

Compte rendu des Journées Phycologiques de la Société Phycologique de France Paris, 21 et 22 décembre 2000

*Édité par Jean Claude DRUART**

*Institut National de la Recherche Agronomique, Station d'Hydrobiologie Lacustre
75, avenue de Corzent, BP 511, F-74203 Thonon-les-Bains, France*

*Avec les collaborations de Mmes Jacqueline CABIOCH
et Michèle KNOEPFFLER*

Les Journées Phycologiques de la Société Phycologique de France (SPF) qui se sont déroulées à la Grande Galerie du Muséum National d'Histoire Naturelle, à Paris, ont été dédiées à la mémoire du professeur Yannick DE ROECK-HOLTZHAUER, décédée à Nantes le 31 mai 1999. Seize communications orales portant sur la biologie, l'écologie, la biotechnologie des algues d'eaux douce et marine y ont été présentées par une vingtaine de chercheurs et étudiants.

Liste des participants

ABÉLARD, Christiane - Paris, France	FRESNEL, Jacqueline - Caen, France
AMADE, Philippe - Nice, France	GARCIN, Daphné - Marseille, France
BEN SAÏD, Rafi - Le Kram, Tunisie	GOULETQUER, Philippe - Nantes, France
BERNARD, Cécile - Paris, France	GUITTON-COTTARD, Isabelle - Marseille, France
BERTRAND, Céline - Marseille, France	HERVIEUX, Roselyne - Marseille, France
BILLARD, Chantal - Caen, France	HOUDAN, Aude - Caen, France
BRIAND, Jean-François - Paris, France	KSOURI, Jamel - Le Kram, Tunisie
BRIAND, Joël - Paris, France	LE GALL, Line - Caen, France
CANNUEL, Rozenn - Nantes, France	MAGNE, Francis - Paris, France
CAZAUBON, Arlette - Marseille, France	MANCEAU, Yannick - Le Mans, France
COIFFARD, Laurence - Saint Herblain, France	MENSI, Fethi - Le Kram, Tunisie
COUTÉ, Alain - Paris, France	MIGNOT, Jean-Pierre - Romagnat, France
DENIAUD, Estelle - Nantes, France	MIMOUNI, Virginie - Le Mans-Laval, France
DRUART, Jean-Claude - Thonon-les- Bains, France	MORANÇAIS, Michèle - Nantes, France
DUC, Jean-Michel - Rosny-sous-Bois, France	MOREAU, Christophe - Nantes, France
EL-ABED, Amor - Le Kram, Tunisie	MOUGET, Jean-Luc - Le Mans, France
EREMIA, Nathalie - Marseille, France	

* Publié sous la responsabilité de la SPF.

NOAILLES, Marie-Claude - Paris, France	RECH, Malko Le Mans, France
NOËL, Hugue - Aix-en-Provence, France	RINCE, Yves - Nantes, France
PELLEGRINI, Liliane - Marseille, France	ROBERT, Jean-Michel - Nantes, France
PELLEGRINI, Max - Marseille, France	ROBILLOT, C. - Paris, France
PÉREZ, René - Nantes, France	SERPETTE, Maurice - Paris, France
PESANDO, Danielle - Nice, France	SIDDI, Christelle - Marseille, France
PONDAVEN, Pierre - Nantes, France	TEN-HAGE, Loïc - Paris, France
PRADIER, Elizabeth - Le Mans, France	TREMBLIN, Gérard - Le Mans, France
PROBERT, Ian - Caen, France	TURPIN, Vincent - Nantes, France
PUISEUX-DAO, Simone - Paris, France	ULMANN, Lionel - Le Mans-Laval, France
QUIBLIER-LLOBERAS, Catherine - Paris, France	VASCHALDE, Céline - Marseille, France
	VACHOUX, Christelle- Le Mans, France
	YÉPRÉMIAN, Claude - Paris, France

IN MEMORIAM : YANNICK DE ROECK-HOLTZHAUER (1935-1999)

Yannick DE ROECK-HOLTZHAUER est décédée à Nantes, le 31 mai 1999, après une hospitalisation de plusieurs mois.

Née le 10 avril 1935 à Nantes, ville où elle a effectué de brillantes études pharmaceutiques (lauréate en fin de 1^{re}, 2^e, 3^e et 4^e année), puis toute sa carrière universitaire et hospitalière, elle obtient le diplôme de Pharmacie en 1957 puis poursuit ses études à Paris, ce qui lui permet d'accéder au titre de Docteur d'État en Pharmacie en soutenant sa thèse intitulée « *Contribution à l'étude d'un dosage normalisé de la papaine* », en 1961.

