développe sur la vase, notamment dans les salmonicultures, et donne aussi aux poissons ce goût caractéristique de vase. L'espèce *Phormidium bohneri* est actuellement cultivée à petite échelle au Québec sur des effluents d'industries agro-alimentaires (de la Noüe, comm. pers.).

Parmi les espèces tropicales, il faut souligner l'intérêt que présente la Spiruline *Spirulina* spp. (Pl. 1). Cette algue de grande taille (200 à 400 µm) vit dans les eaux peu profondes ayant une salinité de 7 à 8 ‰ et une alcalinité élevée, le pH optimal étant de 9 (Fox, 1986; Pouliot *et al.*, 1986).

Sa culture a été réalisée au Mexique par l'Institut Français du Pétrole (Clément et van Landeghem, 1970) et en Belgique, dans les bassins de refroidissement de la centrale nucléaire de Tihange. Le rendement des spirulines dans ces eaux réchauffées est

particulièrement élevé, puisqu'il atteindrait 2 tonnes de poids frais.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> (Sevrin-Reyssac, 1991a).

Pouliot *et al.* (1986) ont aussi étudié dans le contexte québécois ses capacités épuratrices vis-à-vis des éléments nutritifs contenus dans le purin de porc. Leurs résultats montrent que la combinaison des aspects "épuration" et "production de biomasse" est susceptible de procurer un mode de traitement nouveau et performant pour de tels déchets organiques. Enfin, Fox (1986) a développé avec les spirulines un système de culture destiné à traiter les effluents organiques de petites collectivités rurales dans les pays tropicaux.

### 1.5. Autres algues

D'autres algues sont également retrouvées dans les milieux très riches en nutriments organiques; ce sont des Euglénophycées dont les genres les plus fréquemment rencontrés sont: *Trachelomonas*, *Phacus*, et *Euglena* (Pl. 1).

## 2. COMPOSITION CHIMIQUE DES ALGUES

La composition chimique de diverses algues est donnée dans le tableau 1. Elle montre leur richesse en protéines. Toutefois, le profil des acides aminés indique une déficience en méthionine et en acides aminés soufrés, soulignée par différents auteurs (Plouidy, 1983; de la Noüe et Proulx, 1986)

En revanche, les microalgues sont généralement riches en vitamines et en substances économiquement intéressantes (de la Noüe *et al.*, 1990).

Des modifications de la composition chimique apparaissent néanmoins en fonction du milieu, du mode de culture, ou du moyen de conservation (Fig. 1).

## 3. MODE DE NUTRITION

Les algues vertes du groupe des chlorococcales ou des volvocales ont une physiologie très souple leur permettant un double mode de nutrition: autotrophe et hétérotrophe.

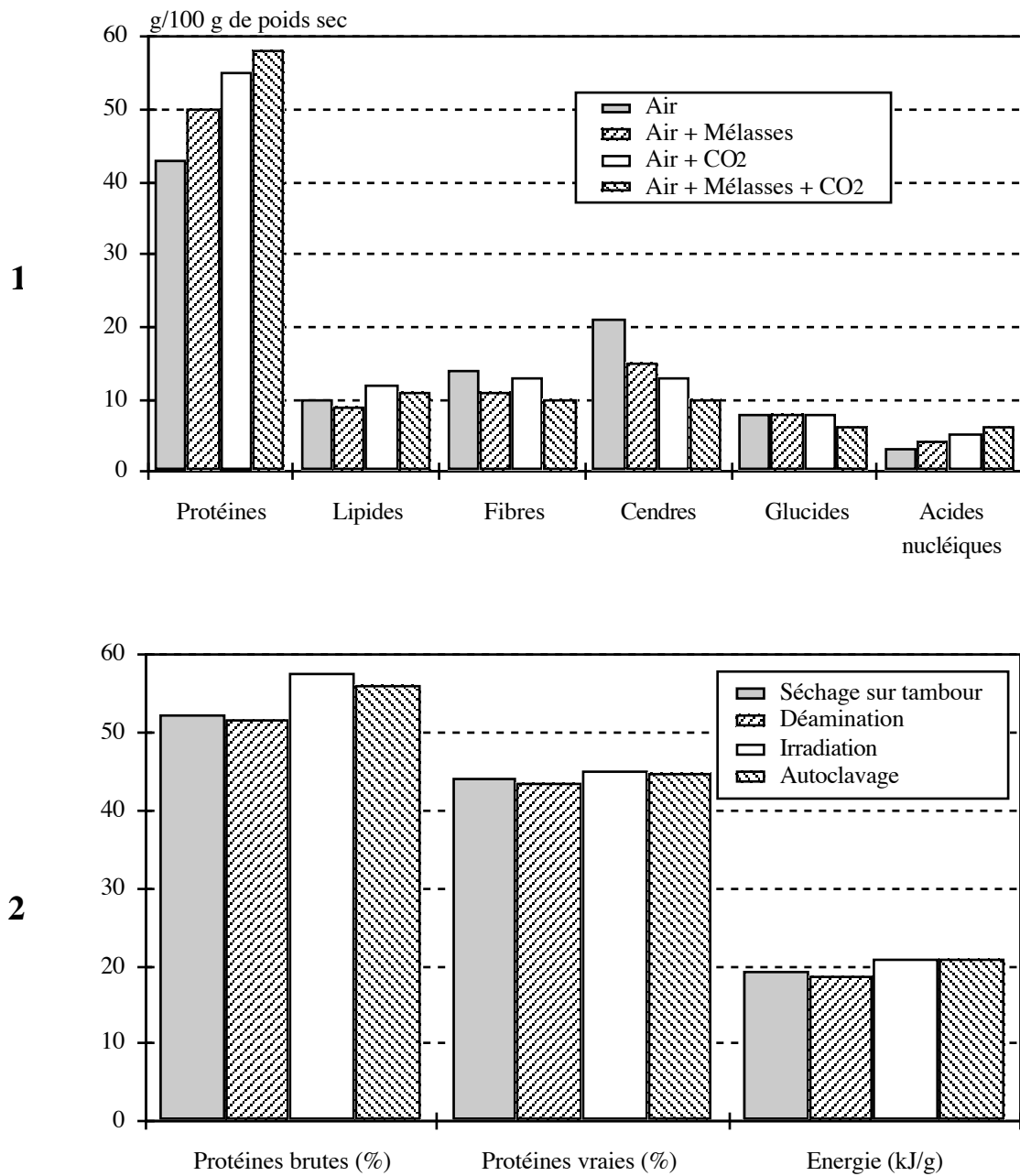
### 3.1. Autotrophie

C'est le mode de nutrition par lequel les algues élaborent, grâce à la photosynthèse, leur propre substance à partir des éléments minéraux dissous dans l'eau et du CO<sub>2</sub>.

Parmi les formes minérales de l'azote (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), c'est l'ammoniac qui est utilisé préférentiellement par de nombreuses algues (Capblancq, 1982), le nitrate et le nitrite devant être réduits avant leur assimilation. Certaines *Haematococcus* et certaines

	<i>Scenedesmus</i> sp.	<i>Spirulina</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.
<b>Composition en % du poids sec:</b>			
Protéines brutes	50-56	50-62	55,5
Eau	4-8	4-10	7
Lipides	12-14	2-7	7,5
Glucides	10-17	16-18	17,8
Fibres brutes	3-10	0,1-0,9	3,1
Cendres	6-10	6,4-9,0	8,25
<b>Acides aminés (en g/16 g N):</b>			
Valine	6,2-7,2	6,5	5,1
Leucine	6,6-9,3	8,5	4
Isoleucine	3,2-4,4	6	3,4
Thréonine	4,8-5,8	4,6	3,2
Méthionine	1,4-1,5	1,4	1,8
Phénylalanine	3,6-4,6	5	4,5
Tryptophane	1,2-1,4	1,4	1,4
Lysine	5,0-5,7	4,6	7,8
<b>Vitamines et autres (en mg/100 g MS):</b>			
Acide ascorbique (C)	40	-	1,5
βcarotène	50	150	50,2
Acide panthoténique	1,2	360	1,12
Pyridoxine (B <sub>6</sub> )	-	3	0,3
Thiamine (B <sub>1</sub> )	0,17	5,5	0,77
Riboflavine (B <sub>2</sub> )	0,42	4	-

**Tableau 1: Composition des microalgues (d'après Lubitz, 1961; Soeder et Pabst, 1970; de la Noüe et Proulx, 1986; Fox, 1986).**



**Figure 1: Modification de la composition des microalgues:**

- 1- Influences de l'aération et de la nature de la source de carbone sur la composition de *Scenedesmus* (d'après Venkataraman *et al.*, 1977).
- 2- Impact de différents traitements sur la teneur en protéines et le contenu en énergie d'*Oocystis* (d'après de la Notie et Proulx, 1986).

*Pandorina* préfèrent cependant l'azote nitrique à l'azote ammoniacal (Gamrasni et Phelippot, 1976). De nombreuses espèces de cyanobactéries sont aussi capables d'utiliser l'azote dissous d'origine atmosphérique (N<sub>2</sub>).

L'assimilation du phosphore se réalise sous forme d'ions phosphate PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, bien qu'il ait été démontré que d'autres formes puissent être utilisées: pyrophosphates, polyphosphates etc... (Capblancq, 1982).

La cinétique d'élimination des nutriments a pu être modélisée par l'équation suivante (Cunningham et Maas, 1982):

$$V = V_{\max} \frac{(Q_{\max}-Q) (S-S_0)}{(Q_{\max}-Q_0) (K_S+(S-S_0))}$$

où V: vitesse d'assimilation du nutriment considéré dans la cellule algale  
 S: concentration extracellulaire en nutriment  
 S<sub>0</sub>: valeur de S en dessous de laquelle il n'y a pas de transport (V=0)  
 Q: quantité de nutriment dans la cellule  
 Q<sub>max</sub> et Q<sub>0</sub>: quantités maximale et minimale de nutriment que la cellule peut et doit contenir  
 V<sub>max</sub> et K<sub>S</sub>: constantes qui augmentent avec la température (Capblancq, 1982) et la lumière (Cunningham et Maas, 1982).

Les éléments minéraux (azote ammoniacal, nitrate, nitrite, phosphate) résultent de la minéralisation de la matière organique par les bactéries aérobies et anaérobies, suivant les réactions présentées dans le tableau 2. Néanmoins, des algues peuvent aussi croître en utilisant directement la matière organique.

### 3.2. Hétérotrophie

C'est le mode de nutrition qui permet l'assimilation directe des substances organiques, de façon plus ou moins indépendante de la photosynthèse.

La croissance algale à l'obscurité, sur des milieux contenant des matières organiques, est connue depuis longtemps (Dangeard, 1921). Les algues sont en effet capables d'utiliser et d'assimiler des substances organiques dissoutes (Droop, 1974) et même particulières par phagotrophie (Porter, 1988).

Longtemps ignoré, ce mode de nutrition fait actuellement l'objet de nombreuses études, d'une part pour déterminer les différentes matières organiques que les algues peuvent utiliser, d'autre part pour étudier la signification écologique de ce mode de nutrition. Est-ce un moyen pour survivre en zones aphotiques ou en zones polaires? Ce type trophique joue-t-il un rôle important dans les interactions et la compétition entre les algues ou entre les algues et les bactéries (Amblard, 1991)?

Des algues peuvent assimiler les substrats organiques indépendamment des conditions



Substrat organique dégradé	Produit final en milieu anaérobie	Produit final en milieu aérobie
<b>Protéines et autres substances azotées</b>	Acides aminés	Acides aminés
	Azote ammoniacal NH <sub>3</sub>	□ Nitrite NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> □ Nitrate NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
	Hydrogène sulfuré	□ Sulfates
	Méthane	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	CO <sub>2</sub>	□ CO <sub>2</sub>
	Hydrogène H <sub>2</sub>	□ H <sub>2</sub> O
	Alcools	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	Acides organiques	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	Phénols	
	Indols	
<b>Glucides</b>	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>
	H <sub>2</sub>	□ H <sub>2</sub> O
	Alcools	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	Acides gras	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	Composés neutres	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
<b>Lipides et dérivés</b>	Acides gras	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	Glycérol	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	CO <sub>2</sub>	□ CO <sub>2</sub>
	H <sub>2</sub>	□ H <sub>2</sub> O
	Alcools	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	Acides gras à courte chaîne	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
<b>Acides nucléiques, purines, pyrimidines</b>	Acides aminés	Acides aminés
	Acides gras à courte chaîne	□ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
	Phosphate PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	□ Phosphate PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
	Azote ammoniacal NH <sub>3</sub>	□ Nitrite NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> □ Nitrate NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
	CO <sub>2</sub>	□ CO <sub>2</sub>

□: composé pouvant être oxydé ultérieurement en conditions aérobie.

**Tableau 2: Produits de dégradation par les voies aérobie et anaérobie des principales substances organiques (d'après Gamrasni et Phelippot, 1976).**

environnementales. C'est le cas de certaines espèces de *Scenedesmus* vis-à-vis du glucose. Elles sont euhétérotrophes. En revanche, d'autres algues ont besoin de lumière de façon plus ou moins stricte (photohétérotrophie), ou d'un milieu oxygéné (hétérotrophie aérobie) pour utiliser la matière organique (Wiedeman, 1970)

Le terme "mixotrophie" est synonyme de photohétérotrophie pour Zajic et Chiu

(1970) alors que pour Neilson et Lewin (1974), c'est un besoin de carbone organique pour croître à la lumière, vraisemblablement en raison d'une incapacité d'assimiler le CO<sub>2</sub> à la lumière. Amblard (1991) considère qu'il y a mixotrophie lorsque les nutriments autotrophe et hétérotrophe fonctionnent simultanément.

L'hétérotrophie concerne les métabolismes du carbone, de l'azote et du phosphore (Antia *et al.*, 1976).

Les différentes substances organiques utilisables par les algues sont présentées en annexe 1. Malgré leur diversité, elles semblent moins nombreuses que celles métabolisées par les bactéries ou les champignons.

Pour démontrer l'hétérotrophie d'une espèce, il est nécessaire de prouver qu'elle a un système de transport à haute affinité lui permettant de prélever les composés organiques aux concentrations ambiantes (Vincent et Goldman, 1980). Le transport des métabolites par les algues a été peu étudié. Néanmoins, les travaux portant sur les bactéries peuvent laisser supposer l'existence de trois systèmes différents (Neilson et Lewin, 1974):

- la diffusion passive, qui permet le transport des substrats sans dépense d'énergie.
- le transport actif par établissement d'un gradient de concentration à travers la membrane.
- la fixation et le transport par une enzyme transmembranaire.

D'après Neilson et Lewin (1974), les algues ne présenteraient généralement qu'une faible affinité pour la plupart des substrats. C'est pourquoi la croissance hétérotrophique ne se réalise que dans des milieux où leur concentration est importante.

L'utilisation des substrats au cours du métabolisme a été beaucoup étudiée (Ingram *et al.*, 1973; Neilson et Larsson, 1980; Fingerhut *et al.*, 1990 etc...).

Il semble que (Neilson et Lewin, 1974):

- l'acétate peut être assimilé par de nombreuses algues (par exemple, *Chlamydomonas dysosmos*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Euglena gracilis*...), tant à la lumière qu'à l'obscurité.
- les acides gras saturés comportant moins de 17 carbones permettent la croissance d'espèces telles que *Chlorella pyrenoidosa* ou *Chlorella vulgaris*.
- des algues (comme *Chlorella pyrenoidosa*) métabolisent le glycolate excrété par d'autres algues (dont *Chlorella vulgaris*). C'est une source de glycine, de sérine et d'hydroxypyruvate.

- le glycérol et les hexoses sont utilisés par de nombreuses algues, dont *Prototheca zopfii* parmi les chlorophycées. En revanche, les pentoses inhibent généralement la croissance hétérotrophique.
- les acides aminés peuvent être assimilés et constituer une source d'azote.

L'estimation des contributions relatives de l'hétérotrophie et de l'autotrophie dans la croissance phytoplanctonique se heurte cependant à deux types de problèmes méthodologiques:

- l'interférence bactérienne au cours des mesures (Rachiq *et al.*, 1991)
- l'ambiguïté due à l'absorption de certaines matières organiques qui ne sont pas utilisées pour la croissance ou le métabolisme algal (Amblard, 1991).

#### **4. ACTIONS DES ALGUES SUR LE MILIEU**

Les algues du phytoplancton ont une influence directe sur les conditions physico-chimiques d'un écosystème aquatique.

##### **4.1. Oxygénation**

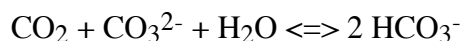
L'oxygène est présent dans l'eau sous forme dissoute ou gazeuse. A une température et une pression données, il existe une quantité maximale d'oxygène sous forme dissoute: c'est la teneur en O<sub>2</sub> pour laquelle l'eau est saturée à 100% (Annexe 2).

La présence de l'oxygène dans l'eau résulte d'une diffusion à partir de l'air au niveau de la surface et surtout de l'activité photosynthétique des végétaux aquatiques, notamment des algues du phytoplancton (Sevrin-Reyssac et Valdeyron, 1989).

Ainsi, dans un milieu contenant beaucoup d'algues productrices d'oxygène par photosynthèse et peu de consommateurs (bactéries, zooplancton, poissons), la teneur en oxygène du milieu va beaucoup varier au cours de la journée: minimale le matin, elle peut atteindre, voire dépasser largement 100% de saturation dans la journée (Goubier, 1989).

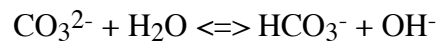
##### **4.2. Consommation de dioxyde de carbone CO<sub>2</sub>**

La consommation de CO<sub>2</sub> par les algues au cours de la photosynthèse va principalement se traduire par une augmentation du pH: le CO<sub>2</sub> réagit en effet avec les carbonates:

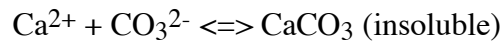


Ainsi, pour chaque molécule de dioxyde de carbone mobilisée, deux molécules de

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> vont se dissocier et une molécule de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> sera produite (Boyd, 1986). Cette molécule surnuméraire va ensuite s'hydrolyser selon la réaction:



Il se reconstitue une molécule de bicarbonate, mais il y a augmentation du pH, du fait de la libération de l'ion OH<sup>-</sup>. Cette augmentation peut cependant être tamponnée en présence d'ions calcium Ca<sup>2+</sup>:



L'augmentation du pH qui résulte de la mobilisation du CO<sub>2</sub> par l'activité photosynthétique se répercute sur l'ionisation de certains ions. Ainsi, la forme toxique NH<sub>3</sub> de l'ammoniac devient de plus en plus abondante lorsque le pH s'élève (Annexe 3).

La solubilité des phosphates est aussi affectée, puisqu'ils tendent à précipiter en milieu basique.

L'augmentation du pH jusqu'à 9-10 rend enfin le milieu toxique pour divers organismes, notamment pour ceux du zooplancton comme les rotifères et les daphnies.

### 4.3. Epuration

En se développant et en prélevant des éléments nutritifs dans le milieu, les algues contribuent à l'épurer. Il est donc possible de dépolluer des eaux usées en utilisant ces végétaux. C'est le principe du lagunage.

Un dispositif est actuellement testé par différentes équipes françaises et étrangères. Il vise à éliminer le lisier de porc, en transformant les éléments nutritifs contenus dans celui-ci en protéines végétales, à savoir les algues du phytoplancton.

Ce lagunage a été élaboré en Belgique (de Pauw *et al.*, 1980). Il a été appliqué sur le terrain dans une station pilote de la région de Bologne, en Italie où les algues (*Chlorella* sp, *Scenedesmus* sp) sont cultivées dans plusieurs bassins d'une superficie totale de 2000 m<sup>2</sup>. Ce système permet d'éliminer annuellement près de 20000 m<sup>3</sup> de lisier à 0,5% de matière sèche. La production algale a été estimée à 30 tonnes de matière sèche par hectare et par an (Salomoni, sous presse).

Des expériences à petite échelle sont aussi menées au Muséum national d'Histoire naturelle en vue d'un transfert de cette technologie dans une station pilote qui a été mise en place au cours de l'été 1992 près de Château-Thierry. Ces expérimentations visent à simplifier le plus possible le système afin de le rendre moins onéreux et plus facile à gérer.

#### 4.4. Action antibactérienne

Les interactions entre les algues et les bactéries sont connues depuis la fin du 19<sup>ème</sup> siècle. Ainsi, c'est l'action antibactérienne des algues, et notamment l'élimination des souches pathogènes, qui a incité à faire intervenir les microalgues dans des systèmes d'épuration comme les lagunages (Ringuelet, 1977).

Plusieurs facteurs peuvent expliquer cet antagonisme:

- l'augmentation du pH due à la photosynthèse est très défavorable aux bactéries (Aubert, 1970a).
- les bactéries pourraient souffrir d'une compétition nutritive vis-à-vis des macronutriments (Jones, 1982) ou des oligoéléments (Rice, 1984).
- les algues libèreraient dans le milieu des substances inhibitrices pour les bactéries.

Cette dernière hypothèse a d'abord été étudiée en 1931 par Akehurst (cité par Maestrini et Bonin, 1981), mais ce sont Pratt *et al.* (1944) qui ont réalisé le premier travail important en démontrant que *Chlorella vulgaris* produisait des substances actives (la chlorelline) ayant une activité antibiotique sur les bactéries Gram+ et Gram-.

Diverses études ont montré que d'autres algues étaient capables de sécréter de telles substances: la scenedesmone pour *Scenedesmus quadricauda*, la pandorinine pour *Pandorina morum*, la phormidine pour *Phormidium* sp. (Lefevre *et al.*, 1952).

Certaines de ces substances (comme par exemple la chlorelline) semblent avoir une action bactéricide, mais pour les autres, seule l'action bactériostatique a pu être montrée (Jorgensen, 1962).

La nature chimique de ces substances actives n'a pas toujours été déterminée, mais elle semble relativement variable:

- La chlorelline serait formée de peroxydes issus de la photooxydation d'acides gras (Scutt, 1964). D'une façon générale, les acides gras (notamment l'acide acrylique et ses composés) sont actifs vis-à-vis des germes Gram+ et Gram-.
- Des dérivés de la chlorophylle, les chlorophyllides, de *Chlamydomonas* sp, *Chlorella* sp et *Scenedesmus* sp ont montré une activité antimicrobienne sur *Bacillus subtilis*, après une photostimulation (Jorgensen, 1962).
- Des substances hydrocarbonées telles que les terpènes ou les phénols présentent également une activité antibactérienne (Aubert, 1970b).

D'après Scutt (1964), la production de ces substances ne serait pas un phénomène général, mais elle ne se produirait que dans certaines conditions critiques. Il semble de plus que la lumière augmente l'inhibition, bien que toutes les substances n'aient pas besoin de photoactivation (Jorgensen, 1962).

Les substances algales extracellulaires ont vraisemblablement une action sur l'élimination des bactéries, mais leur effet inhibiteur varie avec les populations bactériennes (Aubert et Gambarotta, 1972). De plus, l'élimination des bactéries n'est peut-être pas due seulement aux actions directes et indirectes des algues. Ainsi, d'autres prédateurs tels que les bactériophages pourraient intervenir (Aubert, 1970a).

## **5. PRODUCTION ALGALE**

### **5.1. Types de production**

Les algues peuvent être cultivées dans une multitude de récipients: éprouvettes, sacs en polyéthylène, colonnes, dispositif d'héliosynthèse, etc.

A grande échelle, le type de culture algale le plus ancien, et vraisemblablement le plus utilisé, est l'étang de pisciculture fertilisé avec des déchets organiques, décrit par Billard (1980). Cette technique existe depuis deux millénaires en Chine. En élevant séparément certains organismes consommateurs d'algues, la technologie du lagunage a permis d'obtenir des biomasses algales nettement plus importantes.

Il existe d'autres techniques de production algale intensive (Stengel, 1970):

- les bassins circulaires présentant une plate-forme en leur centre. Entre cette plate-forme et le bord du bassin, un dispositif radial rotatif permet d'assurer une agitation et un bullage de CO<sub>2</sub> (Fig. 2).
- les dispositifs de culture algale sur plan incliné (Fig. 2).
- les fermenteurs verticaux (Fig. 2).
- les dispositifs en circuit (raceway), avec des roues à aube créant un courant (Fig. 3).

Ces cultures peuvent être menées à l'extérieur, ou en conditions contrôlées (Fulks et Main, 1991). Le mode de culture peut être continu (une partie de la culture est récoltée en permanence), semi-continu (une partie de la culture est récoltée à intervalles réguliers), ou discontinu (la totalité de la culture est récoltée lorsque la production est maximale).

Les cellules peuvent être libres, ou immobilisées. Dans ce dernier cas, les

bioconversions algales sont beaucoup plus compétitives avec les bioconversions bactériennes. La reproduction des algues est en effet beaucoup plus lente que celle des bactéries, ce qui pose un problème dans les cultures classiques où la multiplication cellulaire doit compenser les inévitables exportations d'algues lors des récoltes.

**Figure 2: Quelques systèmes de production algale (d'après Stengel, 1970; Fulks et Main, 1991):**

- 1- Plan incliné. Les algues sont stockées dans le réservoir de culture (A) et sont apportées, grâce à la pompe (B), au sommet du plan incliné. Les nombreuses cascades leur assurent brassage et homogénéisation au cours de leur descente.
- 2- Bassin circulaire. Les bras mobiles (A) assurent brassage et aération au cours de leur rotation autour du bassin. Vues du dessus (B) et latérale (C).
- 3- Fermenteur vertical de type Turbidostat. La culture des algues se fait dans le réservoir (A). Les paramètres de culture, notamment les apports d'éléments nutritifs (B), sont contrôlés électroniquement (C).

**Figure 3:** Dispositif de culture d'algues en circuit (raceway) utilisé en Italie pour la culture de microalgues vertes sur lisier de porc. L'agitation est assurée par la roue à aube. (AGROBIOTEC, Bologne).

L'immobilisation des cellules permet d'éviter cette perte de biomasse. Néanmoins, le coût actuel des substances d'immobilisation limite encore le développement de cette technique (de la Noüe et Proulx, 1986).

## **5.2. Facteurs de production**

Les facteurs ayant un rôle important sur la production algale sont les suivants (Stengel, 1970; Fulks et Main, 1991):

- *l'éclairement* qui peut aussi être artificiel. Une photopériode de 16 heures de jour est un minimum optimal.
- *la température* dont l'optimum est de 18 à 24°C selon les espèces.
- *le pH* qui doit être compris entre 8,2 et 8,7.
- *les nutriments*: l'azote et le phosphore doivent être apportés selon un ratio



N:P de 6:1. D'autres éléments devront aussi être présents (potassium, magnésium, oligoéléments...).

- *le CO<sub>2</sub>* : principale source de carbone.
- *l'absence de consommateurs herbivores* (Salomoni, 1991; Fulks et Main, 1991) tels que les rotifères pour les espèces d'algues de très petite taille et surtout les daphnies, car ces organismes filtreurs peuvent provoquer un effondrement de la culture.

### **5.3. Choix des emplacements et configuration des bassins**

L'emplacement des bassins devra:

- être ensoleillé pour permettre de bonnes productions algales. Pour cette raison, et à cause des nuisances provoquées par la chute des feuilles, les zones boisées devront être évitées.
- être à proximité du site où se trouve le fertilisant. Un calcul économique réalisé par de Pauw (cité par Plouidy, 1983) a montré que le lisier de porc ne devait pas être transporté sur plus de 10 km.
- avoir de préférence une topographie qui se prête aux écoulements gravitaires entre bassins.
- disposer d'une importante disponibilité en eau. D'après Salomoni (comm. pers.), les besoins en eau sont tels qu'il est nécessaire de la réutiliser (fonctionnement en circuit fermé), même lorsqu'elle est abondante.

Il faudra prendre en compte la nature du sol. Avec un terrain argileux, il ne devrait pas être nécessaire d'imperméabiliser les bassins, mais il faut alors que le système de brassage ne remette pas le sédiment en suspension, ce qui serait très préjudiciable au développement algal. Dans le cas d'un terrain non imperméable, un revêtement de fond (toile de butyle) devra être posé.

La profondeur de la culture ne devra pas être trop importante pour limiter les risques de désoxygénation sur le fond, et afin que les algues reçoivent de la lumière dans toute la couche d'eau. Dans la station pilote italienne, la profondeur de la culture est de 0,3 m en été et de 0,5 m en hiver (Salomoni, sous presse).

### **5.4. Techniques de production**

En ce qui concerne la technologie de culture, l'aération du milieu, et notamment son brassage, est un élément important. En effet, s'il n'est pas strictement nécessaire (de

Pauw *et al.*, 1980), il présente plusieurs avantages.

En empêchant la stratification de la couche d'eau, il permet une meilleure oxygénation de celle-ci, ce qui stimule l'activité des bactéries aérobies. Il accroît la concentration en CO<sub>2</sub> dans le milieu grâce à sa diffusion dans la couche d'eau à partir de l'air. De plus, la sédimentation du phytoplancton est en partie évitée et les échanges de nutriments entre les algues et le milieu sont stimulés (Stengel, 1970; de Pauw *et al.*, 1980).

Cependant, l'aération nécessite une dépense énergétique dont le coût (de 0,5 à 1,04 kW.kg<sup>-1</sup> d'oxygène transféré) peut justifier un fonctionnement intermittent tel que suggéré par de la Noüe *et al.* (1984).

Goubier (1990) a décrit de façon exhaustive les différents appareils de brassage, la roue à aube (SOTR<sup>7</sup>=15 à 20 kg.h<sup>-1</sup> et SAE<sup>8</sup>=2 kg.kW<sup>-1</sup>) paraissant être la plus utilisée pour les cultures d'algues.

## 6. PERFORMANCES DE PRODUCTION

Les performances de production varient avec le type de culture et les volumes mis en jeu.

Dans les systèmes intensifs (fermenteurs), des densités de 10<sup>10</sup> à 10<sup>11</sup> cellules par litre (soit 1 à 3 g d'algues sèches par litre) peuvent être obtenues (de la Noüe *et al.*, 1990).

En systèmes semi-intensifs, des densités de 10<sup>7</sup> à 10<sup>10</sup> cellules par litre sont plus couramment observées (Anonyme, 1991), et des biomasses sèches de 200 mg.l<sup>-1</sup> sont habituellement obtenues (de la Noüe et Proulx, 1986).

Selon Fulks et Main (1991), il est souvent difficile de maintenir une production stable en raison des fréquentes contaminations des cultures par des organismes tels que les rotifères.

## 7. RÉCOLTE DES MICROALGUES

Sauf dans les cas où les algues sont de grande taille (*Spirulina* sp.) ou forment des floculats (*Phormidium* sp.), la récolte des biomasses est difficile à réaliser principalement en raison de la petite taille des organismes (généralement moins de 20 µm), et de la nécessité de traiter des volumes d'eau importants (de la Noüe et Proulx, 1986).

De nombreuses techniques de récolte ont été utilisées: application de traitements

---

<sup>7</sup>Standard oxygen-transfer rate: quantité d'oxygène (en kg) transférée dans l'eau chaque heure.

<sup>8</sup>Standard aeration efficiency: quantité d'oxygène transférée à l'heure, en fonction de la puissance consommée.

physiques, physico-chimiques, ou biologiques (Tabl. 3).

Les traitements physiques (Tabl. 3) sont généralement efficaces, mais trop coûteux. La floculation semble être le meilleur procédé (de la Noüe et Proulx, 1986). De nombreuses études en cours portent d'ailleurs sur un agent flocculant intéressant, le chitosan<sup>9</sup> (Huntley *et al.*, 1989), mais son utilisation n'a pas encore été développée à grande échelle.

C'est cependant le traitement biologique qui consiste à distribuer les algues à des organismes du zooplancton qui semble être le procédé d'utilisation des biomasses d'algues le plus prometteur.

## **8. UTILISATION DES ALGUES**

### **8.1. Alimentation d'animaux aquatiques, et notamment des daphnies**

Il est possible d'alimenter avec les microalgues des organismes ayant de fortes capacités de filtration, qui sont plus faciles à récolter que les algues, et qui, en outre, présentent un intérêt économique.

Les plus utilisés ont été les rotifères (Pl. 2) car ils servent d'aliment aux alevins dès résorption de la vésicule vitelline (Fulks et Main, 1991).

Ce sont des organismes de 0,1 à 1 mm, qui appartiennent au groupe des vers (Pourriot, 1965). Leur cycle biologique fait généralement appel à la parthénogenèse, ce qui leur permet d'atteindre rapidement des densités considérables, de l'ordre de 10000 ind.l<sup>-1</sup> (Sevrin-Reyssac, 1985). Leur temps de génération est de 2-3 d à 20°C (Sevrin-Reyssac, *ibid*), de sorte qu'ils colonisent les premiers un plan d'eau. La reproduction sexuée ne survient que lorsque les conditions du milieu se dégradent.

La plupart des rotifères se nourrissent par filtration grâce à un appareil ciliaire péribuccal et un appareil masticateur, le mastax, formé de plusieurs pièces articulées les unes aux autres (Dussart, 1966).

---

<sup>9</sup>Dérivé déacétylé de la chitine (Jeuniaux et Thomé, 1990)



L'organisme de prédilection pour éliminer les microalgues est la grande daphnie (*Daphnia magna* Straus). Ce crustacé cladocère (Pl. 2) filtre en effet des volumes d'eau<sup>10</sup> 5000 fois plus importants que les rotifères (Angeli, 1980). Les daphnies sont fréquentes dans les milieux riches en matières organiques et non empoisonnés. Elles ont de 7 à 8 mm au stade adulte. C'est la plus grande forme du zooplancton des eaux douces.

Comme pour les rotifères, son cycle de reproduction fait appel à la parthénogenèse, sauf lorsque les conditions deviennent défavorables. Dans ce cas, la reproduction sexuée apparaît et les femelles produisent des oeufs de durée appelés éphippies.

Les daphnies se nourrissent par filtration grâce à un appareil muni de soies qui s'écartent plus ou moins en fonction de la taille des particules alimentaires présentant les plus grands effectifs dans leur environnement. Cette faculté leur permet de limiter la dépense d'énergie requise pour la filtration (Sevrin-Reyssac et Delsalle, 1990).

Le facteur de conversion entre les algues et les daphnies est élevé (0,4), et les quantités de biomasse de daphnies obtenues sur cultures d'algues sont appréciables: 3,6 g d'organismes frais.l<sup>-1</sup>.sem<sup>-1</sup>. sur effluents urbains (de la Noüe et Proulx, 1986), 80 t.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> dans le système pilote italien dans lequel les daphnies sont alimentées avec des algues cultivées sur lisier de porc (Salomoni, 1991).

Comme l'indiquent de la Noüe et Proulx (1986), "grâce à son caractère ubiquiste et à sa composition (jusqu'à 60% de protéines sur une base de poids sec), le cladocère *Daphnia magna* présente un fort potentiel pour l'épuration des eaux et la production similaire de biomasse". C'est vraisemblablement pour cela que son élevage se développe actuellement (Salomoni, sous presse; Bailly *et al.*, 1989; Sevrin-Reyssac, 1991b) à travers des systèmes alliant épuration et aquaculture.

D'autres organismes zooplanctoniques peuvent être produits avec les daphnies. C'est le cas des copépodes qui sont des crustacés présents en abondance dans les eaux continentales (Dussart, 1966). Les cyclopoïdes (Pl. 2, 9) se développent dans les milieux peu profonds et riches en matières organiques. Ils sont présents en grand nombre dans les lagunages et les milieux piscicoles où ils provoquent des pertes, car ils sont carnassiers et

---

<sup>10</sup>80 ml.ind<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>

**PLANCHE 2: ZOOPLANCTON****Cladocères**

1, *Daphnia magna*: femelle parthénogénétique (A), femelle éhipiale (B) et oeuf de durée ou éhippie (C); 2, *Chydorus ovalis*

**Rotifères**

3, *Brachionus leydigi*; 4, *Brachionus calyciflorus*; 5, *Keratella quadrata*; 6, *Epiphanes senta*

**Copépodes**

7, *Diaptomus* spp.; 8, métanauplius de *Cyclops strenuus*; 9, adulte de *Cyclops strenuus*

**Ostracode**

10, *Potamocypris smaragdina*.

Echelle: 100  $\mu\text{m}$

très agressifs vis-à-vis des alevins. Les calanoïdes (Pl. 2, 7), filtreurs phytophages, se rencontrent plutôt dans les lacs et les milieux peu eutrophisés.

Les ostracodes du genre *Cypris* et les chydoridés sont aussi associés aux daphnies. Ces organismes présentent la particularité d'être périphtiques, c'est à dire qu'ils vivent inféodés aux parois. Leur faible capacité de filtration ne permettent pas de les utiliser pour récupérer les biomasses algales produites.

D'autres organismes tels que des moules d'eau douce (*Dreissensia polymorpha* Pallas) ou des poissons phytoplanctonophages (*Hypophthalmichthys molitrix*) sont actuellement testés pour leurs capacités à consommer les microalgues.

## **8.2. Alimentation humaine et animale**

C'est pour des raisons alimentaires que la culture des microalgues a eu un important développement à l'issue de la deuxième guerre mondiale. Les microalgues semblaient en effet prometteuses, du fait de leur composition et notamment de leur richesse en vitamines.

Pourtant, les microalgues fraîches sont mal assimilées, car leur paroi épaisse est indigeste pour les monogastriques (Soeder et Pabst, 1970). Un traitement thermique ou mécanique est nécessaire pour augmenter leur digestibilité (Soeder et Pabst, 1970). En outre, leur déficience en acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) implique une supplémentation de l'alimentation (de la Noüe et Proulx, 1986).

Enfin, il ne faut négliger ni les risques de toxicité des algues à un haut degré d'incorporation, ni les risques sanitaires en cas de dysfonctionnement de la culture recevant le déchet organique.

Actuellement, seule la spiruline semble avoir été vraiment utilisée en alimentation comme condiment et en apport protéique (Clément et van Landeghem, 1970; Iltis, 1974; Fox, 1986).

## **8.3. Utilisations industrielles**

Il s'agit vraisemblablement d'une utilisation plus prometteuse que la production de protéines d'origine unicellulaire (SCP, Single Cell Protein) alimentaires. Un grand nombre de substances peuvent être extraites des algues:

### 8.3.1. Colorants

Actuellement, le  $\beta$ carotène et la phycocyanine sont les deux seules substances d'origine algale à avoir été commercialisées (de la Noüe *et al.*, 1990).

La phycocyanine est extraite de *Spirulina* spp. C'est un pigment bleu utilisé dans les industries cosmétiques et alimentaires, sous le nom de Linablue (Morice et Jamma, 1992). Hautement purifiée, elle possède des propriétés de fluorescence qui la font utiliser dans des tests d'immunodiagnostic. Il est possible qu'elle intervienne dans le traitement du SIDA. Son prix est de 50\$ US le milligramme purifié (Morice et Jamma, 1992).

Le  $\beta$ carotène est un autre colorant, actuellement extrait de *Porphyridium cruentum*, qui sert notamment à colorer la margarine. Il sert aussi en pharmacie comme provitamine A, en cosmétique comme produit bronzant, et en aquaculture pour colorer la chair des truites (Morice et Jamma, 1992).

D'autres colorants peuvent être extraits des microalgues: ce sont les phycobilliprotéines (Huntley *et al.*, 1989), utilisées également comme marqueurs fluorescents.

### 8.3.2. Polysaccharides

Ce sont des agents visqueux ou gelifiants.

Les microalgues peuvent en produire, bien qu'elles ne soient pas encore compétitives avec les bactéries ou les macroalgues (de la Noüe *et al.*, 1990).

### 8.3.3. Vitamines et autres produits

Les microalgues semblent être compétitives comme sources de vitamines A, B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, D, E et K (de la Noüe *et al.*, 1990).

D'autres substances peuvent être extraites: ce sont les acides gras polyinsaturés (comme l'acide arachidonique, l'acide eicosapentaénoïque, et l'acide docosahexaénoïque) utilisés dans les régimes anticholestérol et diététiques, les antioxydants (SOD, tocophénols), et les substances antibactériennes et fongiques.

### 8.3.4. Imperméabilisants

D'après Huntley *et al.* (1989), il serait possible d'imperméabiliser des terrains avec des tapis d'algues et de bactéries.

## 8.4. Autres utilisations.

Actuellement, l'élimination du lisier de porc et des autres déchets d'élevage se fait essentiellement par épandage sur les terres agricoles. Pourtant, en dépit de leur qualification d'"organiques", ces déchets sont surtout formés de matières minérales (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>). Certaines (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) migrent rapidement dans le sol et polluent



la nappe phréatique.

Pour éviter cette pollution, il est possible de cultiver des algues à partir de ces déchets organiques, et de les épandre ensuite par l'eau d'irrigation. Les matières organiques contenues dans les algues établiront alors des liaisons avec les argiles du sol en formant un complexe argilo-humique qui ne libérera ses matières minérales que très progressivement, préservant ainsi la nappe phréatique.

**C'est à partir des connaissances des relations qui lient les organismes d'un écosystème aquatique (Fig. 4) que des dispositifs de lagunage, dans lesquels des microalgues jouent un rôle épurateur et servent à produire une biomasse valorisable, ont été élaborés.**

**Ces systèmes sont encore complexes. Les expériences, qui sont décrites dans la suite de ce travail, s'intègrent dans un programme destiné à simplifier leur gestion.**

**Figure 4: Représentation simplifiée des relations au sein d'un écosystème aquatique (d'après Guerrin, 1990).**

## **DEUXIÈME PARTIE**

### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

Les expérimentations ont été effectuées au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris du 13 mai 1991 au 7 juillet 1992. Elles consistent en de nombreuses approches à petite échelle destinées à mieux comprendre la réponse d'une culture d'algues à des apports importants de nutriments. Ces approches ont nécessité l'utilisation de milieux de culture de volumes très différents.

#### **1. MILIEUX EXPÉRIMENTAUX**

Les cultures algales ont été réalisées pour l'essentiel dans les conditions naturelles, c'est-à-dire à l'extérieur, et pour des points particuliers, sous éclairage artificiel.

A l'extérieur, les milieux expérimentaux comprenaient:

- 3 enceintes en plastique de 700 litres et de 35 cm de profondeur. Le 17 avril 1992, une quatrième enceinte identique a été ajoutée pour les besoins de l'expérience.
- 6 enceintes de 1100 litres et de 55 cm de profondeur.
- 1 aquarium en verre de 30 litres et 8 enceintes en plastique de 5 litres.

Sous éclairage artificiel, 2 enceintes en plastique de 5 litres ont été utilisées.

#### **2. MESURES ET PRÉLÈVEMENTS EFFECTUÉS DANS LES CULTURES D'ALGUES**

Un suivi physico-chimique et biologique a été effectué une fois par semaine du 13 mai 1991 au 7 juillet 1992, dans les enceintes de 700 et de 1100 l. Les prélèvements et les mesures ont eu lieu le matin, entre 9h30 et 11h.

*- Température et oxygène dissous*

La température (en °C) et la concentration en oxygène dissous (en mg.l<sup>-1</sup>) ont été mesurées en subsurface (10 cm de profondeur environ) à l'aide d'un oxythermomètre Ponselle à lecture digitale directe. Les pourcentages de saturation ont été calculés à partir de la table de Dussart (1966) en annexe 2.

- *pH*

Il a été mesuré en subsurface avec un pHmètre Ponselle.

- *Transparence*

Elle a été estimée à partir de la profondeur de disparition du disque de Secchi (disque de couleur blanche de 28 cm de diamètre).

- *Prélèvements*

Un échantillon d'eau de 1,5 litres a été prélevé pour les analyses chimiques, le dosage de la chlorophylle *a*, et la mesure des matières en suspension.

Un autre échantillon (50 ml) a immédiatement été formolé à 5% pour identification et numération des algues au microscope inversé.

Le zooplancton a été récolté en filtrant 5 l de la culture algale sur un filet d'une maille de 40 µm. Le matériel collecté a ensuite été fixé au formol à 5%.

### 3. ANALYSES ET OBSERVATIONS RÉALISÉES AU LABORATOIRE

Les analyses ont été réalisées avec un spectrophotomètre HACH (DR/2000) et en utilisant des réactifs de même marque. Avant d'être soumis aux analyses, tous les échantillons ont été filtrés sur filtre Whatmann GF/C. Le volume filtré a été de 0,5 l pour chaque enceinte expérimentale.

Les méthodes d'analyse utilisées ont été les suivantes:

- *Azote ammoniacal* (en mg.l<sup>-1</sup> N-NH<sub>4</sub>)

Méthode de Nessler et lecture de la densité optique à 425 nm.

- *Azote nitrique* (en mg.l<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub>)

Méthode de réduction au cadmium (500 nm).

- *Azote nitreux* (en mg.l<sup>-1</sup> N-NO<sub>2</sub>)

Méthode "Diazotation" à 507 nm.

- *(Ortho)Phosphate* (en mg.l<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)

Méthode "Molybdovanadate" à 430 nm.

- *Tanins et lignines totaux* (en mg.l<sup>-1</sup>)

Méthode "Tyrosine" à 700 nm. Cette méthode enregistre tous les composés aromatiques hydroxylés, incluant les tanins, la lignine, les phénols et crésols.

- *Turbidité* (en FTU: Formazine Turbidity Unit)

Mesure à 450 nm de la dispersion et de l'absorption de la lumière par les particules de matières en suspensions présentes dans l'échantillon.

- *Estimation du poids de matières en suspension* (en g de MES)

Filtration d'un volume de 50 ml à 1 l, suivant la richesse en MES, sur filtre Whatmann GF/C et mesure pondérale (balance de précision SARTORIUS ayant une précision de  $\pm 0,1$  mg) après dessiccation à 80°C jusqu'à poids constant.

- *Dosage de la chlorophylle a* (en mg.l<sup>-1</sup>)

Suivant la richesse du milieu, 50 ml à 1,25 l ont été filtrés sur filtre Whatmann GF/C. Les filtres sont ensuite mis à sécher sur silicagel, au froid et à l'obscurité pendant au moins 24 heures puis placés dans de l'acétone pure pendant 24 h à 4°C afin de dissoudre la chlorophylle. La solution acétonique est centrifugée à 3000.g<sup>11</sup> pendant 5 minutes et le surnageant est pipeté et placé dans la cuve du spectrophotomètre. La lecture de la densité optique se fait à 663 nm.

- *Détermination et numération des algues*

Les algues ont été déterminées au microscope inversé (200X) à l'aide des planches et clés de détermination de Ward et Whipple (1918), Bourrelly (1966) et Cardinal (1979). Le pourcentage de chaque espèce a été calculé. Des numérations ont aussi été faites selon la méthode d'Utermöhl après une décantation de 24 heures, par comptage exhaustif des algues présentes dans un sous échantillon de volume connu dilué 100 fois.

- *Détermination et numération du zooplancton*

Les organismes sont déterminés au microscope inversé (100X) à l'aide des ouvrages de Ward et Whipple (1918), Amoros (1984), Pourriot et Francez (1986), puis dénombrés dans un volume connu.

- *Analyses du lisier de porc*

Le lisier a été centrifugé pendant 10 minutes à 3000.g<sup>11</sup>. Le surnageant a été pipeté et dilué de 100 à 5000 fois selon sa richesse en éléments minéraux. Les dosages de l'azote ammoniacal, du nitrate, du nitrite et du phosphate ont été réalisés avec la même technique que pour les échantillons d'eau. Le poids de matière sèche (MS) a été obtenu en faisant la différence entre le poids d'un échantillon de 10 ml de lisier avant et après dessiccation de cet échantillon placé dans une étuve à 105°C jusqu'à poids constant.

---

<sup>11</sup>g $\approx$ 9,81 m.s<sup>-2</sup>

## 4. PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

### 4.1. Suivi des populations algales en fonction de la saison et de la fertilisation apportée

Il a été réalisé entre le 13 mai 1991 et le 7 juillet 1992 dans 3 puis 4 enceintes de 700 l.

En début de culture, chacune a reçu un inoculum d'algues dont le volume représentait 20% du volume total. A partir du 11 octobre 1991, deux carpes communes (poids individuel compris entre 130 et 215 g) ont été mises dans chaque milieu de culture.

La fertilisation organique était exclusivement constituée d'un lisier d'une porcherie de Seine et Marne où il était stocké directement sous la litière.

Le lisier est un mélange des fèces, de l'urine et des eaux de lavage. Au cours de son stockage, trois couches se forment (Gledel, 1985):

- une masse spongieuse se retrouve en surface. C'est un mélange de paille, de matières cellulosiques et de débris alimentaires. Elle peut se couvrir d'une couche plus ou moins desséchée et spongieuse.
- une boue résulte de la sédimentation des particules lourdes.
- entre les deux, un liquide plus ou moins fluide composé essentiellement d'urine et d'eau. C'est cette fraction qui a servi aux expérimentations du Muséum.

Trois lisiers différents ont été utilisés. Leurs compositions et surtout leurs teneurs en matières sèches ont été très différentes (Tabl. 4).

Composition	Lisier 1	Lisier 2	Lisier 3	Fertilisant minéral
Azote ammoniacal (mg N.l <sup>-1</sup> ) 1)	1600	1030	3600	4441
Nitrate (mg N.l <sup>-1</sup> )	520	580	660	6000
Nitrite (mg N.l <sup>-1</sup> )	2,5	11,2	6	6
Phosphate (mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> .l <sup>-1</sup> )	320	290	1680	2800
Matière sèche (%)	0,64	0,52	12	-

**Tableau 4:** Composition des différents fertilisants utilisés au cours des expérimentations.

Le lisier utilisé à partir du 26 septembre 1991 a été dilué 3 fois, en raison de sa très grande richesse en éléments minéraux et organiques. Les volumes épandus sont présentés en annexe 4.

La fertilisation est apportée en même temps qu'un certain volume d'eau (de 30 à 200 l suivant la saison). Ce volume représente le flux. Le même volume de culture d'algue est retiré avant tout nouvel apport et sert à alimenter des élevages de zooplancton (daphnies).

Le temps de rétention de l'eau dans les cultures d'algues est déterminé par le rapport entre le volume de la culture et le flux journalier.

Dans les expériences qui se sont déroulées du 13 mai au 17 avril, le lisier et l'eau de dilution ont été mélangés dans une enceinte séparée, et déversés dans les cultures d'algues de façon continue tout au long de la journée. Dans un souci de simplification, ils ont ensuite été apportés et mélangés directement dans les enceintes à phytoplancton, en début de matinée.

A partir du 17 avril, la fertilisation organique a été interrompue dans deux enceintes expérimentales ( $\varphi_1$  et  $\varphi_2$ ) qui ont alors reçu une fertilisation minérale composée d'ammonitrate et de superphosphate (Tabl. 4), afin d'étudier l'influence de ce type de fertilisation. Les deux autres enceintes ( $\varphi_3$  et  $\varphi_4$ ) ont reçu du lisier de porc.