Yannick DE ROECK-HOLTZHAUER occupe tout d'abord un poste de préparateur de cours en Physique (1955/56) à la faculté des Sciences Pharmaceutiques de Nantes, puis elle gravit, de 1957 à 1959, dans le service de Pharmacie galénique de cette même Faculté, les différents grades universitaires : Assistant, Chef de Travaux, Chargé de Cours, puis Maître de Conférences. Agrégée en Pharmacie (section Pharmacie galénique) en 1965, elle est nommée Professeur en janvier 1970. A partir de cette époque et pendant près de 30 ans, le Prof. Y. DE ROECK-HOLTZHAUER va s'investir avec enthousiasme et pugnacité dans le domaine de la cosmétologie afin d'obtenir la reconnaissance universitaire de cette discipline ; elle s'attache notamment à concilier cosmétologie et valorisation des produits de la mer.

Du point de vue de ses recherches, il est possible de dégager plusieurs grandes périodes. Les années autour de 1974, sont marquées par la recherche en enzymologie. Rapidement, l'orientation vers la Cosmétologie se fait sentir, avec des travaux sur les méthodes d'évaluation des cosmétiques, principalement dans le domaine bucco-dentaire (essais des dentifrices *in vivo*, détermination de l'abrasivité et de l'effet anti-plaque de divers dentifrices...). Les années 1990 ont été consacrées à une recherche en cosmétologie résolument marine et par l'étude d'un certain nombre d'organismes végétaux (microalgues, grandes algues, plantes halophiles) ou animaux (mollusques marins tels que la crépidule) dans le but

d'une valorisation dans le domaine des produits d'hygiène ou de soins. Dans cet optique, a été réalisé un véritable *screening* de ces organismes, destiné à évaluer leurs potentialités en acides gras essentiels et en oligo-éléments, deux catégories de substances actives recherchées dans les cas de dysfonctionnements du phénomène de kératinisation.

Alain Couté

RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS

A - Algues d'eau douce

Étude d'une efflorescence à *Planktothrix agardhii* en région parisienne (France)

Jean-François BRIAND ^a, Cédric ROBILLOT ^b,
Catherine QUIBLIER-LLOBERAS ^c & Cécile BERNARD ^a

^a Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle,
12, rue Buffon, F-75005 Paris, France

^b Laboratoire Environnement et Chimie analytique, CNRS ERS 657,
École Supérieure de Physique et Chimie Industrielle, 10, rue Vauquelin,
F-75005 Paris, France

^c Laboratoire de Géochimie des Eaux, Université Paris 7 - Denis Diderot,
2, place Jussieu, F-75251 Paris cedex 5, France

Les cyanobactéries ou algues bleues sont des microorganismes photosynthétiques potentiellement toxiques. Elles sont de plus en plus considérées comme nuisibles en raison de leur capacité à former des « blooms » (proliférations massives), essentiellement en eau douce. La plupart des intoxications humaines et des morts d'animaux dues à des cyanobactéries ont été provoquées par des microcystines (hépatotoxines).

Une efflorescence permanente de la cyanobactérie filamenteuse hépatotoxique *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis et Komarek [Synonyme : *Oscillatoria agardhii* Gomont] a été suivie de janvier 1999 à février 2000 dans un lac eutrophe et peu profond du sud de Paris (Viry-Châtillon, France). Ce lac est utilisé comme base de loisirs. Un canal artificiel le relie à la Seine, où se situent, quelques kilomètres en aval, deux usines de traitement d'eau potable. Le suivi mensuel de la population phytoplanctonique a permis de mettre en évidence une forte biomasse durant toute la période d'étude, caractérisée par une très faible diversité algale. Les paramètres physico-chimiques de l'eau de la base nautique et du canal ont aussi été étudiés. On a pu notamment observer une eutrophisation marquée des sites.

La toxicité a été évaluée sur des prélèvements mensuels de blooms. Des concentrations importantes de microcystines ont été détectées par le test d'inhibition des protéines phosphatases 2A et quantifiées par chromatographie liquide haute performance couplée à une barrette de diode (HPLC-DAD). L'identification de cinq variants a été réalisée par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS).

Les conditions environnementales de développement de l'efflorescence à *P. agardhii*, sa toxicité et ses implications possibles sur la santé humaine sont discutées.