#### **4.2. Action des tanins sur la population algale**

Dans un premier temps, l'impact de la décomposition des feuilles sur les cultures d'algues a été étudié du 27 octobre au 7 décembre 1991 dans trois enceintes de 700 l, et, du 1<sup>er</sup> au 29 avril 1992, dans six cultures de 500 l. Par la suite, au printemps 1992, deux milieux ont reçu des feuilles mortes, de façon à couvrir complètement le fond de l'enceinte. Ces feuilles avaient été mises à sécher pendant l'hiver et humidifiées juste avant leur utilisation.

Deux autres milieux ont reçu le filtrat obtenu après une semaine de macération de feuilles dans de l'eau (filtration sur un filet de 40  $\mu\text{m}$  de vide de maille). La quantité de feuilles a été identique dans les quatre cultures. Deux enceintes témoins n'ont rien reçu. Les six milieux ont été mis en culture avec un inoculum de 100 l et une fertilisation de 1,5 l de lisier. Aucune fertilisation ultérieure n'a été apportée.

Un suivi physico-chimique (ammoniac, nitrate, nitrite, phosphate, tanins, chlorophylle, température, oxygène, pH) et biologique (algues, zooplancton) a été réalisé une fois par semaine dans tous les milieux.

### **4.3. Effet de l'aération sur les cultures d'algues**

A partir du 31 juillet 1992, deux cultures (volume: 5l) ont été lancées sous éclairage artificiel 24h/24, à partir d'un échantillon de 10 litres prélevé dans une enceinte de 700 l. Une des cultures était bullée en permanence alors que l'autre était simplement agitée manuellement à raison d'une fois par 24 h.

Un suivi de l'azote ammoniacal, des nitrates, des nitrites et des phosphates y a été réalisé. La demande chimique en oxygène (DCO) a été mesurée au spectrophotomètre grâce à la méthode "Digestion par réacteur". La biomasse bactérienne a été estimée en suivant la développement de colonies sur un milieu TSB<sup>12</sup> gélosé.

A partir du 7 août 1992, seule la biomasse bactérienne a été suivie dans deux nouvelles cultures identiques.

## **5. CRITIQUE DES MÉTHODES**

La diversité des approches ne permettait pas un suivi de chacune d'elles pendant très longtemps. Certaines expériences (notamment celles portant sur l'étude du temps de rétention, l'influence de l'ensoleillement ou la sédimentation) auraient du être renouvelées à différentes saisons.

Cette multiplication des expérimentations était cependant nécessaire pour apporter des éléments de gestion pour le système pilote qui a été mis en place au début de l'été 1992 sur la ferme expérimentale de l'UCAAB<sup>13</sup> dans le département de l'Aisne.

---

<sup>12</sup>Tryptone Soya Broth commercialisé par Unipath SA.

<sup>13</sup>Union des coopératives agricoles d'alimentation du bétail.

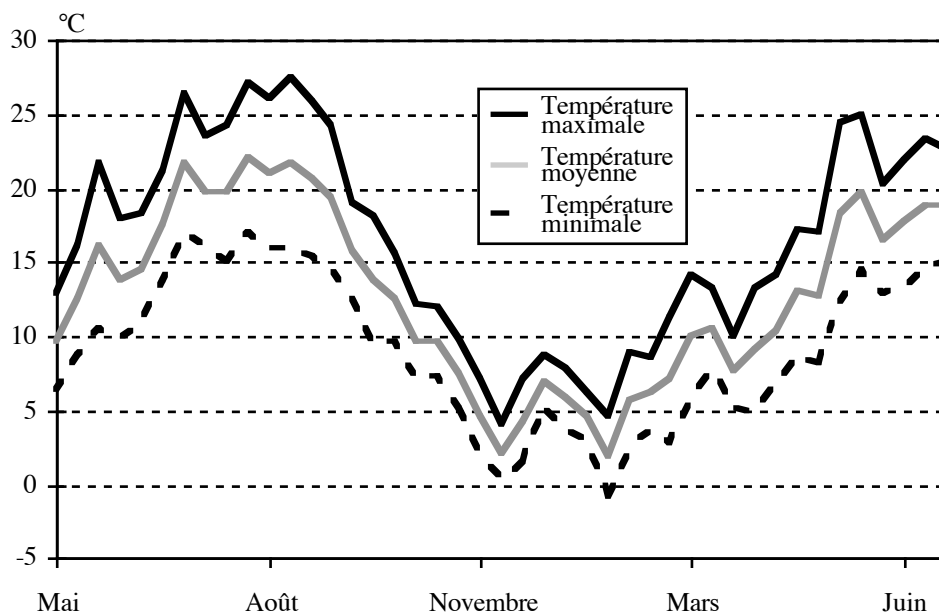


## TROISIÈME PARTIE RÉSULTATS

### 1. CONDITIONS CLIMATIQUES

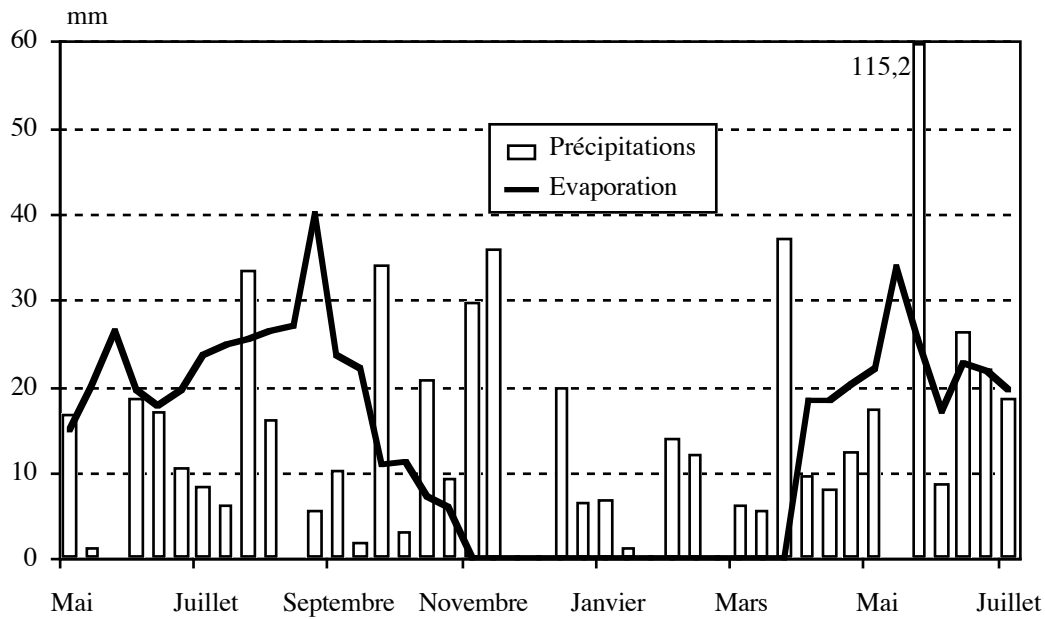
Les cultures d'algues ont été réalisées en extérieur; aussi ont-elles été directement soumises aux conditions climatiques.

La période expérimentale s'est étendue sur quatre saisons. Le printemps 1991 (mai-juin) a été froid (Fig. 5). Il a également été sec, puisque sur l'ensemble des mois de mai et juin, le déficit hydrique a été de 53,5 mm (Fig. 6). L'ensoleillement quotidien a été en moyenne de 7h pendant ces deux mois et le rayonnement moyen de  $14\ 620\ \text{J.m}^{-2}$  (Fig. 7).

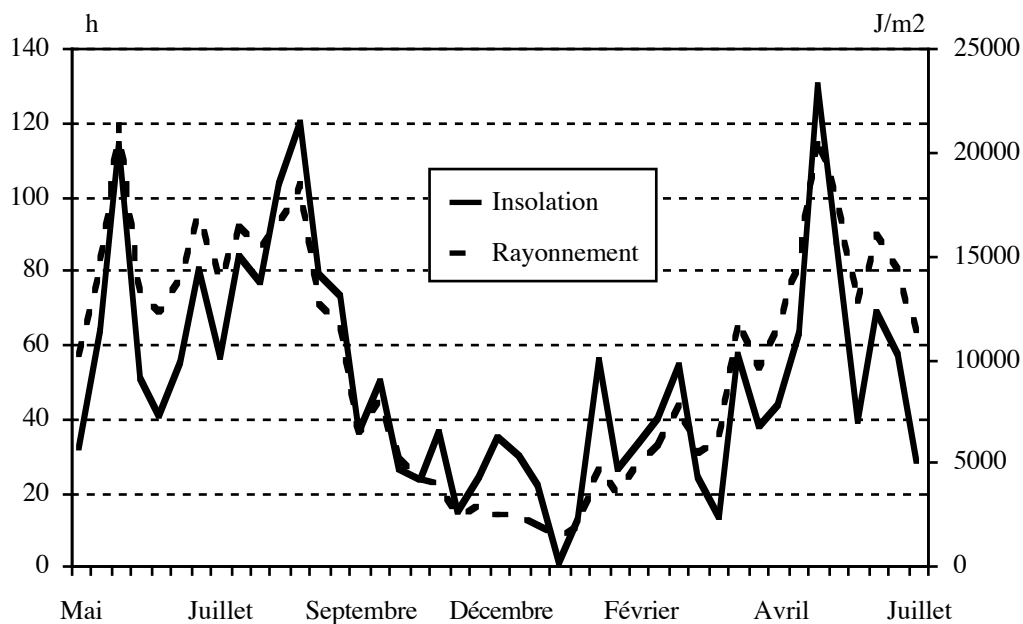


**Figure 5:** Evolution de la température de l'air entre mai 1991 et juillet 1992 (données de la Météorologie nationale fournies par décade).

L'été 1991 (juillet, août, septembre) a en revanche présenté des températures plus élevées ( $20^{\circ}\text{C}$  en moyenne), mais il a surtout été caractérisé par une accentuation de la sécheresse puisque le déficit hydrique de ces trois mois a été de 107,5 mm. L'ensoleillement quotidien pendant cette saison a été en moyenne de 11h30, pour un rayonnement de  $15250\ \text{J.m}^{-2}$  (en ne prenant pas en compte la dernière décade de septembre pendant laquelle il a été plus faible).



**Figure 6:** Evolutions des précipitations et de l'évaporation entre mai 1991 et juillet 1992 (données de la Météorologie nationale fournies par décade).



**Figure 7:** Evolutions de l'insolation et du rayonnement entre mai 1991 et juillet 1992 (données de la Météorologie nationale fournies par décade).

L'hiver 1991/1992 (octobre à mars) a été froid bien que les températures aient été relativement élevées en décembre et février. Du fait de l'absence d'évaporation, le déficit hydrique ne s'est pas accentué, mais les précipitations hivernales ont quand même été faibles (208 mm). L'insolation quotidienne (moins de 3h) et le rayonnement ( $4193 \text{ J.m}^{-2}$ )

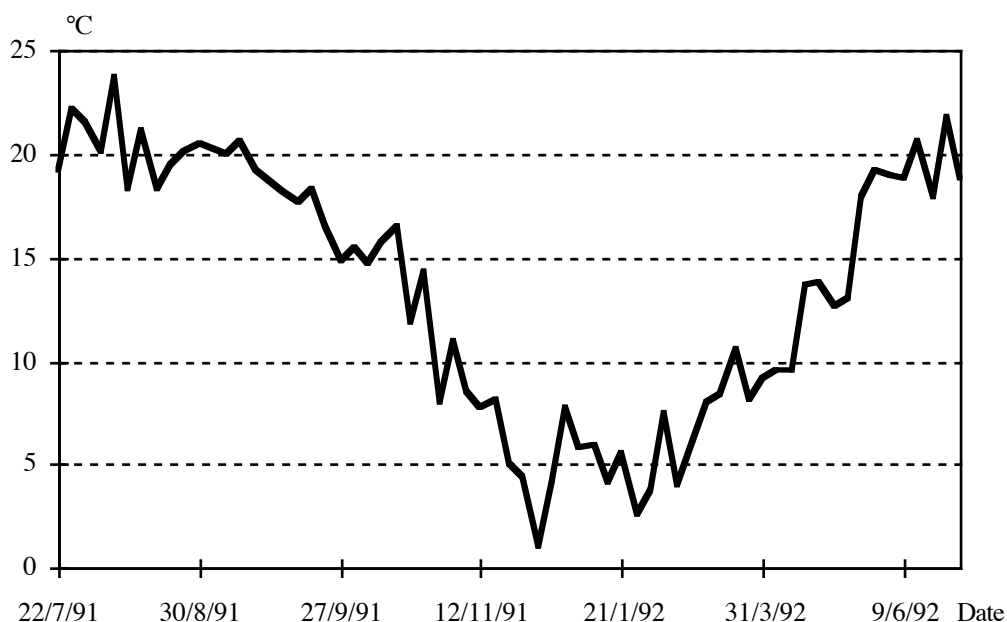
ont bien entendu présenté leurs minima.

Le printemps 1992 (avril-mai-juin) a été plus chaud que l'année précédente (17,3°C contre 14,1 en mai-juin 1991). Il a également été sec, mais une période de précipitations orageuses (115,2 mm en 10 jours) a permis de combler le déficit pluviométrique printanier (-69,5 mm). L'insolation quotidienne a été de 6h30 (7h30 pour mai-juin), et le rayonnement moyen de 14380 J.m<sup>-2</sup> (16045 J.m<sup>-2</sup> en mai-juin).

## 2. PHYSICO-CHIMIE

### 2.1. Température de l'eau dans les enceintes

La température de l'eau a varié entre 23,8°C au cours du mois d'août et 1,1°C au mois de décembre (Fig. 8).



**Figure 8:** Evolution de la température de l'eau, à 10 cm sous la surface, dans toutes les enceintes du 22 juillet 1991 au 7 juillet 1992.

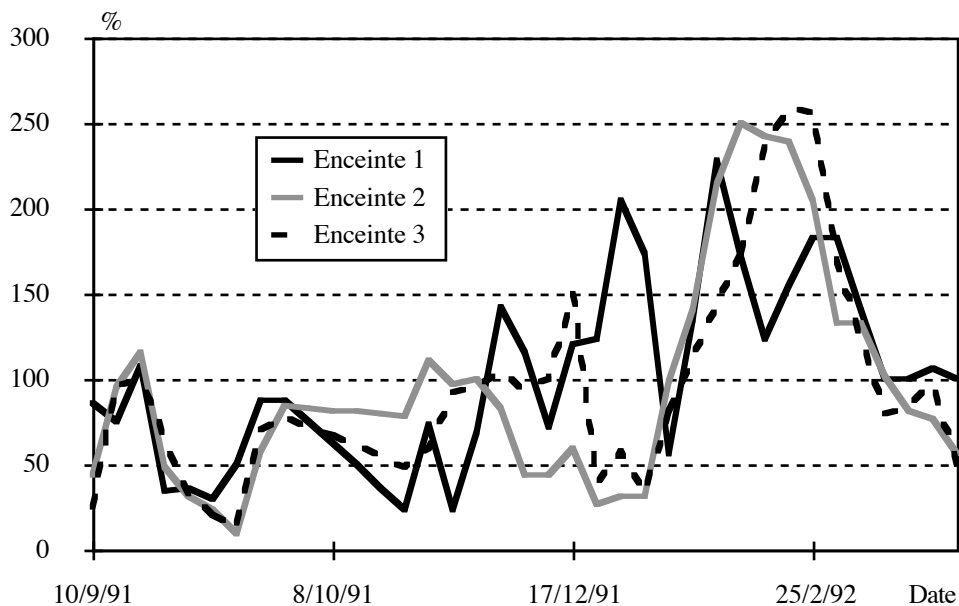
Les températures estivales ont oscillé autour de 20°C (du 22 juillet au 10 septembre 1991 et du 26 mai au 14 juillet 1992), alors qu'en hiver (26 novembre-18 février), elles étaient voisines de 5°C. Le gel qui a provoqué la formation d'une couche de glace en surface est apparu à trois reprises: du 9 au 16 décembre 1991; du 22 au 27 janvier 1992 et du 18 au 21 février 1992.

Les températures automnales et printanières ont en outre été assez douces.

### 2.2. Oxygène dissous dans les enceintes

L'évolution du pourcentage de saturation en oxygène de l'eau est généralement

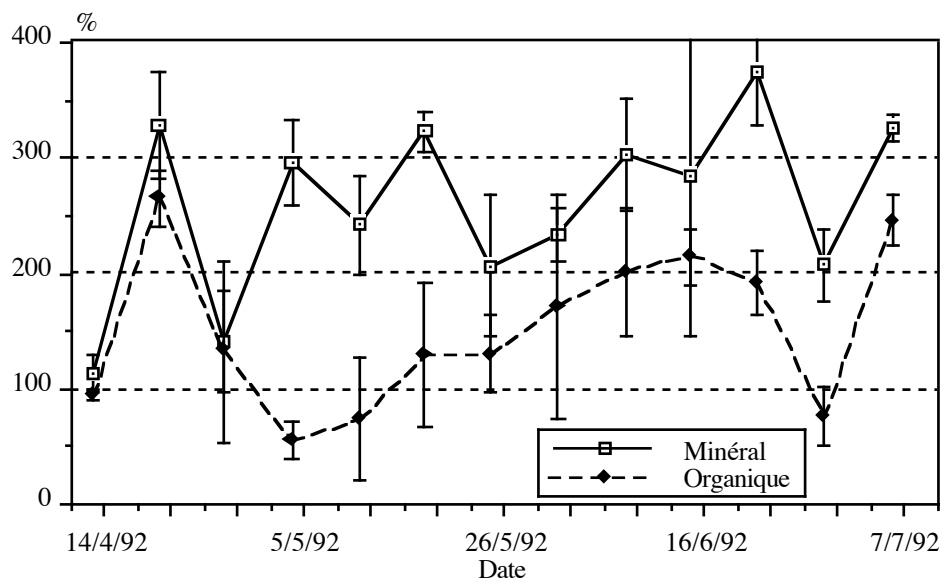
semblable dans les différents milieux de culture (Fig. 9 et 10).



**Figure 9:** Evolutions des pourcentages de saturation en oxygène de l'eau dans trois enceintes de culture algale du 10 septembre 1991 au 7 avril 1992.

Au cours de l'été et de l'automne, les cultures n'ont pas été saturées en oxygène, en raison de l'abondance des bactéries, grandes consommatrices, et de la température élevée de l'eau. En revanche, pendant l'hiver 1991/1992, le milieu s'est progressivement oxygéné. Une sursaturation de 258% a même été observée le 18 février 1992. Elle peut s'expliquer par la diminution des apports de fertilisant organique à partir du mois de novembre, et par la baisse des températures qui a permis une meilleure dissolution de l'oxygène dans l'eau (Fig. 8).

A partir du 28 avril, dans les deux milieux recevant une fertilisation minérale, les pourcentages de saturation ont été particulièrement élevés (près de 400%), alors que la teneur en oxygène dissous dans les deux milieux fertilisés organiquement était nettement plus faible (jusqu'à 33% de déficit). Il est évident que cette différence tient à la nature du fertilisant, puisque les apports minéraux stimulent essentiellement l'activité des algues productrices d'oxygène et non celle du bactérioplancton.



**Figure 10:** Evolutions des pourcentages de saturation en oxygène de l'eau dans quatre enceintes du 14 avril et le 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

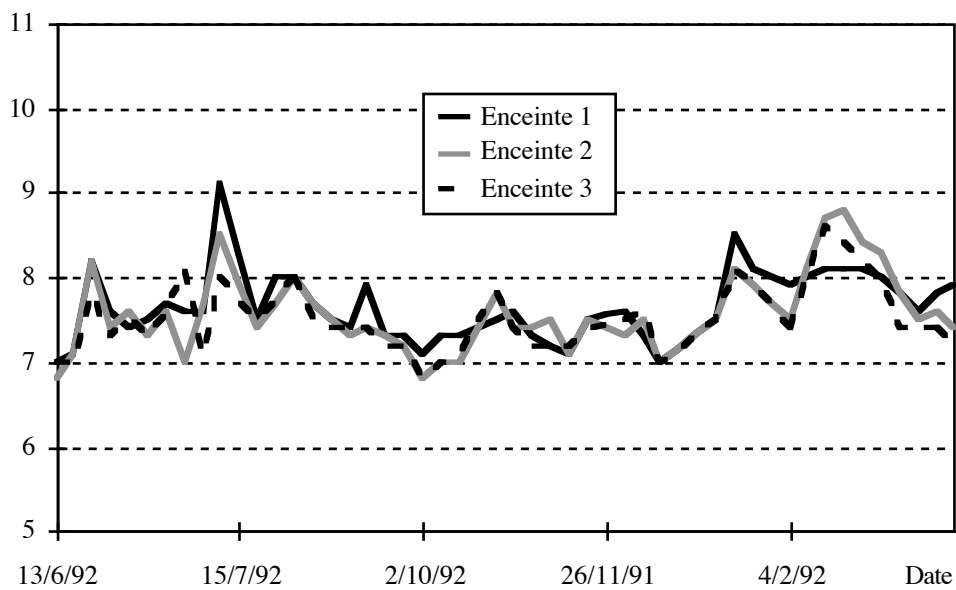
Les variations de la teneur en oxygène dissous sont aussi imputables à la formation d'une couche de glace en surface. Celle-ci limite en effet les échanges gazeux. L'oxygène issu de la photosynthèse ne peut être évacué dans l'atmosphère et s'accumule dans le milieu, entraînant de très importantes sursaturations. Avec la disparition de la couche de glace, un dégagement d'oxygène s'est manifesté sous forme de microbulles gazeuses (dégazage).

### 2.3. pH dans les enceintes

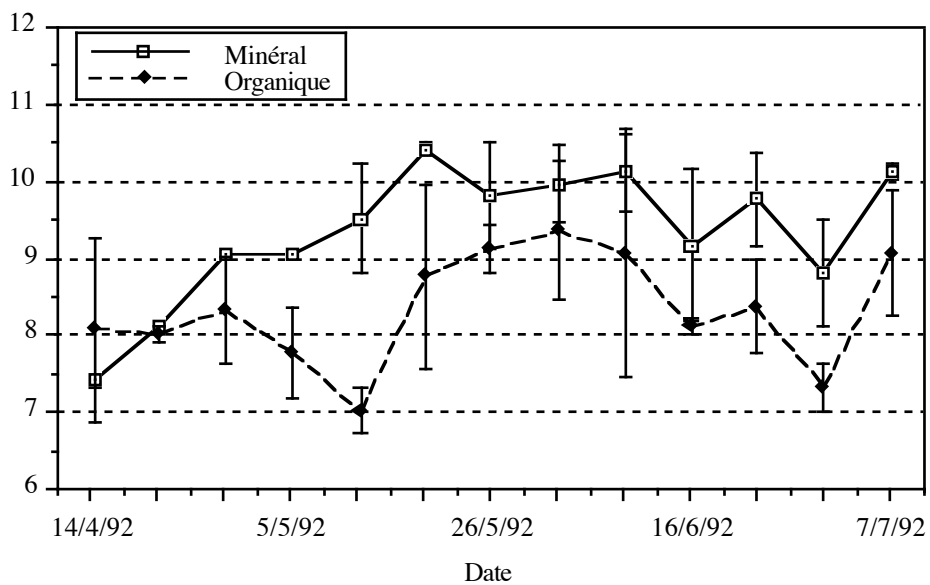
Le pH des cultures algales (Fig. 11 et 12) est resté relativement faible jusqu'en mars 1992 (< 8), comparé aux valeurs de 8 à 9, plus couramment observées dans des milieux similaires (Fulks et Main, 1991).

Ce paramètre traduit l'activité photosynthétique algale. Elle a donc été faible jusqu'en mars-avril 1992, en raison des nombreuses nuisances apparues dans les cultures du fait de l'absence de brassage (voir la quatrième partie).

A partir du mois d'avril 1992, des pH élevés (9 voire 10) ont été observés, traduisant la vitalité des cultures. Toutefois, deux baisses ont été enregistrées les 12 mai et 30 juin 1992 dans les enceintes recevant du lisier. Elles correspondent à une forte diminution des populations algales.



**Figure 11:** Evolutions du pH de l'eau dans trois enceintes de culture algale du 13 juin 1991 au 7 avril 1992.



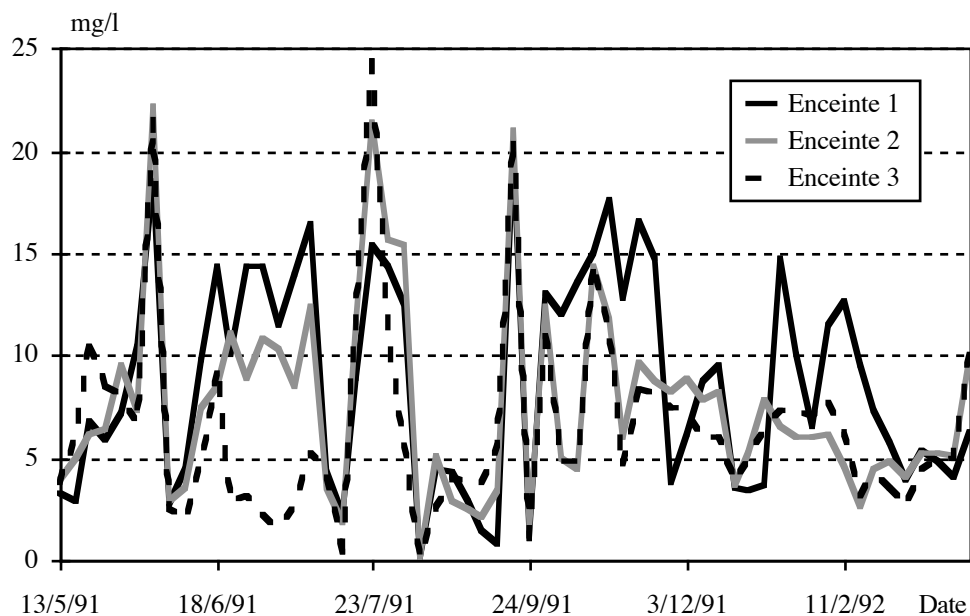
**Figure 12:** Evolutions du pH dans quatre enceintes entre le 14 avril et le 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Les pH observés dans les cultures recevant une fertilisation minérale ont été plus élevés que dans les enceintes fertilisées avec du lisier. Ceci est certainement dû à l'activité des bactéries (qui sont plus nombreuses dans les milieux recevant des matières organiques (voir la quatrième partie) et non à un mauvais état physiologique des algues.

## 2.4. Eléments nutritifs minéraux

### - Azote ammoniacal

La concentration en azote ammoniacal a beaucoup varié (de 0 mg.l<sup>-1</sup> à 24,4 mg.l<sup>-1</sup>), en fonction de la fertilisation apportée (Fig. 13 et 14). La mesure de l'azote ammoniacal a en effet servi à déterminer le volume de fertilisant à apporter.



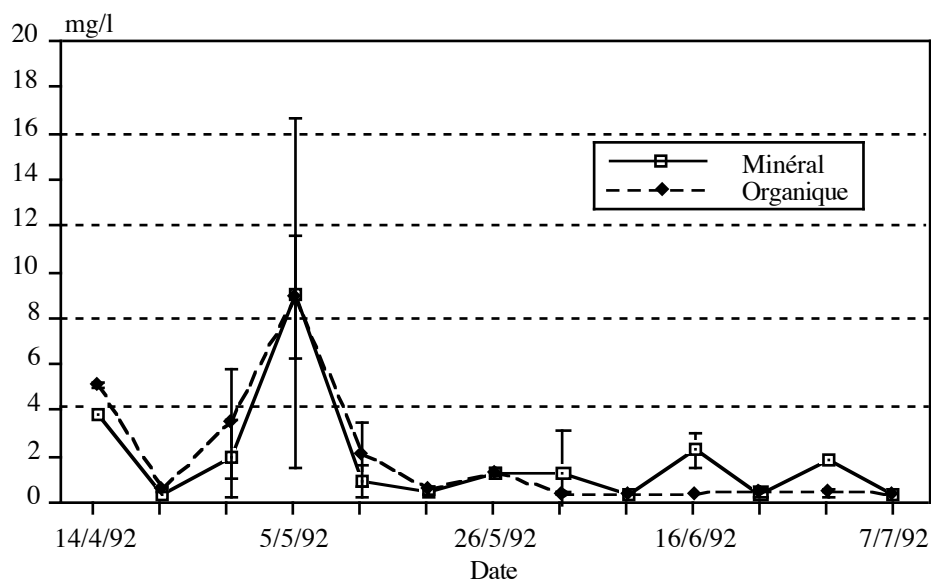
**Figure 13:** Evolutions des concentrations en azote ammoniacal (N-NH<sub>3</sub>) dans trois enceintes de culture algale du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.

Jusqu'au printemps 1992, la concentration moyenne a été très élevée (près de 8 mg.l<sup>-1</sup>), car la fertilisation n'était interrompue que lorsque la teneur en azote ammoniacal atteignait des seuils critiques (> 15 mg.l<sup>-1</sup>). Ces valeurs élevées n'étaient donc pas dues à un mauvais fonctionnement des cultures: l'élimination de l'azote ammoniacal a le plus souvent été très bonne, de l'ordre de 80% (Annexe 5).

L'épuration hebdomadaire moyenne a été de 52%, mais l'écart-type a été très important pendant l'expérimentation. Ainsi, au cours de l'été 1991 et du printemps 1992, les cultures ont permis d'obtenir une excellente épuration (jusqu'à 100%). En revanche, les performances au cours de l'automne et de l'hiver ont été beaucoup plus faibles (40% en moyenne). Une augmentation de la teneur en azote ammoniacal a même été obtenue

sans qu'il y ait eu apport de lisier. Cette aggravation des conditions du milieu est apparue au cours des périodes de gel qui sont aussi marquées par des mortalités d'algues.

A partir d'avril 1992, les apports d'engrais n'ont plus été effectués lorsque la concentration en  $N-NH_3$  atteignait  $5 \text{ mg.l}^{-1}$  (Fig. 14). Il en est résulté que près de 100% de l'azote ammoniacal introduit a été éliminé. Cette mobilisation paraît étroitement liée à la reprise de l'activité phytoplanctonique qui se traduit d'ailleurs par une augmentation du pH jusqu'à 9 voire 10. Dans ces milieux basiques, la fraction gazeuse  $NH_3$  de l'ammoniac s'est accrue fortement, et il est possible qu'une part plus ou moins importante de celui-ci ait aussi été éliminée par "stripping" dans l'atmosphère.



**Figure 14:** Evolutions des concentrations en azote ammoniacal ( $N-NH_3$ ) dans quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

De tous les éléments minéraux considérés dans ce travail, l'azote ammoniacal est le mieux éliminé. C'est aussi la forme d'azote utilisée préférentiellement par les algues présentes dans ces cultures.

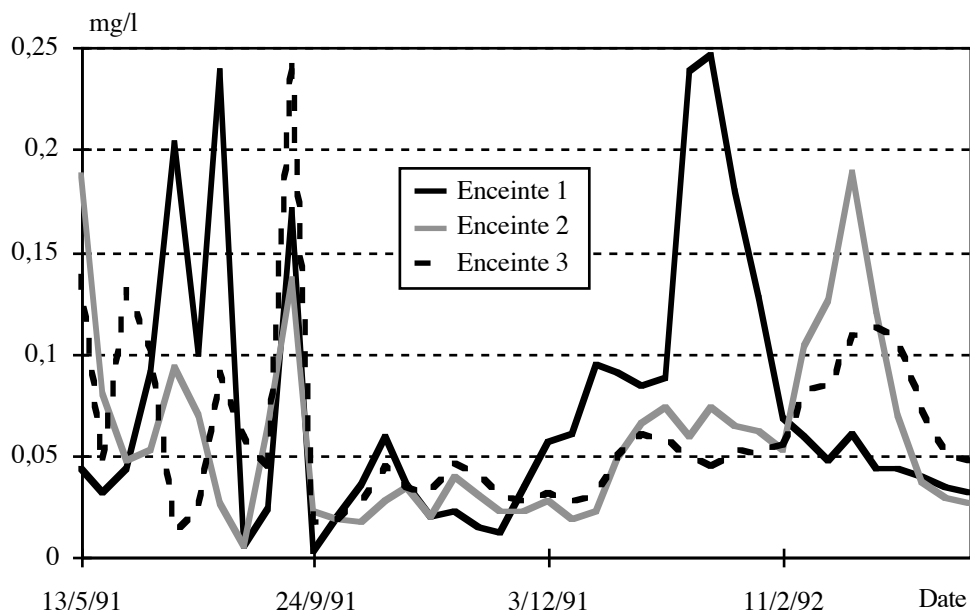
#### - Nitrite

La teneur en nitrite a toujours été très faible dans les enceintes fertilisées avec du lisier (Fig. 15 et 16).

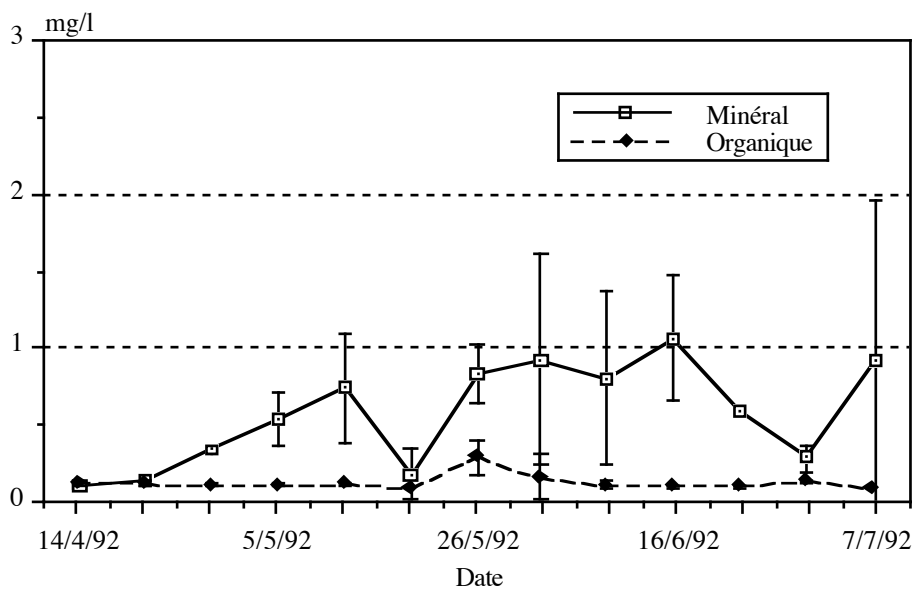
En revanche, dans les milieux recevant une fertilisation minérale, sa concentration a parfois été 250 fois plus importante (Fig. 16). Il semble donc que la présence de nitrite dans le milieu soit plus imputable à une réduction du nitrate (apporté par l'ammonitrate, avec de l'azote ammoniacal) qu'à une oxydation de l'azote ammoniacal (apporté par le lisier), car si cela était le cas, sa teneur dans les milieux recevant le lisier serait plus



importante.



**Figure 15:** Evolutions des concentrations en nitrite ( $N-NO_2^-$ ) dans trois enceintes de culture algale entre le 13 mai 1991 et le 7 avril 1992.



**Figure 16:** Evolutions des concentrations en nitrite ( $N-NO_2^-$ ) dans quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

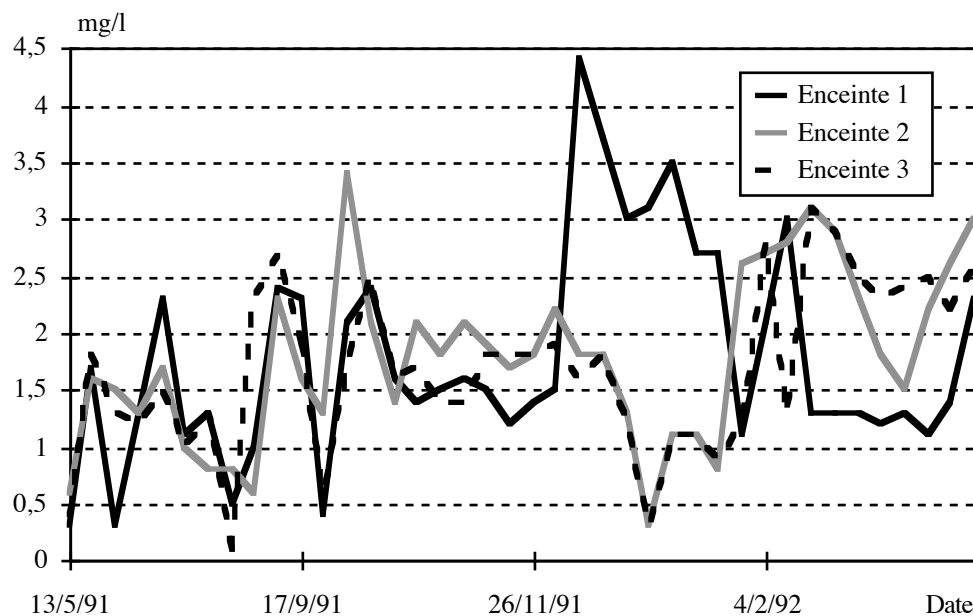
La mobilisation du nitrite par les algues a été nettement plus faible que celle de l'azote

ammoniacal (Annexe 6). Des augmentations importantes de sa teneur ont été

observées en l'absence de fertilisation, mais, à la différence de l'ammoniac, il semble qu'elles soient moins dues à des mortalités algales qu'à de brusques modifications des conditions environnementales (comme par exemple, le passage d'une non saturation en oxygène à une sursaturation). Ces modifications sont en effet susceptibles d'orienter les réactions de nitrification et de nitratisation vers la production de nitrite. Il semblerait d'ailleurs que les conditions environnementales expliquent beaucoup mieux les variations de la teneur en nitrite que l'action des algues ou les apports de fertilisants.

#### - Nitrate

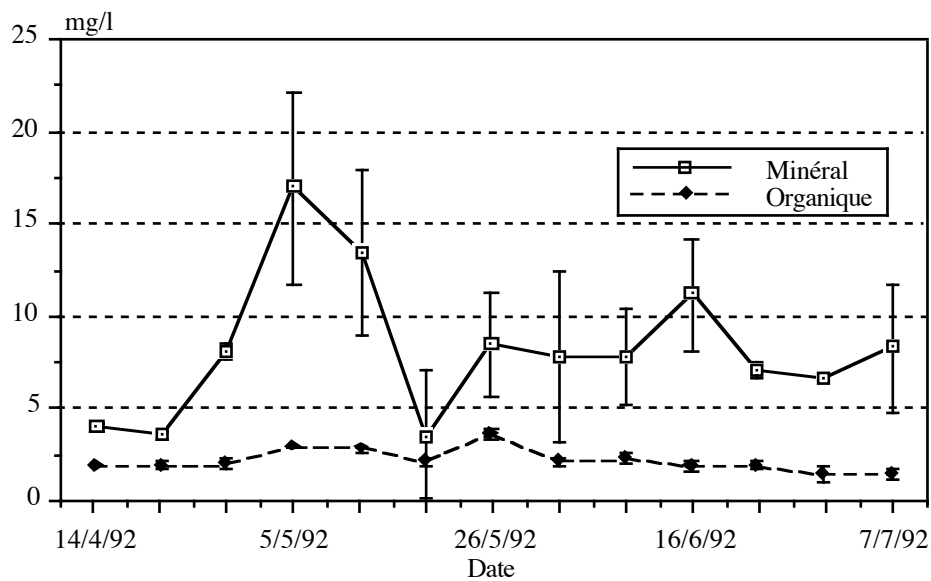
La concentration en nitrate a eu une évolution similaire à celle du nitrite (Fig. 17 et 18).



**Figure 17:** Evolutions des concentrations en nitrate ( $N-NO_3^-$ ) dans trois enceintes de culture algale du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.

Si les valeurs mesurées dans les enceintes soumises à une fertilisation organique n'ont jamais été très élevées ( $< 4,4 \text{ mg.l}^{-1}$ ), des concentrations très importantes ( $19,2 \text{ mg.l}^{-1}$ ) ont été trouvées dans les milieux recevant de l'ammonitrate. Or, les faibles pourcentages d'épuration (Annexe 7) obtenus dans ces mêmes enceintes, comparés à ceux obtenus pour l'azote ammoniacal, semblent indiquer que les algues utilisent préférentiellement cette dernière forme d'azote, le nitrate étant peu assimilé. Il s'accumule alors dans le milieu, comme le montrent les brusques augmentations d'avril-mai 1992.

Bien que l'élimination du nitrate ait parfois atteint 100% pendant l'été, elle a généralement été faible (20%), surtout pendant l'hiver (Annexe 7)



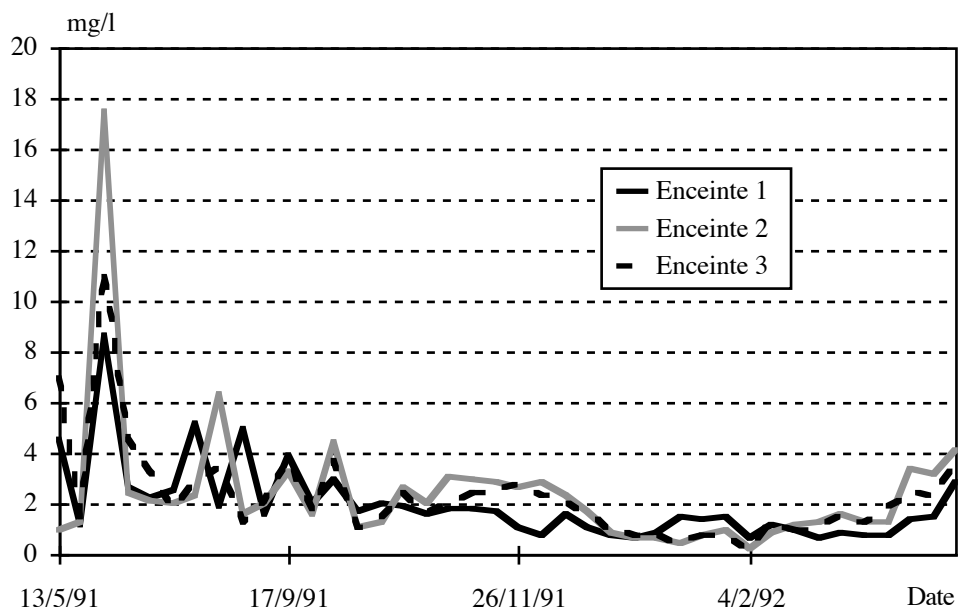
**Figure 18:** Evolutions des concentrations en nitrate ( $N-NO_3^-$ ) dans quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

#### - Phosphate

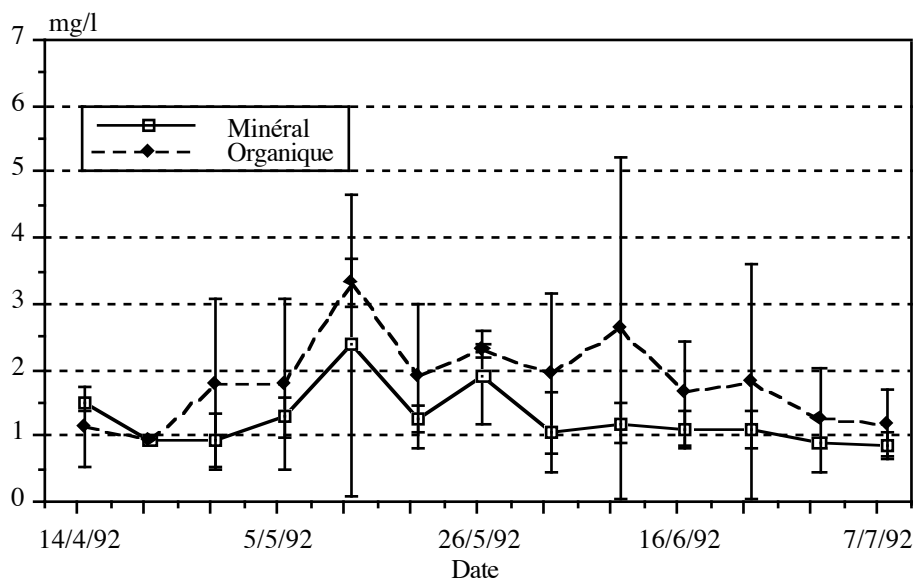
A la différence des éléments azotés, la concentration en phosphate a toujours été relativement stable et voisine de  $3 \text{ mg.l}^{-1}$  (Fig. 19 et 20) sauf toutefois du 13 au 27 mai 1991.

Les variations observées sont directement liées aux apports de fertilisants.

Les pourcentages d'épuration sont de l'ordre de 50% en moyenne (Annexe 8), mais ils sont plus faibles que pour l'azote ammoniacal. Ainsi, une épuration totale (100%) n'a jamais été obtenue, ce qui prouve que la teneur en phosphate n'est pas un facteur limitant dans ces systèmes de culture algale.



**Figure 19:** Evolutions des concentrations en phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) dans trois enceintes de culture algale du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.



**Figure 20:** Evolutions des concentrations en phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) dans quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

### 3. BIOLOGIE

#### 3.1. Algues

##### - *Systématique (Pl. 1)*

Les populations sont faiblement diversifiées. Les espèces les plus fréquentes sont des algues du genre *Scenedesmus* (*S. falcatus* et *S. quadricauda*). D'autres apparaissent périodiquement. Elles peuvent être dominantes (volvocales et notamment *Chlamydomonas* sp., *Cryptomonas* sp., et diatomées) ou faiblement représentées (diatomées pennées et centriques, nanoplancton (algues dont la taille est inférieure à 5  $\mu\text{m}$ ), chlorococcales des genres *Ankistrodesmus* ou *Pediastrum*).

Les figures 21 et 22 présentent l'évolution de l'abondance relative (pourcentages) des principaux groupes d'algues. Il apparaît que:

- les populations sont parfois presque monospécifiques (février 1992 dans l'enceinte  $\varphi_1$ ), ou comportent un seul genre, cas qui s'est présenté du 9 juillet 1991 au 14 janvier 1992. Parfois, les algues comportent plusieurs espèces, mais celles-ci sont toujours en nombre restreint (5 espèces dominantes le plus souvent).

- les facteurs qui semblent déterminer la composition spécifique des cultures sont:

##### \* *La composition de l'inoculum*

En raison des contaminations naturelles, ce facteur a un effet limité dans le temps, ainsi qu'en témoignent les évolutions divergentes des enceintes  $\varphi_1, \varphi_2, \varphi_3$  et  $\varphi_4$  (qui ont reçu le même inoculum) après le 14 avril. Il est donc certain qu'une culture ne reste pas indéfiniment monospécifique, même si l'inoculum l'est.

##### \* *La saison*

La composition spécifique n'a jamais présenté de caractère saisonnier, sauf en ce qui concerne les diatomées qui se sont développées en masse au printemps, comme cela est souvent le cas pour ces algues dans les milieux naturels.

##### \* *La qualité et la quantité du fertilisant*

Des différences sont apparues entre les cultures recevant une fertilisation minérale et celles fertilisées avec du lisier. Du 14 avril au 5 juin 1992, les milieux ont tous été dominés par des algues du nanoplancton ( $< 5 \mu\text{m}$ ), en raison de la composition de l'inoculum. Toutefois, dès ces premières semaines, une sélection a eu lieu parmi les algues de plus grande taille. Ainsi, dans les milieux recevant du lisier, une monospécificité est apparue (*Chlamydomonas* sp. en  $\varphi_3$ , *S. falcatus* en  $\varphi_4$ ) alors que

ceux recevant une fertilisation

Figure 21: Evolution de la composition spécifique dans deux enceintes ( $\varphi_1, \varphi_2$ ) du 14 janvier au 7 juillet 1992.

Figure 22: Evolution de la composition spécifique dans l'enceinte  $\varphi_3$  du 14 janvier au 7 juillet 1992 et dans l'enceinte  $\varphi_4$  du 14 avril au 7 juillet 1992.



minérale ont conservé la polyspécificité de l'inoculum (les importances relatives de *S. falcatus*, de *Chlamydomonas*, des diatomées et du *Dyctiosphaerium* étant voisines). Par la suite, les quatre cultures ont présenté une monospécificité, mais les deux enceintes fertilisées organiquement ont été dominées par *S. falcatus* alors que dans le cas des milieux minéraux, l'une ( $\Phi_2$ ) était dominée par *S. falcatus*, et l'autre ( $\Phi_1$ ) par *S. quadricauda*.

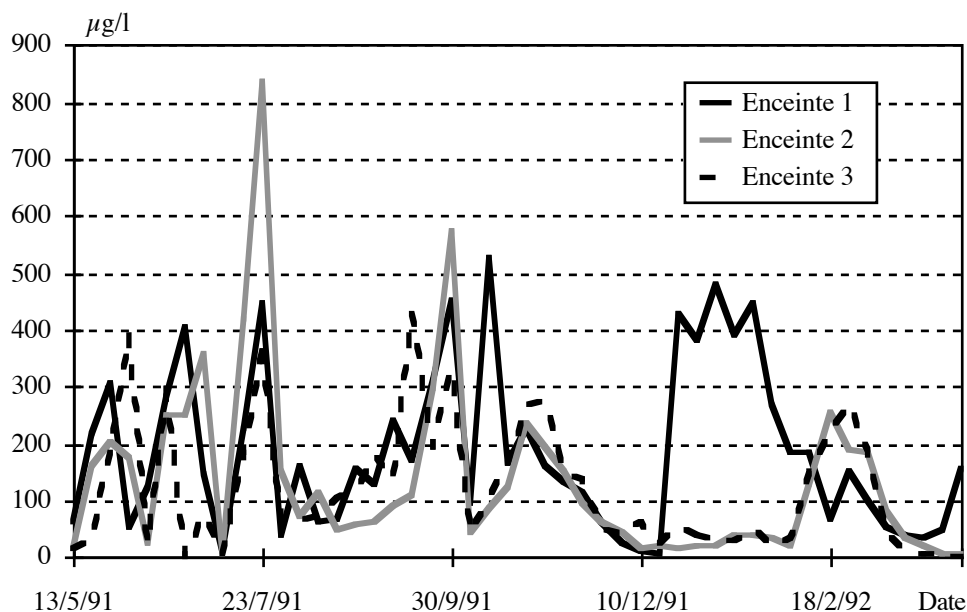
Des évolutions de la composition spécifique se sont aussi manifestées en fonction de l'état trophique des cultures. Ainsi, lorsque le milieu est devenu particulièrement riche en matières organiques, des volvocales (*Chlamydomonas* sp. et autres phytoflagellés) ont succédé aux chlorococcales, et lorsqu'il est devenu putride, des *Cryptomonas* sp. ont colonisé la culture. La présence de ces dernières algues est un signe précurseur d'un développement bactérien important et d'une désoxygénation. Si la situation s'améliore (à la suite d'une oxygénation artificielle par exemple), l'évolution se fait en sens inverse: *Cryptomonas* -> *Chlamydomonas* -> *Scenedesmus* (Fig. 22).