***Prorocentrum borbonicum* Ten-Hage et al. (Dinophyceae), une nouvelle espèce benthique toxique tropicale isolée à l'île de La Réunion (France)**

Loïc TEN-HAGE & Alain COUTÉ

Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Cryptogamie,
12, rue Buffon, F-75005 Paris, France

Prorocentrum borbonicum Ten-Hage et al. (Dinophyceae) est une espèce benthique tropicale isolée dans la zone récifale de Saint Leu, Ile de La Réunion (France, Sud-Ouest de l'Océan Indien). Cette espèce est caractérisée par des cellules relativement petites pour le genre (18-24 μm de longueur, 16-20 μm de largeur), de forme largement ovale, et dont la thèque est couverte de petites dépressions, perforées ou non d'un pore. On peut distinguer deux tailles de pores : des larges, distribués de façon homogène sur la surface de la thèque, et des petits, principalement disposés dans la région centrale et à la périphérie des valves. La région périflagellaire, en forme de V, disposée dans la zone apicale des cellules, est composée de huit plaques. Le pore flagellaire est de taille supérieure au pore auxiliaire.

Les analyses chimiques et toxicologiques des extraits obtenus à partir d'une culture d'une souche monoclonale de *P. borbonicum* ont permis de mettre en évidence son potentiel toxique. Deux types de toxines ont été caractérisés par leurs effets : (1) des toxines possédant des effets proches de la palytoxine, l'une des plus puissantes toxines marines, et (2) des toxines bloquant les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine. C'est la première fois que ces types d'effets sont signalés à partir de composés extraits d'une espèce de *Prorocentrum*. Deux nouvelles toxines, responsables du blocage des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine, ont été purifiées et caractérisées par spectrométrie de masse.

P. borbonicum représente donc une nouvelle source toxinique potentielle pour le réseau trophique marin. Il serait intéressant de préciser le rôle éventuel de cette espèce et de ses toxines dans les intoxications alimentaires ayant pour origine des toxines algales dans le sud-ouest de l'Océan Indien.

Bioaccumulation du zinc chez une souche de cyanobactéries du genre *Spirulina*

Roselyne HERVIEUX, Isabelle GUITTON-COTTARD,
Nathalie EREMIA, Céline VASCHALDE, Christelle SIDDI,
Daphné GARCIN. & Max PELLEGRINI

Laboratoire de Biologie Marine Fondamentale et Appliquée,
Faculté des Sciences de Luminy, Case 901, F-13288 Marseille cedex 9

La modélisation de la bioaccumulation d'éléments métalliques est la méthode la plus rationnelle pour calibrer une matière première destinée à la mise au point d'un actif cosmétique.

L'optimisation de l'accumulation du zinc par une souche de cyanobactérie du genre *Spirulina* a été réalisée en organisant les expériences selon une matrice de Doehlert à trois facteurs : la durée de la culture (de 1 à 5 jours) et les concentrations du milieu de culture en zinc (de 1 à 9 mg l^{-1}) et en calcium (de 1 à 90 mg l^{-1}). Les ensemencements des spirulines sur les milieux enrichis ont été effectués à partir d'une culture de masse parvenue en phase exponentielle de

croissance. Les biomasses ont été estimées par analyse spectrophotométrique à 750 nm sur du matériel frais et par pesée après filtration et séchage à l'étuve à 100 °C pendant 4h. Les dosages de chlorophylle *a* ont été effectués après extraction à l'acétone à 90 %. Le zinc a été dosé par spectrophotométrie à absorption atomique sur des spirulines récupérées par centrifugation, rapidement lavées dans un milieu de culture dépourvu de zinc puis lyophilisées. L'analyse des résultats a été réalisée par une régression linéaire multiple à l'aide du logiciel NEMROD (Mathieu & Phan-Tan-Luu, 1994).

Les modèles mathématiques obtenus révèlent des effets très hautement significatifs des trois facteurs et des actions significatives à très hautement significatives des interactions entre deux facteurs. Les effets conjugués du zinc et du calcium se traduisent par des variations importantes des teneurs en chlorophylle *a* (2 à 9 mg g⁻¹ MS) et en zinc (600 à 5500 µg g⁻¹ MS) par rapport à celles des cultures témoins (7 à 7,5 mg Chl *a* g⁻¹ MS et 400 à 600 µg Zn g⁻¹ MS). Les conditions d'optimisation de la biomasse (4,6 j de culture, 6,1 mg Zn l⁻¹ et 25,5 mg Ca l⁻¹) diffèrent essentiellement de celles de la bioaccumulation du zinc (1,9 j de culture, 7,8 mg Zn l⁻¹ et 25,5 mg Ca l⁻¹) par la durée de la culture et révèlent une absorption très rapide du zinc.