#### - Biomasse

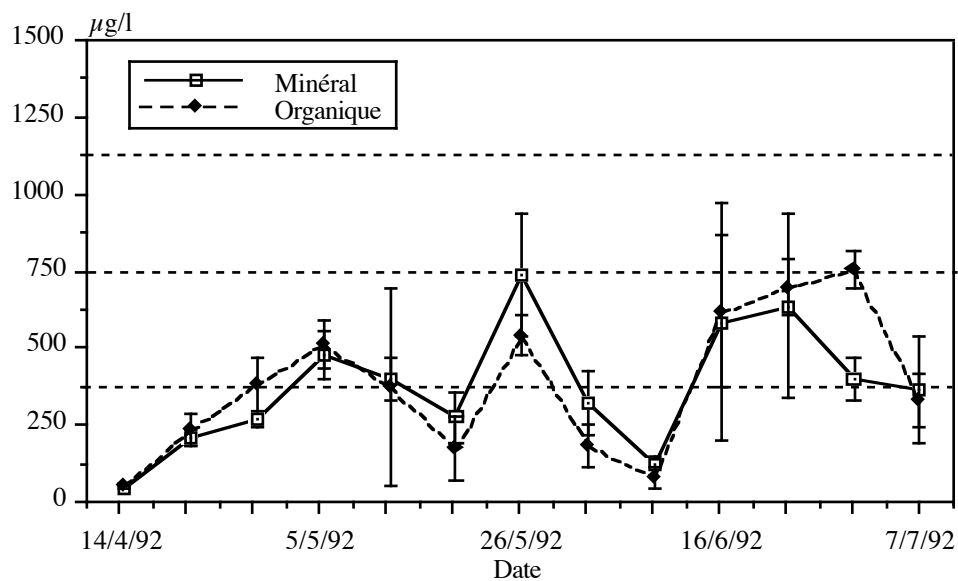
La concentration en chlorophylle *a* permet d'apprécier l'abondance des algues, mais la corrélation n'est pas toujours très bonne entre les valeurs de la chlorophylle *a* et le nombre de cellules. Ainsi, le 21 avril 1992, la culture  $\Phi_2$  contenait 250 millions de cellules par litre et sa concentration en chlorophylle *a* était de 145  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Le 1<sup>er</sup> juillet 1992, elle contenait 225 millions de cellules par litre et 297,5  $\mu\text{g.l}^{-1}$  de chlorophylle *a*. Ceci est imputable aux espèces présentes, à la taille des algues, et à leur état physiologique, la chlorophylle *a* étant plus abondante chez les cellules jeunes que pendant la phase de sénescence (Margalef, 1963; Capblancq, 1982).

Une certaine stabilité de la concentration en chlorophylle *a* a été observée sauf pendant l'hiver, les valeurs étant alors généralement beaucoup plus faibles (Fig.23). L'évolution particulière de  $\Phi_1$  entre décembre et février montre cependant qu'il est possible d'obtenir de bonnes productions hivernales (478  $\mu\text{g.l}^{-1}$ ).

Les productions du printemps 1992 ont été supérieures à celles obtenues la même saison de l'année précédente. La concentration maximale a ainsi été de 935  $\mu\text{g.l}^{-1}$  le 16 juin 1992 dans une piscine fertilisée minéralement. Ceci tient à une modification du protocole expérimental, notamment du mode de fertilisation, et peut-être aussi aux températures plus élevées en 1992.



**Figure 23:** Evolutions des concentrations en chlorophylle *a* dans trois enceintes du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.

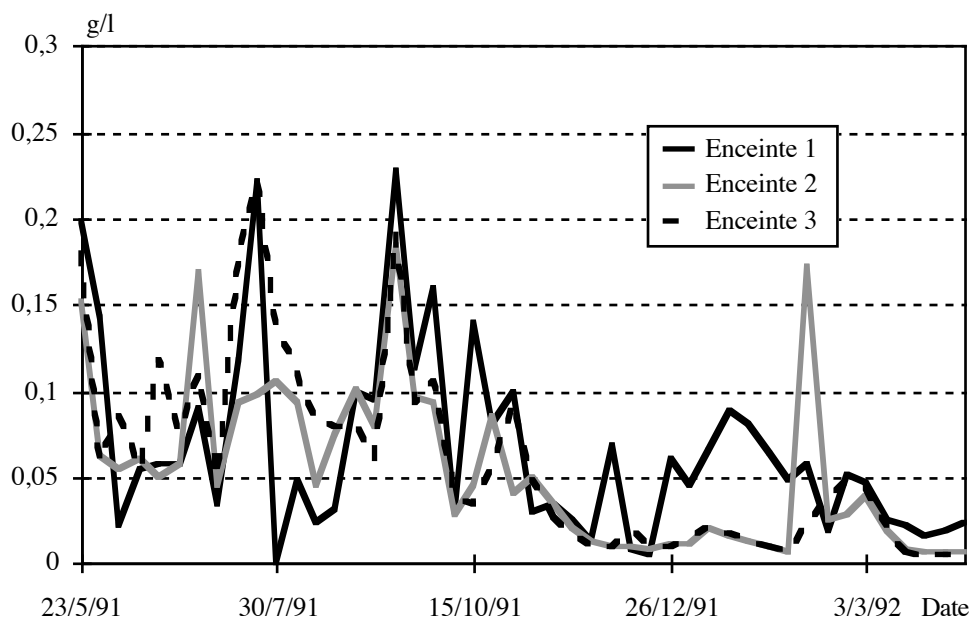


**Figure 24:** Evolutions des concentrations en chlorophylle *a* dans quatre enceintes entre le 14 avril et le 7 juillet 1992 (Moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

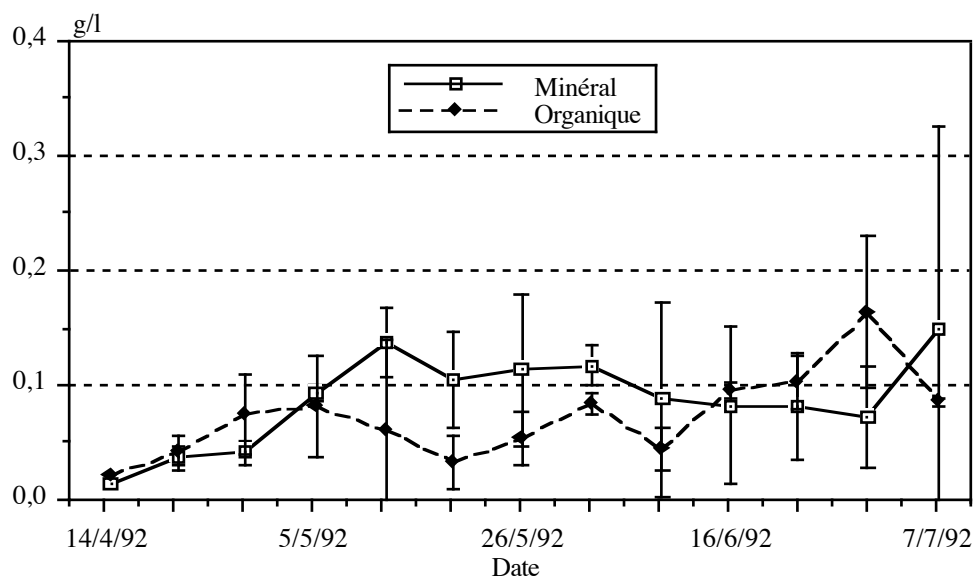
Les concentrations obtenues avec les cultures recevant du lisier ont été voisines, et même souvent supérieures à celles des enceintes recevant un engrais minéral (Fig. 24).

La variation des teneurs en chlorophylle *a* est caractérisée par de très brusques variations, et notamment par de fortes baisses qui suivent des explosions (blooms) intenses (Fig. 23). Ceci est vraisemblablement dû aux nuisances (voir la quatrième partie), mais peut être aussi à un phénomène d'autoantagonisme entre les algues lorsque

leur densité est trop importante (Lefevre *et al.*, 1952).



**Figure 25:** Evolutions des quantités de matières en suspension dans trois enceintes du 23 mai 1991 au 7 avril 1992.



**Figure 26:** Evolutions des quantités de matières en suspension dans quatre enceintes entre le 14 avril et le 7 juillet 1992 (Moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

L'évolution de l'importance des matières en suspension montre une nette évolution saisonnière (Fig. 25 et 26) puisque les biomasses algales récoltées dans chaque enceinte ont été de  $2 \text{ g MES.sem}^{-1}$  (flux de 30 l) en hiver et de  $140 \text{ g MES.sem}^{-1}$  (flux de 200 l) en été.

La valeur maximale a été de 315 g MES.sem<sup>-1</sup> (flux de 200 l) le 7 juillet 1992 dans la culture  $\Phi_2$ , ce qui est comparable aux productions de systèmes brassés. Cependant, des valeurs aussi élevées sont éphémères (Fig. 25 et 26).

### 3.2. Zooplancton

Des organismes zooplanctoniques se sont développés spontanément dans les cultures d'algues, à la suite d'une contamination naturelle ou après une introduction accidentelle:

#### - Rotifères (*Pl. 2*)

Leur abondance a été très fluctuante au cours de l'expérimentation (Fig. 27). Ainsi, bien qu'ils aient toujours été présents, leurs effectifs ont rarement dépassé 1000 individus.l<sup>-1</sup>. Des proliférations importantes ont cependant été observées à trois reprises: en mai-juin 1991 (9000 ind.l<sup>-1</sup>), en novembre-décembre 1991 (8000 ind.l<sup>-1</sup>), et en avril 1992 (4000 ind.l<sup>-1</sup>). Dans ces trois cas, l'augmentation a été très brutale (+570% en  $\Phi_1$  entre le 27 mai et le 3 juin 1991). Il faut toutefois préciser que la brusque diminution qui apparaît après chaque développement des rotifères a en fait été provoquée par la vidange et la remise en place d'une nouvelle culture d'algues (Fig. 27).

Les espèces les plus abondantes appartenaient aux genres *Keratella* sp, *Brachionus* sp et *Epiphanes* sp.

Les Brachionidés ont été les plus fréquents dans tous les milieux et ont même dominé du 19 novembre 1991 au 9 juin 1992, c'est-à-dire pendant l'hiver et le printemps.

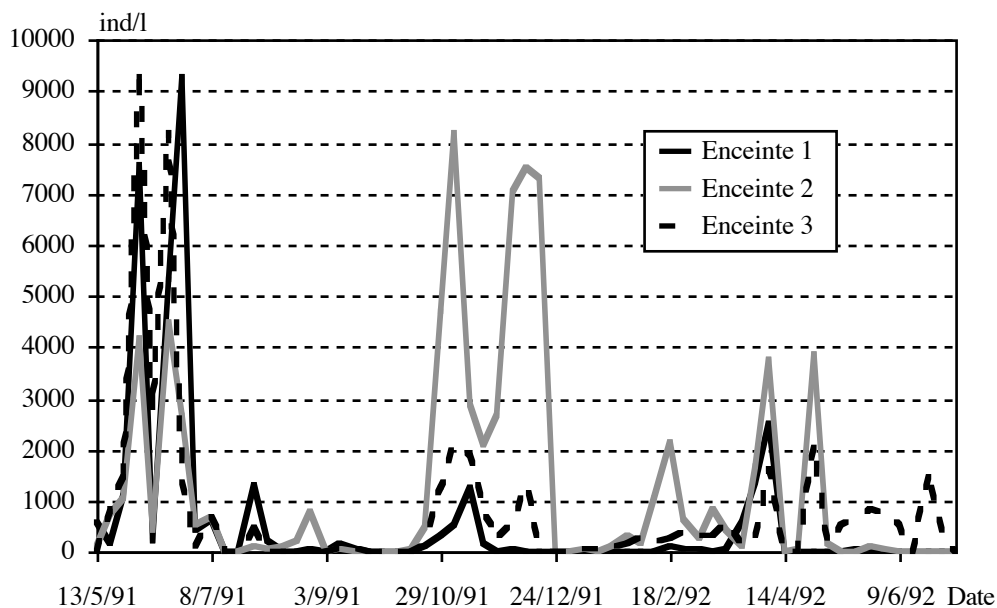
*Keratella* n'a été le plus important que pendant l'été 91. Le reste du temps, il a été présent, mais avec des effectifs plus modestes.

Les rotifères de grande taille du genre *Epiphanes* ont proliféré en novembre 1991.

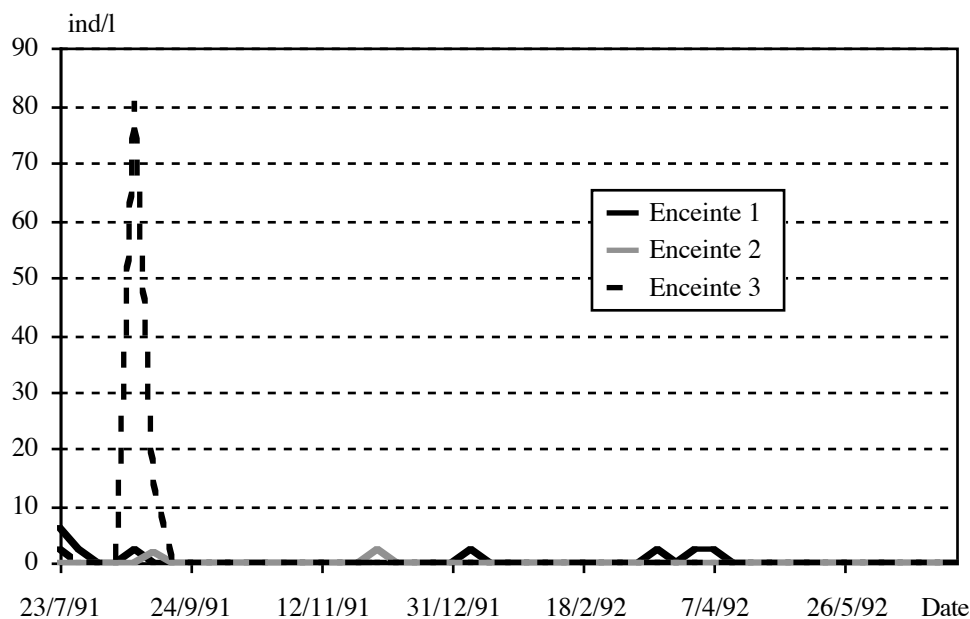
#### - Daphnies

Leurs développements dans les cultures d'algues sont imputables à l'introduction d'adultes ou d'oeufs lors des différentes mesures, ou par zoochorie. Des élevages de daphnies se trouvent en effet à proximité immédiate des cultures d'algues.

Toutefois, à l'exception des premières semaines d'expérimentation (notamment la semaine du 27 août 91), ces développements n'ont jamais été très importants (Fig. 28). Les traitements contre les daphnies (décrits dans le paragraphe 6) réalisés de façon préventive semblent avoir été efficaces. En outre, les daphnies se développent difficilement dans les élevages d'algues intensifs car le pH (9-10) est souvent létal pour elles. C'est la raison pour laquelle les algues ne doivent pas être trop abondantes dans leurs élevages.



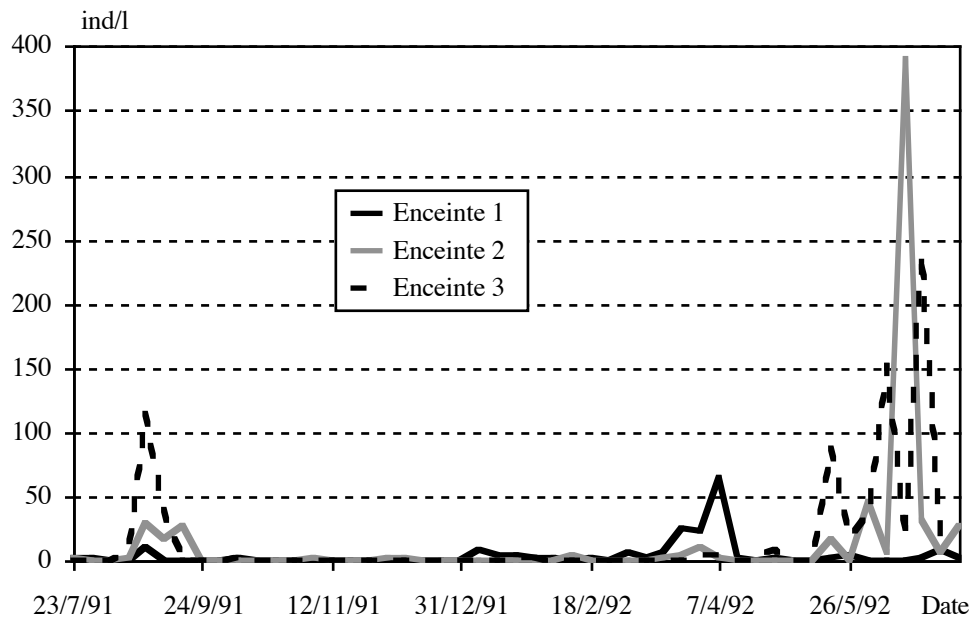
**Figure 27:** Evolutions du nombre de rotifères (en ind.l<sup>-1</sup>) dans trois enceintes du 13 mai 1991 au 7 juillet 1992.



**Figure 28:** Evolutions du nombre de daphnies (en ind.l<sup>-1</sup>) dans trois enceintes du 23 juillet 1991 au 7 juillet 1992.

#### - Copépodes (Pl.2)

Les cyclopoïdes qui sont apparus dans les cultures ont toujours présenté des effectifs faibles (moins de 20 ind.l<sup>-1</sup>), sauf en août 1991 (120 ind.l<sup>-1</sup>) et au printemps 1992 (390 ind.l<sup>-1</sup>), comme cela apparaît dans la figure 29.



**Figure 29:** Evolutions du nombre de copépodes (en ind.l<sup>-1</sup>) dans trois enceintes du 23 juillet 1991 au 7 juillet 1992.

#### - Autres (Pl. 2)

Des ostracodes du genre *Cypris* (crustacés comportant deux valves et 7 paires d'appendices), et des petits cladocères de moins de 1 mm du groupe des chydoridés (*Chydorus* sp) sont également apparus mais en nombre très restreint: 30 ind.l<sup>-1</sup> pour les ostracodes; 2 ind.l<sup>-1</sup> pour les chydoridés.

### 3.3. Bactéries

Le suivi bactériologique des cultures d'algues dans les milieux expérimentaux de 2 litres a donné les résultats suivants: le 3 août 1992, le milieu aéré contenait 24000 β.ml<sup>-1</sup> alors que la culture non agitée n'en contenait que 1200. Le 10 août 1992, deux autres cultures placées dans les mêmes conditions contenait respectivement 12000 et 4000 β.ml<sup>-1</sup>.

**Ces expérimentations à petite échelle démontrent une production algale permettant l'élimination totale ou partielle d'éléments polluants, en particulier azotés, présents dans le milieu de culture.**

**Cette production algale peut, de plus, être valorisée soit directement, soit comme aliment pour des organismes animaux pouvant avoir une forte valeur ajoutée.**

Cependant, cette production algale impose un certain nombre de contraintes.

## QUATRIÈME PARTIE

### CONDITIONS DE DÉVELOPPEMENT

#### 1. CONTRAINTES LIÉES AUX CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES

##### 1.1. Basse température et faible luminosité<sup>14</sup>

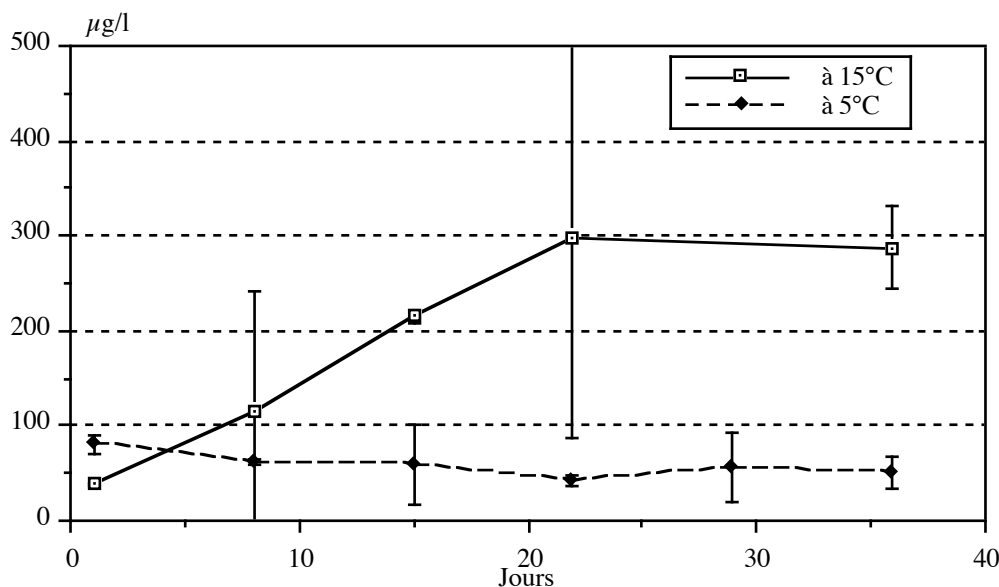
Il est bien connu que l'élévation de la température influence favorablement le développement des algues (Dussart, 1966; Capblancq, 1982; Plouidy, 1983). Il existerait d'ailleurs une relation du type " $Q_{10}=2$ " entre la température et l'intensité de la photosynthèse (Capblancq, 1982).

Pour atteindre une concentration de  $250 \mu\text{g.l}^{-1}$  de chlorophylle *a*, une semaine a été nécessaire lorsque la température était de  $15^{\circ}\text{C}$  (mois de mai 1991) et 8 semaines au mois de décembre 1992, alors que les températures étaient inférieures à  $5^{\circ}\text{C}$  (Fig. 30). La présence d'une couche de glace est préjudiciable à la culture, car elle rend le brassage impossible, gêne les épandages de fertilisants et limite la pénétration de la lumière. La concentration en chlorophylle *a* est ainsi passée de  $447 \mu\text{g.l}^{-1}$  à  $185 \mu\text{g.l}^{-1}$  après 15 jours de gel (du 21 janvier au 4 février 1992). Cette diminution est survenue alors que la concentration en éléments nutritifs aurait dû permettre la croissance algale.

Dans des expériences réalisées à petite échelle (volume: 2 l), Dabbadie et Gagnon (1992) ont montré que l'activité métabolique était jusqu'à deux fois plus faible dans des cultures placées à l'ombre ( $14,5^{\circ}\text{C}$ ) que dans celles qui étaient ensoleillées ( $18,1^{\circ}\text{C}$ ). En revanche, par temps couvert, les activités étaient très proches. Bien que le rayonnement solaire soit généralement considéré comme le facteur le plus déterminant pour la production algale (de Pauw *et al.*, 1980), il semble bien que la température ait un rôle aussi important, et même plus important, pour les algues ayant une nutrition hétérotrophe. Ce mode de nutrition leur permet en effet de se développer même lorsque la luminosité est faible, en utilisant directement certains composés organiques.

---

<sup>14</sup>Le terme "luminosité" est utilisé avec la signification d' "irradiance totale".



**Figure 30:** Evolutions des concentrations en chlorophylle *a* au cours des premières semaines de culture, en fonction de la température (moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes)

Les faibles activités algales en hiver sembleraient donc plus imputables à une température trop basse qu'à une faible luminosité comme le montrent des expériences réalisées au Muséum où une élévation de la température jusqu'à 10°C a permis d'obtenir plus de 800 µg.l<sup>-1</sup> de chlorophylle *a* au mois de février 1990 (Sevrin-Reyssac, non publié).

Compte tenu de la baisse d'efficacité des systèmes d'épuration biologique faisant appel aux cultures d'algues pendant l'hiver, la mise en place de systèmes de chauffage (tels que des thermosiphons) ou de serres (de la Noüe, comm. pers.) pourrait se révéler rentable. Il faut cependant que ces dispositifs ne nécessitent pas une trop grande technicité, ni une trop grande surface, en d'autres termes, qu'ils soient rustiques et peu onéreux. Il est envisagé de tester de tels dispositifs à petite échelle au cours de l'hiver 1992/1993.

## 1.2. Turbidité et présence de tanins

La turbidité entraîne généralement une diminution de la production primaire (Dussart, 1966). Elle peut avoir deux origines :

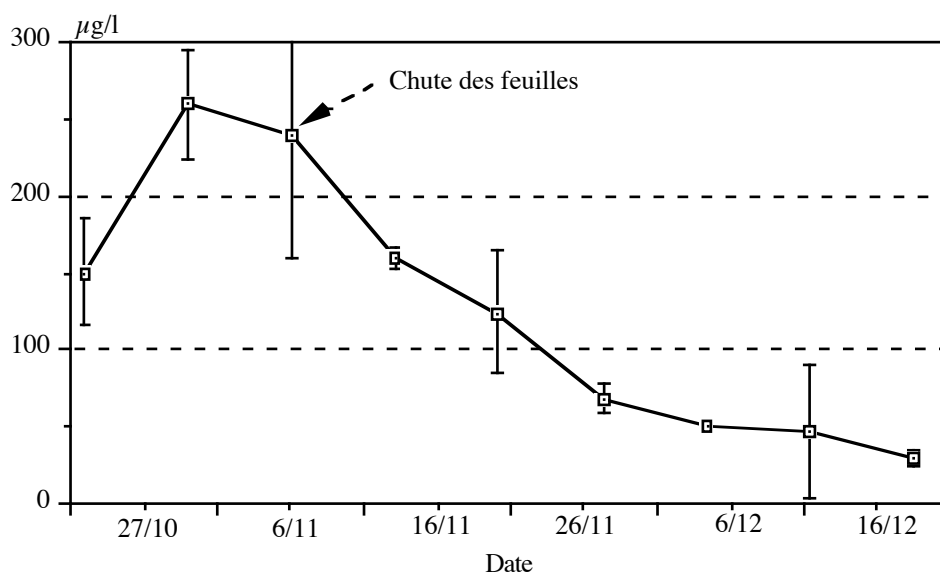
- la remise en suspension de particules organiques (Plouidy, 1983) ou inorganiques (Boyd, 1986) provenant du sédiment ou des berges, suite à une action mécanique: brassage, vent, action des poissons fouisseurs comme les carpes (Sevrin-Reyssac, 1992)
- l'abondance de cellules vivantes: bactéries, algues.



L'abondance des matières en suspension autres que le phytoplancton affecte plus particulièrement les espèces de microalgues dépourvues de mobilité (chlorococcales) qui sont entraînées au fond par une “pluie” de particules en décantation (Angeli, 1980).

En colorant l'eau, les matières organiques dissoutes provoquent également une diminution de la photosynthèse (Shapiro, 1957; Dussart, 1966).

Il est connu depuis longtemps que les étangs de forêts dont les eaux sont colorées par les matières humiques, ont des pH très bas et sont improductifs (Lefèvre *et al.*, 1952). Il est possible, comme le suggèrent ces auteurs, que la phytotoxicité des sols forestiers soit due aux substances excrétées par les microorganismes décomposeurs (bactéries, champignons).



**Figure 31:** Evolution de la concentration en chlorophylle *a* après une abondante chute de feuilles (recouvrant totalement le fond des enceintes). Ces feuilles étaient en décomposition. Moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes de 700 litres du 22 octobre au 17 décembre 1991.

L'effondrement de la culture algale qui a suivi la chute des feuilles en octobre 1991 (Fig. 31) ne peut être imputable à l'acidification du milieu car le pH est resté compris entre 7,1 et 7,6. Mais en se décomposant, les feuilles ont induit une coloration brune et une grande quantité de débris restant longtemps en suspension.

Les expérimentations qui ont eu lieu au printemps pour estimer l'action inhibitrice des tanins sur le phytoplancton en période très favorable au développement de ce dernier ont montré qu'à cette saison, l'effondrement des cultures n'était pas du à une phytotoxicité des matières organiques dissoutes libérées par les feuilles en décomposition.

En effet, les tanins et lignines solubles ajoutés aux cultures algales n'ont pas eu d'effet

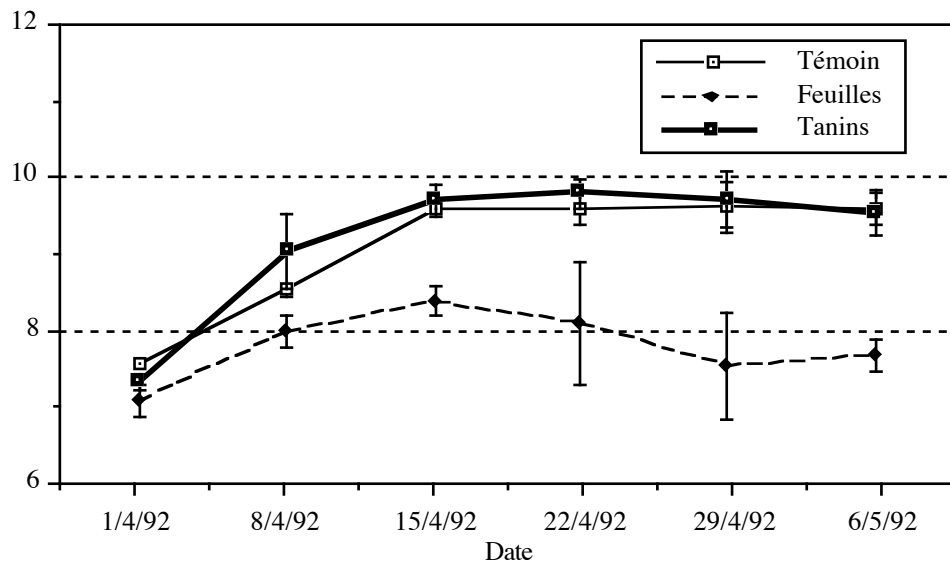
négalif au printemps. Les algues ont même semblé stimulées par ces substances. En revanche, les cultures qui ont reçu des feuilles mortes et étaient riches en petits débris de matière organique ont eu une activité beaucoup<sup>15</sup> plus faible, comme l'attestent les évolutions du pH et de la concentration en oxygène dissous (Fig. 32 et 33). Sur le plan spécifique, la population algale était plus riche en nanoplancton et en diatomées en présence de feuilles que dans les milieux témoins ou ceux qui n'avaient reçu que des tanins et lignines solubles. Bien que le nombre total de cellules soit resté comparable dans tous les milieux, la concentration en chlorophylle *a* était plus faible dans les cultures riches en débris foliaires.

L'effet inhibiteur des feuilles semble donc plus imputable à l'abondance des matières en suspension qu'à une éventuelle phytotoxicité des tanins. Ces débris en suspension gênent la photosynthèse et provoquent la sédimentation des algues (Angeli, 1980). Ils exercent également une usure mécanique sur les cellules qui peut contribuer à la composition spécifique, à la réduction de l'activité métabolique, et à l'appauvrissement des cellules en chlorophylle *a* constaté dans ces expérimentations.

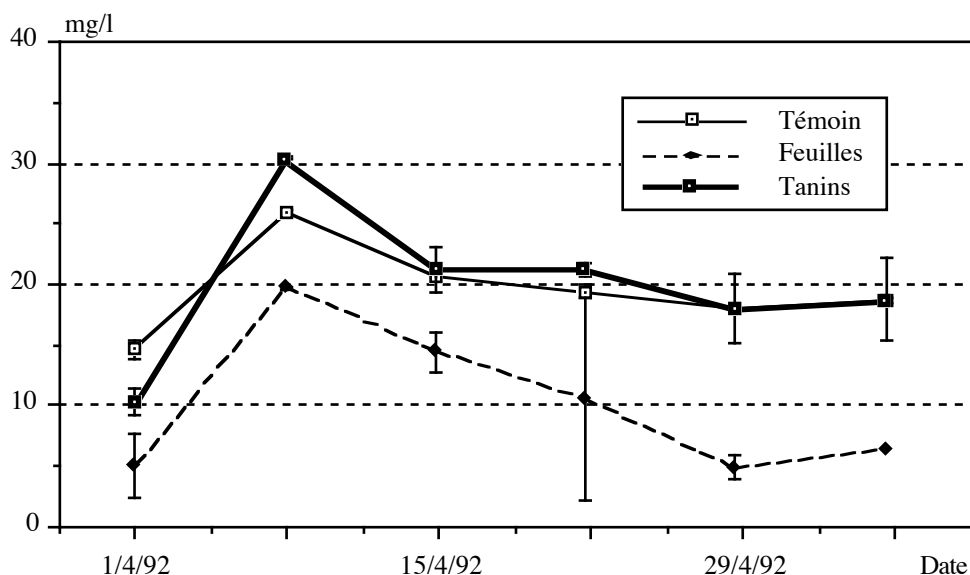
L'effondrement des cultures a pourtant été moins net qu'à l'automne. En effet, durant cette dernière saison, l'effet inhibiteur pourrait être amplifié par un manque de vitalité des cultures dû aux conditions climatiques alors qu'il serait atténué au printemps, car dans les milieux naturels ou dans les étangs de pisciculture, le phytoplancton reprend activement sa croissance en mars-avril. C'est la poussée printanière (Capblancq, 1982) qui aboutit à la formation d'un maximum de biomasse plus ou moins prononcé et plus ou moins éphémère selon les quantités d'éléments nutritifs disponibles

---

<sup>15</sup>Un test du  $\chi^2$  a montré que le traitement "Feuilles" était significativement différent des deux autres au seuil de 5%. En revanche, le traitement "Tanins" n'est pas différent du traitement témoin.



**Figure 32:** Evolutions du pH dans six cultures de 500 l du 1/4 au 6/5/92 (moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes qui subissent le même traitement).



**Figure 33:** Evolutions des concentrations en oxygène dissous dans six cultures de 500 l du 1/4 au 6/5/92 (moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes qui subissent le même traitement).

## 2. NÉCESSITÉ DU BRASSAGE

### 2.1. Flottation

A plusieurs reprises, une importante flottation s'est formée, suite à la reprise de l'activité photosynthétique des algues, et au réchauffement de l'eau (phénomène de dégazage). L'oxygène excédentaire s'évacue alors dans l'atmosphère sous forme de microbulles qui entraînent les algues vers la surface (Fig. 34).

Ce phénomène apparaît aussi dans des milieux non saturés en oxygène (50%) et recevant une fertilisation organique. L'oxygène photosynthétique serait piégé par des polysaccharides bactériens qui recouvrent la paroi cellulaire des algues, et ne pourrait se dissoudre dans l'eau (de la Noüe, comm.pers). Des bulles de gaz se formeraient donc au contact des cellules et provoqueraient la flottation algale, malgré la sous-saturation.

Cette flottation constitue un obstacle à la pénétration de la lumière (Jacques, 1975), mais aussi aux échanges gazeux avec l'atmosphère. Une photolyse des cellules peut aussi se produire en surface (Fox, 1986), ou du moins une photoinhibition lorsque les algues sont exposées à des radiations supérieures à  $62,7 \text{ J.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$  pendant plus de 30 minutes (Capblancq, 1982).

Pour évacuer cette flottation, Farnault et Pedro (1991) ont utilisé un système de trop plein qui entraîne, toute la journée, la couche d'eau superficielle vers les élevages de daphnies. Cette technique a donné de bons résultats à petite échelle, mais son efficacité peut se révéler douteuse dans des bassins de dimensions importantes.

**Figure 34:** Flottation par des microbulles d'oxygène. Les algues forment une couche superficielle très préjudiciable à la culture.

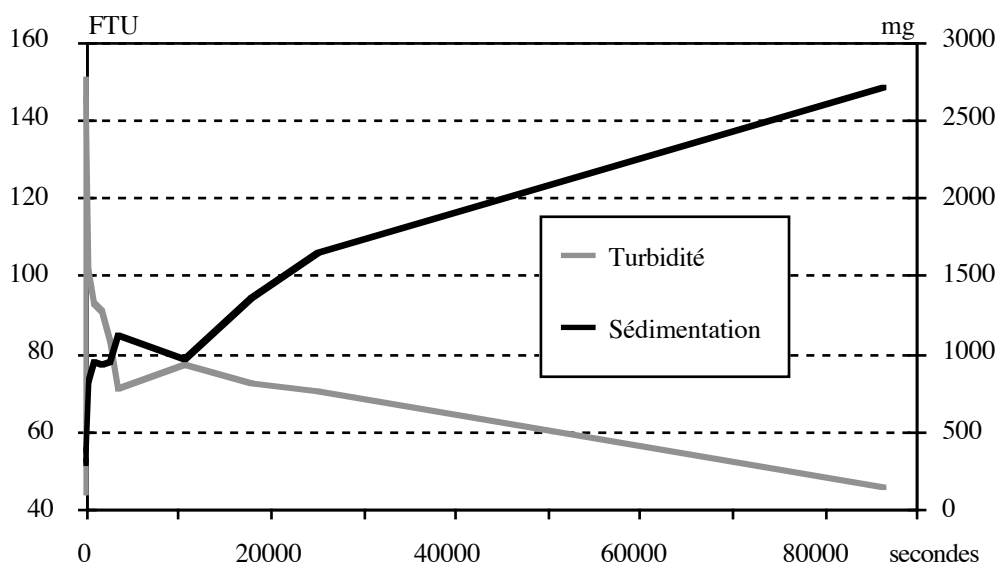
## 2.2. Sédimentation des cellules

Diverses adaptations permettent aux algues de rester en suspension, malgré leur densité plus élevée que l'eau (Capblancq, 1982; Bougis, 1974):

- augmentation du rapport surface/volume par formation de colonies (*Pediastrum*, *Scenedesmus*).
- ornementation, présence d'épines (*Scenedesmus*).
- vacuoles gazeuses (cyanobactéries).
- accumulation de lipides (dinoflagellés).
- production de mucilages qui permettent l'enrichissement en eau des tissus.
- présence de flagelles qui autorisent la mobilité des cellules (dinoflagellés, volvocales).

Ainsi, dans les milieux naturels et les étangs, seules les algues mortes ou sénescents sédimentent.

Ce phénomène a été observé au Muséum, quelle que soit la saison.



**Figure 35:** Evolution de la turbidité en subsurface (10 cm) et de la sédimentation sur 44 cm<sup>2</sup> dans une enceinte de 700 litres, après l'agitation mécanique de l'ensemble de la couche d'eau (13 février 1992).

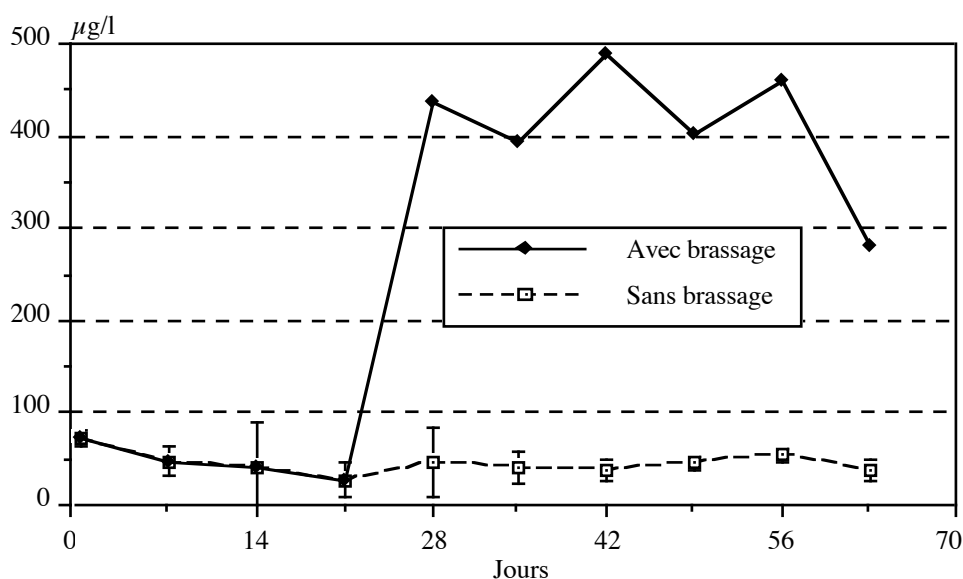
Ainsi, au cours de la première minute qui suit une forte agitation, ce sont essentiellement des grosses particules de matière organique qui décantent (Fig. 35), la sédimentation des microalgues étant beaucoup plus lente: turbidité respectivement de 70

et 46 FTU une heure et 23 heures après le brassage.

La sédimentation ne semble pas liée à la taille des algues, puisque la proportion de différentes espèces de tailles très différentes (*S. falcatus* et *S. quadricauda* de 20  $\mu\text{m}$ , nanoplancton de moins de 5  $\mu\text{m}$ ) en suspension dans l'eau en subsurface (10 cm de profondeur) est restée la même au cours des 48 heures qui ont suivi le brassage.

Les algues qui sédimentent semblent par contre moins riches en chlorophylle *a* que celles qui restent en suspension dans l'eau puisque la concentration en ce pigment a peu diminué (2,4% en 48 heures) alors que le nombre de cellules algales par millilitre a baissé de 47% en 24 heures et de 71% en 48 heures. Comme les cellules jeunes sont généralement plus riches en chlorophylle *a* que les algues sénescents (Margalef, 1963), il paraît vraisemblable que ce soient ces dernières qui sédimentent, les jeunes algues restant en suspension.

Lorsque la sédimentation est très importante, toutes les cellules (jeunes et âgées) sont entraînées sur le fond. Un brassage à raison d'une fois par 24 heures permet d'obtenir rapidement une augmentation de la production algale (Fig.36).



**Figure 36:** Action du brassage de la couche d'eau (à raison d'une fois par 24 heures) sur l'évolution de la concentration en chlorophylle *a* d'une culture de *Scenedesmus falcatus* du 26 novembre au 28 décembre 1991. Du 26 novembre au 17 décembre, les moyennes et valeurs ont été calculées à partir des résultats obtenus dans trois enceintes de 700 litres. A partir du 24 décembre, les mesures réalisées dans l'enceinte brassée ont été isolées sur le graphique et les moyennes et valeurs indiquées correspondent aux deux autres enceintes de 700 litres.

Cette décantation des algues dépend beaucoup de la nature du fertilisant apporté, puisqu'elle a été de 188  $\text{g.m}^{-2}$  (en poids de matière sèche) dans une enceinte fertilisée avec du lisier de porc alors qu'elle n'était que de 132  $\text{g.m}^{-2}$  (soit 30% plus faible) avec

une fertilisation minérale.

Il est possible que cela soit dû à des bactéries qui, en s'accolant aux algues, provoquent leur décantation (Humenik et Hanna, 1970 cités par Roques, 1980), mais on ne peut exclure que des substances contenues dans le lisier ou excrétées par les algues agissent sur la flottabilité des cellules. Elles pourraient notamment modifier la charge électrique des algues (de la Noüe, comm. pers.).

Lorsque les apports de matière organique sont importants ou lorsque des daphnies sont introduites dans un milieu contenant des algues, une floculation de celles-ci apparaît très rapidement: au bout de 24 h avec 25 adultes dans 250 ml et au bout de 48 h avec 25 jeunes daphnies pour 250 ml de culture (Maniouloux, 1992). Cette agrégation des cellules accélère la sédimentation des algues et l'accumulation de matière organique sur le fond. Lorsque la température est élevée, l'activité bactérienne dans cette couche provoque une désoxygénation, puis la formation de gaz toxiques pour la culture (hydrogène sulfuré).

Il est possible, comme l'indique Sevrin-Reyssac (comm. pers.) que le brassage limite de façon indirecte la formation des flocons en favorisant le départ de l'ammoniac dans l'atmosphère. Le milieu étant moins chargé en substances azotées, la formation des flocons pourrait être plus difficile. Toutefois, des résultats récents n'ont pas confirmé cette hypothèse, puisque la décantation des algues est survenue après leur floculation dans des enceintes aérées en permanence.

### **2.3. Désoxygénation et apparition de bactéries anaérobies**

De la Noüe et Proulx (1986) ont montré que la présence de bactéries est bénéfique aux algues en début de culture. Théoriquement, une association algues-bactéries devrait maintenir le milieu en aérobose sans aération artificielle, les algues fournissant l'oxygène nécessaire aux bactéries et recevant en retour le dioxyde de carbone résultant de l'activité de ces dernières (Humenik et Hanna, 1971 cités par Cauderlier, 1985).

Les interactions positives entre les algues et les bactéries ont été étudiées par Jones (1982).

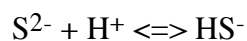
Il semble que les bactéries utilisent des exudats phytoplanctoniques pour leur croissance. En contrepartie, elles minéralisent des matières organiques et produisent des nutriments pour les algues. D'une façon générale, il semble que algues et bactéries échangent les vitamines (B<sub>12</sub>...) pour lesquelles elles sont auxotrophes.

Les interactions ne concernent pas que les éléments nutritifs. Ainsi, en limitant l'élévation du pH due à la photosynthèse, les bactéries permettent le transport et

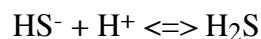
l'assimilation par les algues de nutriments qui ne seraient plus absorbés dans un milieu devenu trop basique. En retour, les algues fournissent aux bactéries une surface de colonisation.

Cependant, en raison de leur vitesse de multiplication plus élevée (Huntley *et al.*, 1989), les bactéries colonisent le milieu plus rapidement que les algues lorsqu'il y a une augmentation de la température. Elles prolifèrent alors en masse et modifient profondément les caractéristiques physico-chimiques du milieu: diminution du pH, augmentation de la turbidité, apparition d'une couleur grisâtre dans l'eau et surtout, diminution de la concentration en oxygène (Capblancq, 1982).

Au cours de l'été 1991, les bactéries ont même provoqué une désoxygénation totale de la culture. Des bactéries anaérobies sont alors apparues (Fig. 37). Comme elles utilisent les formes oxydées des sulfures ( $\text{SO}_4^{2-}$  principalement) comme accepteurs terminaux d'électrons, elles ont produit des sulfites qui sont entrés dans les équilibres acido-basiques (Boyd, 1982):



et



L'hydrogène sulfuré, biotoxique, a ensuite provoqué la mortalité des algues et leur sédimentation.

Pour privilégier les algues en début de culture, l'utilisation exclusive d'une fertilisation minérale a été envisagée (Schroeder, 1978). Si les algues dominent, leur action antibactérienne (Lefèvre *et al.*, 1952) est alors susceptible de limiter le développement bactérien.

Il est donc nécessaire d'effectuer un brassage pour éviter la désoxygénation, mais peut-être de façon intermittente comme le suggèrent de la Noüe *et al.* (1984), ce qui permettrait d'en réduire le coût. Plusieurs techniques d'oxygénation et de brassage existent (Goubier, 1990): roues à aube, asperseurs, diffuseurs, émulseurs, hydroéjecteur. La plus efficace paraît être l'hydroéjecteur. Cette technique a été retenue à la station pilote mise en place à Château-Thierry dans la ferme expérimentale de l'UCAAB. En favorisant la circulation de l'eau, il permet une homogénéisation et une valorisation maximale de l'oxygène produit dans la journée. Il peut introduire dans le milieu jusqu'à 24,4 kg d'oxygène par heure.



**Figure 37:** Développement bactérien dans les cultures d'algues. La décoloration de l'eau et la mortalité des cellules nécessite de vidanger les cultures.

### 3. DÉVELOPPEMENT D'ORGANISMES FILTREURS

#### 3.1. Cladocères (Pl. 2)

L'espèce élevée en aval des cultures d'algues et alimentée avec celles-ci est *Daphnia magna* Straus. Son introduction "accidentelle" a eu lieu en toute saison. En raison de leur taux de reproduction élevé, jusqu'à 20 oeufs tous les 3 à 4 jours, et de leur efficacité sur le plan de la filtration (jusqu'à 80 ml.d<sup>-1</sup>.ind<sup>-1</sup>), ces cladocères provoquent une diminution rapide de la biomasse algale.

Maniouloux (1992) a étudié le comportement sélectif des daphnies vis-à-vis des deux espèces d'algues les plus représentées dans les cultures réalisées au Muséum: *Scenedesmus falcatus* et *S. quadricauda*. Le tableau 5 présente les pourcentages de *S. falcatus* 24 heures après l'introduction de daphnies dans une suspension d'algues comportant initialement 65% de *S. falcatus* et 35% de *S. quadricauda*.

<b>% de <i>S. falcatus</i></b>	<b>Après 24 heures</b>	<b>Après 48 heures</b>
Daphnies adultes 1	92,3	68,8
Daphnies adultes 2	57,9	84,6
Daphnies adultes 3	55,4	91,6
Daphnies adultes 4	90,0	75
<b>Moyenne Adultes</b>	<b>73,8</b>	<b>79,9</b>
Daphnies juvéniles 1	77,4	70,0
Daphnies juvéniles 2	47,4	60,0
Daphnies juvéniles 3	75	60,0
Daphnies juvéniles 4	70,0	60,0
<b>Moyenne Juvéniles</b>	<b>67,4</b>	<b>67,5</b>
<b>Témoins (sans daphnie)</b>	<b>66,0</b>	<b>67,0</b>

**Tableau 5:** Abondance relative de *S. falcatus* par rapport à celle de *S. quadricauda* 24 et 48 h après l'introduction des daphnies adultes ou juvéniles dans les différents milieux expérimentaux (d'après Maniouloux, 1992)

La proportion de *S. falcatus* a augmenté de 15% en moyenne dans les milieux contenant des adultes et de 2,5% en présence de juvéniles. Malgré les fortes variations dans les mesures, il apparaît que *S. quadricauda* est consommée par les daphnies, en dépit de sa morphologie (présence de longues épines). La pression exercée par les daphnies sur les algues est donc importante et non sélective, et elle nécessite que ces organismes soient éliminés.

Pour cela, il n'est pas possible d'utiliser un produit comme le Dipterex (insecticide employé pour éliminer les daphnies, et surtout, les copépodes dans les étangs d'alevinage), puisque dans ce cas précis, les algues sont destinées à alimenter des daphnies.

En déversant du lisier pur dans les cultures d'algues jusqu'à ce que la concentration en azote ammoniacal atteigne 50 mg.l<sup>-1</sup>, Farnault et Pedro (1991) ont obtenu une mortalité totale des cladocères au bout de 48 h, mais cette méthode paraît cependant difficile à appliquer à grande échelle, d'autant plus que de telles concentrations en NH<sub>4</sub> peuvent entraîner des mortalités d'algues.

Un moyen très simple, mis en place à partir du mois d'octobre 1991, a consisté à empoisonner les enceintes d'élevage d'algues avec des carpes communes (2 individus d'un poids individuel de 130 à 215 g dans chaque enceinte de 700 l). Ces cyprinidés éliminent rapidement les daphnies et de plus, résistent bien à de mauvaises conditions du milieu: pour une température de 8,1°C et un pH de 6,9, les carpes ont supporté jusqu'à 16 mg.l<sup>-1</sup> d'azote ammoniacal.

### 3.2. Rotifères

L'abondance des rotifères dépend surtout de l'importance des ressources trophiques (bactéries, matières organiques, algues de très petite taille). Ceci explique que leur densité dans des milieux recevant de fortes charges en lisier soit particulièrement importante (plus de 10 000 ind.l<sup>-1</sup>). Bien que leur développement soit favorisé par une élévation de la température, jusqu'à 20-30°C d'après Fulks et Main (1991), des effectifs de 25 000 ind.l<sup>-1</sup> ont déjà été trouvés au mois de mars, alors que la température n'était que de 9°C (Sevrin-Reyssac, non publié). De telles proliférations sont toujours associées à des diminutions de la population algale (Fig. 38), mais il n'a pu être précisé si les rotifères en étaient la cause ou la conséquence. Pour Salomoni (sous presse), ils seraient la cause des effondrements constatés, mais des observations réalisées au Muséum laissent penser qu'ils pourraient au contraire se développer à la faveur d'une régression des populations algales.

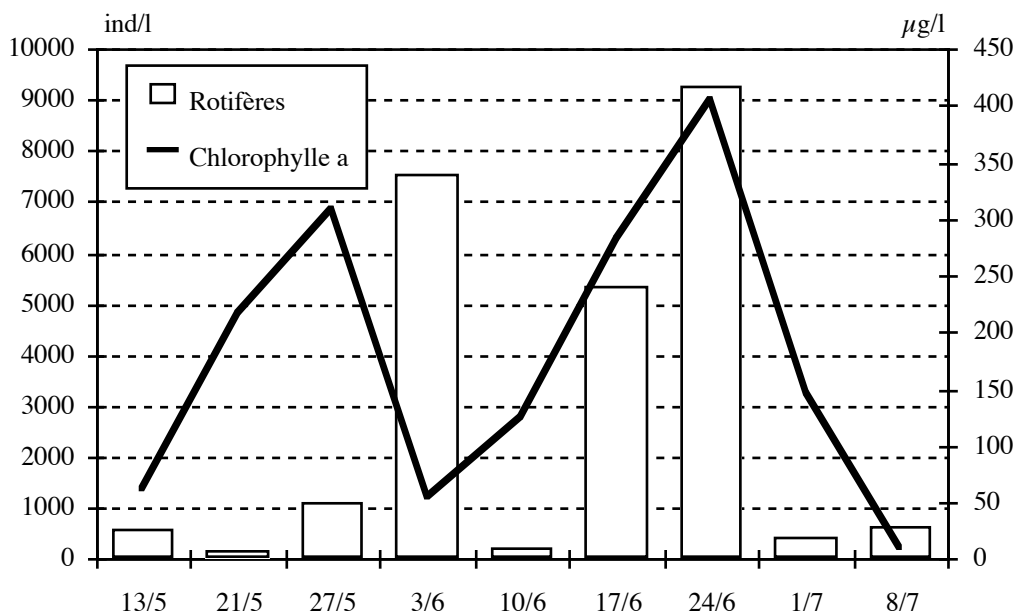
Pour les éliminer, Salomoni (sous presse) provoque une augmentation du pH qui permet d'accroître la fraction non ionisée toxique de l'azote ammoniacal (NH<sub>3</sub>). Ce procédé pourrait cependant porter préjudice aux daphnies qui reçoivent l'eau provenant des cultures d'algues, la valeur létale du pH pour les daphnies étant de 9 (de Pauw *et al.*, 1980). Salomoni (comm. pers.) effectue aussi des microfiltrations de son milieu de culture. Bien que fort efficace, cette technique reste cependant trop complexe pour être attrayante pour les utilisateurs.

Dans les expériences réalisées au Muséum, deux méthodes ont été testées pour éliminer les rotifères. Au mois de juillet 1991, des épandages de lisier pur ont été effectués jusqu'à ce que la concentration en N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> atteigne 50 mg.l<sup>-1</sup> (Farnault et Pedro, 1991). Une mortalité totale de *Keratella* sp. (seule espèce présente) a été constatée au bout de 48 heures, les températures matinales étant alors supérieures à 18°C. Toutefois, ce traitement appliqué à des rotifères du genre *Brachionus* s'est révélé inefficace (Dabbadie et Gagnon, 1992).

Un autre moyen pour contrôler leur développement consiste à maintenir dans le milieu une population algale très dense. En effet, en présence d'un phytoplancton abondant, le rythme de filtration des rotifères augmente dans des proportions telles que les cellules ingérées traversent trop rapidement le tube digestif pour être assimilées. Il s'ensuit un dépérissement de la population (Angeli, 1980).

La taille des algues est aussi un facteur qui conditionne leur développement. En effet, les rotifères du groupe des brachionidés ne peuvent pas filtrer des particules d'une taille supérieure à 18 µm (Pourriot et Champ, 1982). D'après Pourriot (1965), *Keratella cochlearis* (Gosse) serait incapable d'ingérer des particules de plus de 10 µm, mais

pourrait néanmoins utiliser des algues du genre *Cryptomonas* (16 x 48  $\mu\text{m}$ ) après les avoir préalablement fait éclater. Dans les milieux d'élevage, il faut donc privilégier les algues de taille suffisamment importante pour qu'elles ne puissent pas entrer dans le régime alimentaire des rotifères.



**Figure 38:** Evolutions du nombre de rotifères (en ind.l<sup>-1</sup>) et de la concentration en chlorophylle *a* dans une enceinte de 700 litres (13 mai-8 juillet 1991).

Le pH élevé des cultures d'algues intensives permet également de limiter leur multiplication.

En augmentant le temps de rétention de l'eau, le maintien de populations algales de grande taille (*Scenedesmus falcatus* de 20  $\mu\text{m}$ ) est favorisé (Dabbadie et Gagnon, 1992). Ces résultats ont été confirmés par ceux obtenus dans les enceintes de 700 l. Ainsi, avec un temps de rétention de 23 jours pendant l'hiver, la proportion d'algues de grande taille a fortement augmenté dans celles-ci (jusqu'à 97% de *S. falcatus* de 20  $\mu\text{m}$ ) et aucun développement important de rotifère n'y a été observé.

En excréant des substances allélopathiques, les algues ont aussi un effet inhibiteur sur les rotifères (Lefèvre *et al.*, 1952; Pourriot, 1965). Dans des cultures de *Chlorella pyrenoidosa* comportant des cellules âgées, riches en chlorelline, Pourriot (*ibid*) montre que cette substance, libérée au niveau de l'épithélium stomacal du rotifère lors de l'éclatement de la cellule, gêne son activité métabolique lorsque la dose devient importante.

#### 4. EVOLUTION DE LA COMPOSITION BACTÉRIENNE EN FONCTION DU BULLAGE

Les comptages de colonies ont montré que des cultures bullées comportaient de 3 à 20 fois plus de bactéries que des cultures non bullées.

Les bactéries qui ont bénéficié de cette augmentation forment des colonies blanchâtres, à développement rapide (24 à 48 h sur le milieu utilisé). Il s'agirait de coliformes. Ce sont ces bactéries qui ont développé le plus grand nombre de colonies.

C'est peut-être pour cette raison que les cultures oxygénées réalisent une meilleure minéralisation des substances organiques: 3 jours après un apport de lisier, la DCO<sup>16</sup> était de 49 mg.l<sup>-1</sup> dans une culture non bullée et de 24 mg.l<sup>-1</sup> dans une autre aérée (la biomasse bactérienne totale étant alors de 16000 β.ml<sup>-1</sup>)

D'autres types de bactéries étaient présentes. Des colonies "oranges" se sont développées dans les cultures qui avaient été bullées. Aucune colonie de ce type n'est apparue avec les cultures non aérées. Ces bactéries ont mis 4 jours avant de se développer sur le milieu gélosé, mais elles ont rapidement représenté 30% des colonies. Leur détermination n'a pas été réalisée et il est impératif de vérifier la répétabilité de ces résultats. Il n'est cependant pas impossible que ces bactéries jouent aussi un rôle important dans la minéralisation de la matière organique.

De plus, toutes les bactéries présentes dans les cultures d'algues n'ont peut-être pas formé des colonies sur le milieu utilisé, et la température ambiante n'était pas favorable au développement des bactéries pathogènes. Il pourrait être intéressant de compléter les résultats obtenus par des techniques de microbiologie classique avec des comptages directs réalisés avec un microscope à épifluorescence.

---

<sup>16</sup>Demande chimique en oxygène

## CONCLUSION

Le lisier de porc et les fertilisants minéraux permettent de produire des microalgues phytoplanctoniques **de façon intensive**. Les biomasses récoltées au Muséum (jusqu'à 315 g MS.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>) sont similaires à celles obtenues au cours de travaux précédents, **alors que les conditions de culture sont nettement moins complexes**. L'élimination des éléments minéraux est comparable, voire meilleure puisqu'**une épuration totale** de certains nutriments comme l'azote ammoniacal a été obtenue.

Toutefois, comme dans tout système soumis aux conditions climatiques des zones tempérées, les productions sont saisonnières. L'activité des algues étant plus faible en hiver, il est nécessaire de réduire la fertilisation. En janvier 1992, les volumes apportés ont été 3 à 8 fois plus faibles qu'en juillet 1991 et 1992. Une cuve de stockage pour le lisier doit donc être incluse dans le système.

Pour éliminer pendant l'hiver des volumes de lisier plus importants, plusieurs solutions peuvent être envisagées:

- **augmenter le volume de la culture.**
- élever la température de quelques degrés. Ainsi, puisque **les algues paraissent plus limitées par les basses températures que par les faibles luminosités**, de meilleures productions devraient être obtenues pendant la mauvaise saison. L'installation de serres ou de systèmes de chauffage pourrait ainsi se révéler rentable. De tels dispositifs devraient être testés pendant l'hiver 1992/1993.

Les apports de lisier ne doivent cependant pas être trop importants, car un excès de matières organiques peut entraîner une désoxygénation du milieu, en raison de leur dégradation par les bactéries aérobies et anaérobies. L'agrégation des algues, qui apparaît également dans le cas d'une fertilisation excessive, provoque leur décantation. Une boue se forme sur le fond et les bactéries qui se développent contribuent à la désoxygénation et à la formation de gaz toxiques (hydrogène sulfuré, méthane).

**La mesure de la concentration en azote ammoniacal doit être utilisée pour déterminer les apports de lisier.** C'est en effet le meilleur indicateur de l'état trophique

des cultures. Dans les systèmes non brassés, il est impératif d'interrompre la fertilisation à partir de  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  de  $\text{N-NH}_4^+$ .

D'autres fluctuations non liées aux conditions climatiques ont été observées dans les performances des cultures, à la suite de la flottation des algues, lorsque la turbidité a augmenté dans le milieu (par exemple après la chute des feuilles), ou après un développement d'organismes filtreurs (rotifères, daphnies).

**L'aération, ou tout au moins le brassage, des bassins permet de stabiliser la production.** En stimulant le développement bactérien et en dispersant une partie de l'ammoniac dans l'atmosphère, elle augmente la minéralisation de la matière organique du lisier, contribue à l'épuration et pourrait limiter l'agrégation des algues. Elle doit cependant être conçue pour ne pas remettre en suspension des particules qui pourraient induire une turbidité trop importante.

**Lorsque le temps de rétention est suffisamment long** (23 jours en hiver, 4 jours en été), **des algues de taille relativement grande** ( $15\text{-}20 \mu\text{m}$ ) **dominent. La prolifération des rotifères est** alors faible, car il semble que leur développement soit **la conséquence d'un affaiblissement des populations algales et non la cause**, comme cela est généralement admis. Le développement de daphnies est très facilement évité en introduisant des carpes communes.

La technologie du lagunage n'est pas récente et elle est appliquée depuis longtemps pour recycler les effluents urbains. En revanche, l'élimination du lisier de porc par cette méthode qui **conjugue l'épuration avec la production de biomasses** est encore peu pratiquée. **Il reste donc à diffuser ce procédé** et surtout à rechercher des débouchés pour les biomasses produites; c'est la tâche des équipes qui travailleront sur le pilote construit et mis en fonctionnement grâce aux résultats obtenus au Muséum.

## ADDENDUM

Ces résultats obtenus au Muséum ont fourni des éléments pour la gestion d'une station pilote d'épuration, à proximité d'un élevage porcin hors sol de la région de Château-Thierry (CRZA<sup>17</sup> de l'UCAAB). Ce pilote, qui comprend deux bassins de 41 m x 8 m destinés à la production des algues, a été mis en place au cours de l'été 1992. Deux bassins pour les élevages de daphnies de 33 m x 8 m sont situés en aval des cultures, et un bassin d'affinage empoissonné (carpes) sert de réserve d'eau (Fig. 39). Le fond des bassins a été bâché en raison de la perméabilité du sol et pour éviter que le brassage ne remette en suspension les argiles du sédiment, ce qui serait préjudiciable pour les algues.

Les écoulements se font par gravité au moyen de vannes. Une pompe permet de recycler l'eau épurée vers les cultures d'algues.

Une cloison centrale assure la circulation de la culture autour du bassin. C'est le dispositif d'aération et de brassage qui la met en mouvement. Le matériel choisi, un hydroéjecteur d'une puissance de 1 CH, est parmi les plus efficaces pour l'oxygénation et l'homogénéisation du milieu.

Le fonctionnement de cette station a débuté au mois de juillet 1992 et nécessite l'intervention d'une personne à temps partiel (2 h.d<sup>-1</sup>).

La phase de remplissage des bassins a nécessité beaucoup de temps en raison de la faible disponibilité en eau (utilisation de l'eau de ville). L'inoculum en algues (*Scenedesmus quadricauda*) a été réalisé à partir d'une culture provenant du Muséum. Les volumes de cette culture ont été progressivement augmentés.

**Les productions algales sont satisfaisantes puisqu'une concentration de 1,6 mg.l<sup>-1</sup> de chlorophylle *a* a été obtenue** le 17 août 1992. Les populations phytoplanctoniques sont identiques à celles observées au Muséum.

Le contrôle du débit à la sortie des bassins permet que la distribution des algues aux daphnies soit régulière et répartie sur l'ensemble de la journée. Elle ne doit pas être réalisée en une seule fois, car un excès d'algues provoque des nuisances dans ces élevages: engorgement de l'appareil filtreur, augmentation du pH jusqu'à des valeurs létales pour ces organismes, formation de floccs qui ne peuvent pas être ingérés.

---

<sup>17</sup>Centre de recherches zootechniques appliquées



**Figure 39: Schéma de la station pilote construite au cours du printemps 1992. Les coûts ont été les suivants:**

- Terrassement (5 bassins) .....	59 940 F
- Etanchéité des 5 bassins .....	79 500 F
- Electricité .....	35 000 F
- Local .....	10 000 F
- Système de brassage .....	10 000 F
- Pompe .....	15 000 F
- Divers .....	52 600 F
<b>- Total .....</b>	<b>247 040 F</b>

Le poste le plus important concerne l'imperméabilisation. Il aurait pu être réduit si seuls les deux bassins de culture d'algues avaient été rendus étanches. Des économies auraient aussi été réalisées si ces installations n'avaient pas été destinées à des expérimentations. Ces coûts ne prennent pas en compte le prix du terrain.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMBLARD C., 1991. Activité hétérotrophe des microalgues et des cyanobactéries vis-à-vis du carbone: implications écophysiologicals. *Ann. biol.* **30** (2): 74-107.
- AMOROS C., 1984. Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises. Crustacés cladocères. *Bull. Soc. linn. Lyon* **3,4** (53<sup>ème</sup> année): 1-63.
- ANGELI N., 1980. Interactions entre la qualité de l'eau et les éléments de son plancton. *In: P. PESSON (ed), La pollution des eaux continentales, Incidence sur les biocénoses aquatiques.* Gauthier-Villars, Paris: 97-146.
- ANONYME, 1991. Microalgae discussion group D. Production levels and requirements. *In: W. FULKS et K.L. MAIN (eds), Rotifer and microalgae culture systems, proc. US/Asia workshop.* The oceanic institute, Hawaiï: 315-318.
- ANTIA N.J., BERLAND B.R., BONIN D.J., MAESTRINI S.Y., 1976. Utilisation de la matière organique dissoute en tant que substrat par les algues unicellulaires marines. *Actual. biochim. mar, Colloq. GABIM-CNRS:* 147-178.
- AUBERT J., GAMBAROTTA J.P., 1972. Etude de l'action antibactérienne d'espèces phytoplanctoniques marines vis-à-vis de germes anaérobies. *Rev. Intern. Océanogr. Med.* **25**: 39-47.
- AUBERT M., 1970a. Théorie générale de l'autoépuration de la mer. Premier article. *Scientia* **105** (1/2): 7-25.
- AUBERT M., 1970b. Théorie générale de l'autoépuration de la mer. Deuxième article. *Scientia* **105** (3/4): 143-179.
- BAILLY F., COPIN Y., FRANÇOIS C., ROLS S., 1989. Lagunage et aquaculture. *Aquarevue* **26**: 25-30.
- BILLARD R., 1980. L'étang et l'agriculture des eaux. *In: R. BILLARD (ed), La Pisciculture en étang.* I.N.R.A. publ., Paris: 15-28.
- BOUGIS P., 1974. Ecologie du plancton marin. Tome 1: le phytoplancton. Collect. ecol. 2, Masson, Paris: 196 p.
- BOURRELLY P., 1966. Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome 1: les algues vertes. Collect. Faunes et Flores actuelles, Editions N. Boubée, Paris: 572 p.
- BOYD C.E., 1982. Water quality management for pond fish culture. *Dev. aquac. fish. sci.* **9**, Elsevier, Amsterdam : 318 p.
- BOYD C.E., 1986. Water quality and fertilisation. *In: R. BILLARD et J. MARCEL (eds),*

- L'aquaculture des cyprinidés. I.N.R.A. publ., Paris: 283-294.
- CAPBLANCQ J., 1982. Phytoplancton et production primaire. *In*: R. POURRIOT, J. CAPBLANCQ, P. CHAMP et J.A. MEYER (eds), *Ecologie du plancton des eaux continentales*. Collect. écologie 16, Masson, Paris: 1-48.
- CARDINAL C., 1979. Algues planctoniques du bassin de la Seine (à l'exception des cyanophycées et des diatomées). *Bull. Mus. natn. Hist. nat.*, Paris, 4<sup>e</sup> sér., **1**, section B, n° 4: 285-327.
- CAUDERLIER E., 1985. Etude de la physicochimie et de la production planctonique d'une lagune d'épuration (lagune de Baraqueville, 700 m d'altitude) en vue de sa valorisation piscicole. Thèse dr. Univ. Paul Sabatier, Toulouse : 1-195.
- CLÉMENT G., VAN LANDEGHEM H., 1970. *Spirulina*: ein günstiges Objekt für die Massenkultur von Mikroalgen. *Ber. Dtsch. Bot. Bd.* **83** (11): 559-565.
- COILLARD M., 1990. Les procédés de traitement des lisiers de porcs. *Techni-porc*, 13.4.90: 45-57.
- CUNNINGHAM A., MAAS P., 1982. The growth dynamics of unicellular algae. *In*: M.J. BAZIN (ed), *Microbial population dynamics*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida: 167-188.
- DABBADIE L., GAGNON N., 1992. Nuisances rencontrées en élevages intensifs de microalgues recevant du lisier de porc. Actes colloq. aquac. Bordeaux, mars 1992.
- DANGEART A.P., 1921. Observations sur une algue cultivée à l'obscurité depuis huit ans. *C.R. hebd. séances acad. sci.* **172**: 254-260.
- DE LA NOÛE J., CLOUTHIER MANTHA L., WALSH P., PICARD.G., 1984. Influence of agitation and aeration on biomass production by *Oocystis* sp grown on waste waters. *Biomass* **4** : 43-58.
- DE LA NOÛE J., PROULX D., 1986. Intérêt des biomasses d'algues et d'invertébrés obtenues par recyclage. *Entropie* **130,131**: 17-32.
- DE LA NOÛE J., PROULX D., DION P., GUDIN C., 1990. Drugs and chemicals from aquaculture. *In*: N. DE PAUW et R. BILLARD (eds), *Aquaculture Europe '89-Business joins science*. EAS spec. publ. **12**: 389-418.
- DE PAUW N., DE LEENHEER JR. L., LAUREYS P., MORALES J., REARTES J., 1980. Cultures d'algues et d'invertébrés sur déchets agricoles. *In*: R. BILLARD (ed), *La Pisciculture en étang*. I.N.R.A. publ., Paris: 189-214.
- DROOP M.R., 1974. Heterotrophy of carbon. *In*: WDP STEWART (ed), *Algal physiology and biochemistry*. Univ. Calif. press, Los Angeles: 530-559.
- DUSSART B., 1966. Limnologie. L'étude des eaux continentales. Collect. géobiol., écol., aménage., Gauthier-Villars, Paris : 676 p.
- FARNAULT G., PEDRO L., 1991. Production intensive d'algues et de zooplancton par

- recyclage biologique du lisier de porc. BTS Génie environ., IUT Tours: 103 p.
- FINGERHUT U., GROENEWEG J., SOEDER C.J., 1990. Acetate utilization in *Scenedesmus falcatus*, an alga from high-rate ponds. *Algol. stud.* **60** : 57-64.
- FOX R.D., 1986. Algoculture : la spirulina, un espoir pour le monde de la faim. Edisud, Aix en provence : 319 p.
- FULKS W., MAIN K.L., 1991. The design and operation of commercial scale live feeds production systems. *In*: W. FULKS et K.L. MAIN (eds), Rotifer and microalgae culture systems, proc. US/Asia workshop. The oceanic institute, Hawaï: 3-52.
- GAMRASNI M., PHELIPPOT S., 1976. Le lagunage. Publ. assoc. fr. etud. eaux, Paris: 155 p.
- GLEDEL J., 1985. Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose bovine. *Epidémiol., Santé anim.*, **7**: 37-70.
- GOLDMAN J.C., 1979. Outdoor algal mass cultures-I. Applications. *Water Res.* **13**: 1-19.
- GOUBIER V., 1989. Influence de la fertilisation sur certains compartiments de l'étang de pisciculture. Thèse dr. Univ. C.Bernard, Lyon: 240 p.
- GOUBIER V., 1990. Le phytoplancton et les problèmes de désoxygénation en étang de pisciculture. *Assoc. dév. aquac.* **21**: 1-46.
- HUNTLEY M.E., NONOMURA A.M., DE LA NOÛE J., 1989. Algal culture systems. *In*: M.E. HUNTLEY (ed), Biotreatment of agricultural wastewater. CRC Press, Boca Raton, Florida: 111-130.
- ILTIS A., 1974. Le phytoplancton des eaux natronées du Kanem (Tchad). Influence de la teneur en sels dissous sur le peuplement algal. Thèse dr. Univ. Paris VI: 1-271.
- INGRAM L.O., CALDER J.A., VAN BAALEN C., PLUCKER F.E., PARKER P.L., 1973. Role of reduced exogenous organic compounds in the physiology of the blue-green bacteria (algae): photoheterotrophic growth of an "autotrophic" blue-green bacterium. *J. Bacteriol.* **114** (2): 701-705.
- JACQUES G., 1975. Tentatives d'exploitation des milieux aquatiques. *In* : Photosynthèse et production de matière organique. Table ronde CNRS, 19 sept. 1975, Gif-sur-Yvette : 3 p.
- JEUNIAUX C., THOMÉ J.P., 1990. Production, extraction et utilisation technologique de la chitine à partir de communautés marines. *Océanis* **16** (5): 375-382.
- JONES A.K., 1982. The interaction of algae and bacteria. *In*: A.T. BULL et J.H. SLATER (eds), Microbial interactions and communities. Academic Press, London: 189-247.
- JORGENSEN E.G., 1962. Antibiotic substances from cells and cultures solutions of unicellular algae with special reference to some chlorophyll derivatives. *Physiol. plant.* **15**: 530-545.
- LEFEVRE M., JAKOB H., NISBET M., 1952. Auto et hétéroantagonisme chez les algues

- d'eau douce *in vitro* et dans les collections d'eau naturelle. *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol. appl.* **4**: 5-198.
- LUBITZ J.A., 1961. Protein quality, digestibility and composition of algae *Chlorella* 71105. *J. Food Sc.* **28**: 229-232.
- MAESTRINI S.Y., BONIN D.J., 1981. Allelopathic relationships between phytoplankton species. *In*: T. PLATT (ed), Physiological bases of phytoplankton ecology. *Bull.* **210**, Dep. Fish. Oceans., Ottawa: 323-338.
- MANIOULOUX B., 1992. Le cladocère *Daphnia magna*: biologie, élevage et utilisation. *Mem. I.T.A. ENITA*, Bordeaux.
- MARGALEF R., 1963. Modelos simplificados del ambiente marino para el estudio de la sucesión y distribución del fitoplancton y del valor indicador de sus pigmentos. *Invest. pesq.* **23** : 11-52.
- MORICE G., JAMMA C., 1992. De l'or vert à la tonne. *Sci. et vie* **894**: 96-99.
- NEILSON A.H., LARSSON T., 1980. The utilization of organic nitrogen for growth of algae: physiological aspects. *Physiol. Plant.* **48**: 542-553.
- NEILSON A.H., LEWIN R.A., 1974. The uptake and utilization of organic carbon by algae: an essay in comparative biochemistry. *Phycol.* **13** (3): 227-264.
- PLOUIDY M.G., 1983. Compte rendu de la mission en Belgique du 17 au 21 Janvier 1983. I.N.R.A. dép. hydrobiol., Jouy en Josas: 17 p.
- PORTER K.G., 1988. Phagotrophic phytoflagellates in microbial food webs. *Hydrobiol.* **159**: 89-97.
- POULIOT Y., TALBOT P., DE LA NOÛE J., 1986. Biotraitement du purin de porc par production de biomasse de *Spirulina*. *Entropie* **130/131**: 73-77.
- POURRIOT R., 1965. Recherches sur l'écologie des rotifères. Thèse dr. fac. sci., Paris : 224 p.
- POURRIOT R., CHAMP. P., 1982. Consommateurs et production secondaire. *In* : R. POURRIOT, J. CAPBLANCQ, P. CHAMP et J.A. MEYER (eds), *Ecologie du plancton des eaux continentales*. Collect. écol. 16, Masson, Paris : 49-112 p.
- POURRIOT R., FRANCEZ A.J., 1986. Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises, Rotifères. *Bull. Soc. linn. Lyon* **5** (55<sup>ème</sup> année): 1-37.
- PRATT R., DANIELS T.C., EILER J.J., GUNNISON J.B., KUMLER W.D., ONETO J.F., STRAIT L.A., SPOEHR H.A., HARDIN G.J., MILNER H.W., SMITH J.H.C., STRAIN H.H., 1944. Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. *Science* **99** (2574): 351-352.
- RACHIQ S., AMBLARD C., BOURDIER G., 1991. Hétérotrophie algale: effets de la gentamycine et de la cycloheximide sur les activités hétérotrophes et

- photosynthétiques des bactéries et des algues. *Rev. sci. eau* **4**: 343-361.
- RICE E.L., 1984. Allelopathy. Academic Press, Orlando: 422 p.
- RINGUELET R., 1977. Le lagunage. Un procédé rustique, souple et efficace pour épurer les eaux usées domestiques. Résultats des expérimentations menées en Languedoc. *TSM-L'eau* **4**: 139-142.
- ROQUES H., 1980. Fondements théoriques du traitement biologique des eaux. Technique et documentation, Paris: 1-1813.
- SALOMONI C., 1991. Biotrattamento di reflui suinicoli per la produzione di organismi acquatici. *Riv. suinic.* **2**: 33-37.
- SALOMONI C., sous presse. La production de matière vivante par recyclage d'effluents d'élevage y compris de pisciculture dans les systèmes de lagunage. In: R. Billard (ed), L'aquaculture des cyprinidés. I.N.R.A.publ., Paris rééd.
- SCHROEDER G.L., 1978. Autotrophic and heterotrophic production of microorganisms in intensively manured fish ponds, and related fish yields. *Aquac.* **14** (4) : 303-325.
- SCUTT J.E., 1964. Autoinhibitor production by *Chlorella vulgaris*. *Amer. Jour. Bot.* **51** (6): 581-584.
- SEVRIN-REYSSAC J., 1985. Bien connaître son étang...pour mieux le gérer. Mus. natn Hist. nat., Minist. fr. environ.: 77 p.
- SEVRIN-REYSSAC J., 1991a. Le thème "Aquaculture" au congrès de limnologie. *ECHOSYSTEME Le magazine de l'étang* **18**: 17-25.
- SEVRIN-REYSSAC J., 1991b. Production intensive d'algues et de zooplancton par recyclage biologique du lisier de porc. *ECHOSYSTEME Le magazine de l'étang* **17**: 11-19.
- SEVRIN-REYSSAC J., 1992. Formes d'eutrophisation dans les étangs de cypriniculture. Actes colloq. aquac. Bordeaux, mars 1992.
- SEVRIN-REYSSAC J., sous presse. Actes du colloq. limnol., Besançon, novembre 1992.
- SEVRIN-REYSSAC J., DELSALLE F., 1990. Rôle des daphnies sur l'environnement en milieu piscicole, modalités d'élevage. *ECHOSYSTEME Le magazine de l'étang* **16** : 5-10.
- SEVRIN-REYSSAC J., PLETIKOSIC M., 1990. Cyanobacteria in fish ponds. *Aquac.* **88**: 1-20.
- SEVRIN-REYSSAC J., VALDEYRON A., 1989. L'oxygène dissous dans les étangs piscicoles. *ECHOSYSTEME Le magazine de l'étang* **11**: 3-19.
- SHAPIRO J., 1957. Chemical and biological studies on the yellow organic acids of lake water. *Limnol. Oceanogr.* **2** (3) : 161-179.
- SOEDER C.J., GRIMME L.H., 1970. Vorwort. *Ber. Dtsch. Bot. Bd.* **83** (11): 517-518.
- SOEDER C.J., PABST W., 1970. Gesichtspunkte für die Verwendung von Mikroalgen in

- der Ernährung von Mensch und Tier. *Ber. Dtsch. Bot. Bd.* **83** (11): 607-625.
- STENGEL E., 1970. Anlagentypen und Verfahren der technischen Algenmassenproduktion. *Ber. Dtsch. Bot. Bd.* **83** (11): 589-606.
- VENKATARAMAN L.V., BECKER W.E., SHAMALA T.R., 1977. Studies on the cultivation and utilization of the alga *Scenedesmus acutus* as a single cell protein. *Life Sci.* **20**: 223-234.
- VINCENT W.F., GOLDMAN C.R., 1980. Evidence for algal heterotrophy in Lake Tahoe, California-Nevada. *Limnol. Oceanogr.* **25** (1): 89-99.
- VON WITSCH H., 1970. Mikro- und Makroalgen als Nahrungsmittel- Ein Überblick. *Ber. Dtsch. Bot. Bd.* **83** (11): 519-526.
- WARD H.B., WHIPPLE G.C., 1918. Fresh-water biology. John Wiley & sons Inc., New-York: 1111 p.
- WIEDEMAN V.E., 1970. Heterotrophic nutrition of waste-stabilization pond algae. *In*: J.E. ZAJIC, Properties and products of algae. Proc. symp. cult. algae, Plenum Press, New-York-London: 107-114.
- ZAJIC J.E., CHIU Y.S., 1970. Heterotrophic culture of algae. *In*: J.E. ZAJIC, Properties and products of algae. Proc. symp. cult. algae, Plenum Press, New-York-London: 1-47.

**ANNEXESANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION  
HETEROTROPHE ET MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (1)**

<i>Anabaena</i> 7118	arginine glutamine ornithine urée	Neilson et Larsson, 1980
<i>Anabaena flos-aquae</i>	glycolate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Anabaena variabilis</i>	oléate palmitate stéarate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Anabaenopsis circularis</i>	fructose glucose sucrose	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Ankistrodesmus braunii</i>	glucose	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	acétate alanine citrate fumarate glycocol glycolate lactate malate pyruvate succinate	Bollman et Robinson, 1977 d'après Zajic et Chiu, 1970 Bollman et Robinson, 1977  d'après Zajic et Chiu, 1970 Bollman et Robinson, 1977
<i>Ankistrodesmus sp.</i>	fructose glucose hydrolisat de caséine mannose	Wiedeman, 1970
<i>Chilomonas paramecium</i>	acétate caproate éthanol l-butanol l-hexanol lactate n-butanol n-butyrate n-butyrate n-caproate n-caprylate n-hexanol	d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Zajic et Chiu, 1970  d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Zajic et Chiu, 1970  d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Chlamydomonas dysosmos</i>	acétamide acétate arginine glutamine glycine inosine lactate ornithine pyruvate urée	Neilson et Larsson, 1980 d'après Zajic et Chiu, 1970 Neilson et Larsson, 1980  d'après Zajic et Chiu, 1970 Neilson et Larsson, 1980 d'après Zajic et Chiu, 1970 Neilson et Larsson, 1980
<i>Chlamydomonas mundana</i>	acétate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	acétate	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Chlamydomonas segnis</i>	acétate	Bollman et Robinson, 1977



**ANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION HETEROTROPHE ET MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (2)**

<i>Chlamydomonas segnis</i>	glycolate lactate	Bollman et Robinson, 1977
<i>Chlamydomonas</i> sp.	acétate fructose glucose maltose sucrose	d'après Amblard, 1991 d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Chlorella autotrophica</i>	acétamide acide urique arginine glutamine glycine ornithine urée	Neilson et Larsson, 1980
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	acétate galactose glucose	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Chlorella fusca</i>	leucine tyrosine	d'après Amblard, 1991
<i>Chlorella kessleri</i>	fructose galactose glucose	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Chlorella protothecoides</i>	glycocoll	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	acétate D-glucose galactose glucose glycocoll glycolate	d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Chlorella</i> sp.	acétate acétate de sodium caséine hydrolysee citrate D-glucose fructose fumarate glucose glycolate lactate malate pyruvate succinate	Bollman et Robinson, 1977 Wiedeman, 1970 Bollman et Robinson, 1977 d'après Neilson et Lewin, 1974 Wiedeman, 1970 Bollman et Robinson, 1977 Wiedeman, 1970 Bollman et Robinson, 1977
<i>Chlorella</i> sp.; I6	acétamide acide urique adénosine alanine arginine asparagine aspartate bétaine glutamate glutamine	Neilson et Larsson, 1980

**ANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION HETEROTROPHE ET MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (3)**

<i>Chlorella</i> sp.; I6	glycine glycylglycine histidine inosine leucine méthionine ornithine proline putrescine seurine urée	Neilson et Larsson, 1980
<i>Chlorella vulgaris</i>	acétate alanine arginine aseculin cellobiose décanoate dodécanoate fructose galactose glucose lactose methyl- $\beta$ -D-glucoside octanoate proline sucrose tétradécanoate	d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Amblard, 1991  d'après Zajic et Chiu, 1970  d'après Neilson et Lewin, 1974  d'après Zajic et Chiu, 1970    d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Amblard, 1991 d'après Zajic et Chiu, 1970 d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Cocconeis diminuta</i>	acétate glucose lactate	d'après Amblard, 1991
<i>Cocconeis</i> sp.	lactate pyruvate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Coelastrum</i> sp.	acétate de sodium glucose mannose	Wiedeman, 1970
<i>Coscinodiscus</i> sp.	glucose	d'après Amblard, 1991
<i>Cosmarium botrytis</i>	alanine arginine asparagine glutamate glutamine glycine sérine urée	Neilson et Larsson, 1980
<i>Cyclotella cryptica</i>	acétamide acide glutamique acide urique alanine arginine aspartate galactose glucose	Neilson et Larsson, 1980 d'après Amblard, 1991 Neilson et Larsson, 1980 d'après Amblard, 1991  Neilson et Larsson, 1980 d'après Amblard, 1991

**ANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION HETEROTROPHE ET  
MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (4)**

<i>Cyclotella cryptica</i>	glutamate glutamine glycine ornithine proline sérine urée	Neilson et Larsson, 1980 d'après Amblard, 1991 Neilson et Larsson, 1980 d'après Amblard, 1991  Neilson et Larsson, 1980
<i>Cyclotella</i> sp.	D-glucose glucose	d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	acétate de sodium glucose mannose	Wiedeman, 1970
<i>Euglena gracilis</i>	acétate alanine asparagine aspartate butyrate D-glucose éthanol fumarate glucose glutamate glutamine glycine glycolate <i>n</i> -butyrate ornithine pyruvate sérine succinate	d'après Neilson et Lewin, 1974 Neilson et Larsson, 1980  d'après Zajic et Chiu, 1970  d'après Neilson et Lewin, 1974  d'après Zajic et Chiu, 1970   Neilson et Larsson, 1980  d'après Neilson et Lewin, 1974  Neilson et Larsson, 1980 d'après Zajic et Chiu, 1970 Neilson et Larsson, 1980 d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Euglena</i> sp.	acétate glycérol lactate	d'après Amblard, 1991
<i>Gyrodinium cohnii</i>	acétate éthanol galactose glucose glycérol <i>n</i> -butyrate <i>n</i> -hexanol propionate sucrose valérate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Melosira nummuloides</i>	acide glutamique acide aspartique arginine glycine leucine lysine sérine valine	d'après Amblard, 1991
<i>Navicula incerta</i>	glucose	d'après Zajic et Chiu, 1970

**ANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION HETEROTROPHE ET  
MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (5)**

<i>Navicula pavillardii</i>	acide glutamique glutamate	d'après Amblard, 1991
<i>Navicula pelliculosa</i>	acétate aspartate D-glucose fructose glucose glutamate glycérol lactate	d'après Zajic et Chiu, 1970 d'après Amblard, 1991 d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Zajic et Chiu, 1970 d'après Amblard, 1991 d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Amblard, 1991
<i>Navicula sp.</i>	D-glucose	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Nitzschia leucosigna</i>	D-glucose	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Nitzschia sp.</i>	D-glucose	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Nitzschia alba</i>	acétate D-glucose glucose glutamate	d'après Amblard, 1991 d'après Neilson et Lewin, 1974 d'après Amblard, 1991 d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Nitzschia angularis</i>	acide glutamique glucose glutamate	d'après Amblard, 1991
<i>Nitzschia laevis</i>	acide glutamique alanine glucose glutamate lactate	d'après Amblard, 1991
<i>Nitzschia leucosigna</i>	glutamate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Nitzschia ovalis</i>	arginine	d'après Amblard, 1991
<i>Nitzschia sp.</i>	acétamide acide urique adénosine alanine arginine asparagine aspartate glucose glutamate glutamine glycine inosine lactate sérine	Neilson et Larsson, 1980      d'après Amblard, 1991 Neilson et Larsson, 1980  d'après Neilson et Lewin, 1974 Neilson et Larsson, 1980
<i>Nostoc punctiforme</i>	D-glucose	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Nostoc sp.</i>	glycérol	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Ochromonas danica</i>	alanine arginine asparagine aspartate glutamate glutamine ornithine	Neilson et Larsson, 1980

**ANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION HETEROTROPHE ET  
MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (6)**

<i>Ochromonas danica</i>	urée	Neilson et Larsson, 1980
<i>Ochromonas malhamensis</i>	acétate D-glucose éthanol fructose galactose glucose sucrose glycérol	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Oscillatoria agardhii</i>	acétate glucose	Saunders, 1972
<i>Oscillatoria</i> sp.	acétate D-glucose glucose glycolate	Saunders, 1972 d'après Neilson et Lewin, 1974 Saunders, 1972 d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Oscillatoria utermoehlii</i>	glucose	Saunders, 1972
<i>Pandorina morum</i>	acétate glycolate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Pediastrum boryanum</i>	acétate glucose mannose	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Pediastrum duplex</i>	acétate glucose mannose	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Pediastrum</i> sp.	acétate de sodium glucose mannose	Wiedeman, 1970
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	lysine acide urique arginine aspartate inosine urée	d'après Amblard, 1991 Neilson et Larsson, 1980
<i>Prototheca zopfii</i>	acétate caproate éthanol fructose galactose glucose glycérol mannose <i>n</i> -amyl alcool <i>n</i> -butanol <i>n</i> -butyrate <i>n</i> -propanol propionate valérate	d'après Neilson et Lewin, 1974
<i>Pseudanabaena</i>	acide urique arginine asparagine urée	Neilson et Larsson, 1980

**ANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION HETEROTROPHE ET  
MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (7)**

<i>Pseudanabaena</i>	glutamine	Neilson et Larsson, 1980
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	glycocoll	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Scenedesmus costulatus</i>	glucose	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	glycocoll	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Scenedesmus falcatus</i>	acétate	Fingerhut et al., 1990
<i>Scenedesmus obliquus</i>	acétate acide poly (oxyethylene) dodecylphosphorique alanine $\beta$ -glycerophosphate sodium cellobiose deoxyribonucleate sodium glucose lécithine n-dodecyl-2-hydroxyethylo phosphate sel dodecyl phosphate (n=10) monoéthanolamine sel poly (oxyethylene) dodecyl phosphate (n=10) monoéthanolamine sel poly (oxyethylene) dodecyl phosphate (n=10) sodium sel poly (oxyethylene) dodecylphosphate monoéthanolamine	d'après Neilson et Lewin, 1974 Langowska, 1982 d'après Zajic et Chiu, 1970 Langowska, 1982 d'après Zajic et Chiu, 1970 Langowska, 1982 d'après Zajic et Chiu, 1970 Langowska, 1982
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	glucose glycocoll mannose	d'après Zajic et Chiu, 1970
<i>Scenedesmus</i> sp.	acétamide acétate de sodium acide urique adénosine alanine arginine asparagine aspartate fructose glucose glutamate glutamine glycine glycylglycine hydrolisat de caséine inosine leucine mannose méthionine ornithine proline putrescine seurine	Neilson et Larsson, 1980 Wiedeman, 1970 Neilson et Larsson, 1980      Wiedeman, 1970  Neilson et Larsson, 1980    Wiedeman, 1970 Neilson et Larsson, 1980  Wiedeman, 1970 Neilson et Larsson, 1980

**ANNEXE 1: QUELQUES ALGUES CAPABLES DE NUTRITION HETEROTROPHE ET  
MATIERES ORGANIQUES METABOLISEES (8)**

<i>Scenedesmus</i> sp.	urée	Neilson et Larsson, 1980
<i>Selenastrum capricornutum</i>	alanine arginine asparagine aspartate glutamine glycine inosine ornithine urée	Neilson et Larsson, 1980
<i>Selenastrum</i> sp.	acétate glucose	d'après Amblard, 1991
<i>Synechococcus</i> 6301	acide urique glutamine	Neilson et Larsson, 1980
<i>Synechocystis</i>	arginine asparagine glutamine urée	Neilson et Larsson, 1980

**ANNEXE 2 -3**



**ANNEXE 4**

**ANNEXE 5-6**

**ANNEXE 7-8**

**ANNEXE 9**

**PH**

**NH3-NO2**

**NO3-PO4**

**CHLORO MES**



**ROTIF 1-2**

**ROTIF 3-4**

## COPEP-DAPHNI

**OSTRA-CHYDO**

**ANNEXE 10: COMMUNICATION PRÉSENTÉE AU  
CONGRES D'AQUACULTURE DE BORDEAUX (1992)  
(manuscrit accepté pour publication dans les actes du congrès)**



























## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Modification de la composition des microalgues.

Figure 2: Quelques systèmes de production algale (d'après Stengel, 1970; Fulks et Main, 1991).

Figure 3: Dispositif de culture d'algues en circuit (raceway) utilisé en Italie pour la culture de microalgues vertes sur lisier de porc. L'agitation est assurée par la roue à aube. (AGROBIOTEC, Bologne).

Figure 4: Représentation simplifiée des relations au sein d'un écosystème aquatique (d'après Guerrin, 1990).

Figure 5: Evolution de la température de l'air entre mai 1991 et juillet 1992 (données de la Météorologie nationale fournies par décade).

Figure 6: Evolutions des précipitations et de l'évaporation entre mai 1991 et juillet 1992 (données de la Météorologie nationale fournies par décade).

Figure 7: Evolutions de l'insolation et du rayonnement entre mai 1991 et juillet 1992 (données de la Météorologie nationale fournies par décade).

Figure 8: Evolution de la température de l'eau, à 10 cm sous la surface, dans toutes les enceintes du 22 juillet 1991 au 7 juillet 1992.

Figure 9: Evolutions des pourcentages de saturation en oxygène de l'eau dans trois enceintes de culture algale du 10 septembre 1991 au 7 avril 1992.

Figure 10: Evolutions des pourcentages de saturation en oxygène de l'eau dans quatre enceintes du 14 avril et le 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 11: Evolutions du pH de l'eau dans trois enceintes de culture algale du 13 juin 1991 au 7 avril 1992.

Figure 12: Evolutions du pH dans quatre enceintes entre le 14 avril et le 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 13: Evolutions des concentrations en azote ammoniacal (N-NH<sub>3</sub>) dans trois enceintes de culture algale du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.

Figure 14: Evolutions des concentrations en azote ammoniacal (N-NH<sub>3</sub>) dans

quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 15: Evolutions des concentrations en nitrite (N-NO<sub>2</sub>) dans trois enceintes de culture algale entre le 13 mai 1991 et le 7 avril 1992.

Figure 16: Evolutions des concentrations en nitrite (N-NO<sub>2</sub>) dans quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 17: Evolutions des concentrations en nitrate (N-NO<sub>3</sub>) dans trois enceintes de culture algale du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.

Figure 18: Evolutions des concentrations en nitrate (N-NO<sub>3</sub>) dans quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 19: Evolutions des concentrations en phosphate (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) dans trois enceintes de culture algale du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.

Figure 20: Evolutions des concentrations en phosphate (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) dans quatre enceintes du 14 avril au 7 juillet 1992 (moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 21: Evolutions de la composition spécifique dans deux enceintes (φ1,φ2) du 14 janvier au 7 juillet 1992.

Figure 22: Evolutions de la composition spécifique dans l'enceinte φ3 du 14 janvier au 7 juillet 1992 et dans l'enceinte φ4 du 14 avril au 7 juillet 1992.

Figure 23: Evolutions des concentrations en chlorophylle *a* dans trois enceintes du 13 mai 1991 au 7 avril 1992.

Figure 24: Evolutions des concentrations en chlorophylle *a* dans quatre enceintes entre le 14 avril et le 7 juillet 1992 (Moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 25: Evolutions des quantités de matières en suspension dans trois enceintes du 23 mai 1991 au 7 avril 1992.

Figure 26: Evolutions des quantités de matières en suspension dans quatre enceintes entre le 14 avril et le 7 juillet 1992 (Moyenne et valeurs pour les deux enceintes qui reçoivent le fertilisant de même nature).

Figure 27: Evolutions du nombre de rotifères (en ind.l<sup>-1</sup>) dans trois enceintes du 13 mai 1991 au 7 juillet 1992.

Figure 28: Evolutions du nombre de daphnies (en ind.l<sup>-1</sup>) dans trois enceintes du 23 juillet 1991 au 7 juillet 1992.

Figure 29: Evolutions du nombre de copépodes (en ind.l<sup>-1</sup>) dans trois enceintes du 23 juillet 1991 au 7 juillet 1992.

Figure 30: Evolutions des concentrations en chlorophylle *a* au cours des premières semaines de culture, en fonction de la température (moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes).

Figure 31: Evolution de la concentration en chlorophylle *a* après une abondante chute de feuilles (recouvrant totalement le fond des enceintes). Ces feuilles étaient en décomposition. Moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes de 700 litres du 22 octobre au 17 décembre 1991.

Figure 32: Evolutions du pH dans six cultures de 500 l du 1/4 au 6/5/92 (moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes qui subissent le même traitement).

Figure 33: Evolutions des concentrations en oxygène dissous dans six cultures de 500 l du 1/4 au 6/5/92 (moyennes et valeurs mesurées dans deux enceintes qui subissent le même traitement).

Figure 34: Flottation par des microbulles d'oxygène. Les algues forment une couche superficielle très préjudiciable à la culture.

Figure 35: Evolution de la turbidité en subsurface (10 cm) et de la sédimentation sur 44 cm<sup>2</sup> dans une enceinte de 700 litres, après l'agitation mécanique de l'ensemble de la couche d'eau (13 février 1992).

Figure 36: Action du brassage de la couche d'eau (à raison d'une fois par 24 heures) sur l'évolution de la concentration en chlorophylle *a* d'une culture de *Scenedesmus falcatus* du 26 novembre au 28 décembre 1991. Du 26 novembre au 17 décembre, les moyennes et valeurs ont été calculées à partir des résultats obtenus dans trois enceintes de 700 litres. A partir du 24 décembre, les mesures réalisées dans l'enceinte brassée ont été isolées sur le graphique et les moyennes et valeurs indiquées correspondent aux deux autres enceintes de 700 litres.

Figure 37: Développement bactérien dans les cultures d'algues. La décoloration de l'eau et la mortalité des cellules nécessite de vidanger les cultures.

Figure 38: Evolutions du nombre de rotifères (en ind.l<sup>-1</sup>) et de la concentration en chlorophylle *a* dans une enceinte de 700 litres (13 mai-8 juillet 1991).

Figure 39: Schéma de la station pilote construite au cours du printemps 1992.

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition des microalgues (d'après Lubitz, 1961; Soeder et Pabst, 1970; de la Noüe et Proulx, 1986; Fox, 1986).

Tableau 2: Produits de dégradation par les voies aérobie et anaérobie des principales substances organiques (d'après Gamrasni et Phelippot, 1976).

Tableau 3: Principes et inconvénients des différents procédés de récolte des microalgues (d'après Barnabé, 1986; de la Noüe et Proulx, 1986; Huntley et al., 1989).

Tableau 4: Composition des différents fertilisants utilisés au cours des expérimentations.

Tableau 5: Abondance relative de *S. falcatus* par rapport à celle de *S. quadricauda* 24 et 48 h après l'introduction des daphnies adultes ou juvéniles dans les différents milieux expérimentaux (d'après Maniouloux, 1992).

## LISTE DES PLANCHES

Planche 1: Algues présentant une forte affinité pour les milieux eutrophisés.

Planche 2: Zooplancton.