Ce phénomène laisse entrevoir la possibilité d'optimiser à la fois la bioaccumulation du zinc et la biomasse en effectuant les enrichissements en zinc et en calcium à partir d'une culture en phase stationnaire de croissance.

RÉFÉRENCE

MATHIEU D. & PHAN-TAN-LUU R., 1994 — Logiciel NEMROD, version 3.0. Laboratoire de prospective réactionnelle et d'analyse de l'information, Université d'Aix-Marseille 3.

La Diatomophycée, *Asterionella formosa* Hassal, dans le phytoplancton des retenues du complexe Durance-Verdon (Sud-Est de la France)

Céline BERTRAND, Stéphanie FAYOLLE & Arlette CAZAUBON

Laboratoire d'Ecologie des Eaux Continentales Méditerranéennes,
IMEP CNRS 6116, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme,
F-13397 Marseille cedex 20, France. email. celine.bertrand@univ. u-3mrs.fr.

La dynamique temporelle et spatiale de la Diatomophycée planctonique, *Asterionella formosa*, a été étudiée au sein de la communauté phytoplanctonique de huit retenues artificielles situées au sein du complexe Durance-Verdon. Ce complexe méditerranéen regroupe deux rivières aménagées, la Durance et son principal affluent, le Verdon. Le mode d'exploitation de ces deux cours d'eau est très différent, puisque sur la Durance, la majorité des eaux est dérivée dans un canal E.D.F. alors que sur le Verdon, de la source jusqu'au dernier réservoir hydro-électrique, les eaux circulent dans le lit naturel. Au cours des 18 mois d'étude, 184 relevés ont été effectués au sein de ce complexe.

Cette Heterokontophyta présente une forte hétérogénéité spatiale. Sur la Durance, seule la retenue de Serre-Ponçon apparaît propice au développement de cette espèce. Dans les retenues situées en aval de Serre-Ponçon, les conditions hydrodynamiques ne permettent pas le succès massif de cette algue. En revanche, sur le Verdon, elle se développe dans toutes les retenues.

Au sein de ce complexe, *A. formosa* amorce son développement dès l'automne pour disparaître à la fin du printemps ; le cycle de vie de cette diatomée correspond à ce qui est décrit dans la bibliographie (Lund, 1949). Deux pics densitaires ont été observés au cours du cycle annuel, le premier hivernal ou printanier en fonction de la localisation géographique de chaque retenue et le second automnal de moindre intensité. Au sein de chacune des retenues, *A. formosa* domine la communauté algale avant d'atteindre son pic densitaire.

Le développement hivernal ou printanier d'*A. formosa* est associé à un contexte abiotique particulier : eaux pauvres en substances azotées et phosphatées. Cette observation confirme sa capacité à croître dans des milieux pauvres en phosphore (Lund, 1950 ; Mackereth, 1953 ; Tilman *et al.*, 1976). D'autre part, les eaux fraîches, bien oxygénées et peu chargées en M.E.S. sont favorables au succès de cette algue ; *A. formosa* est dominante lorsque la température est inférieure à 10°C et, absente au dessus de 20°C alors que cette température correspond à son optimum de croissance en conditions expérimentales (Suzuki & Takahashi, 1995). Il semble également exister un lien entre *A. formosa* et la teneur en calcium de l'eau. Les fortes teneurs en calcium observées pendant la phase de développement de cette espèce chutent au moment de son pic densitaire.

À l'échelle du complexe Durance-Verdon, le développement d'*Asterionella formosa* semble donc fortement lié au mode de gestion des retenues ainsi qu'aux conditions thermiques, à la charge en M.E.S. et à la teneur en calcium de l'eau. Il reste à préciser le rôle du calcium sur le développement de cette diatomée planctonique, *A. formosa*.

RÉFÉRENCES

- LUND J.W.G., 1949 - Studies on *Asterionella* I. The origin and nature of cells producing seasonal maxima. *Journal of Ecology* 37 : 389-419.
- LUND J.W.G., 1950 - Studies on *Asterionella* II. Nutrient depletion and the spring maximum. *Journal of Ecology* 38 : 1-35
- MACKERETH F.J., 1953 - Phosphorus utilization by *Asterionella formosa* Hass. *Journal of Experimental Botany* 4 (12) : 296-313.
- SUZUKI Y. & TAKAHASHI M., 1995 - Growth responses of several diatom species isolated from various environments to temperature. *Journal of Phycology* 31 : 880-889.
- TILMAN D., KILHAM S.S. & KILHAM P., 1976 - Morphometric changes in *Asterionella formosa* colonies under phosphate and silicate limitation. *Limnology and Oceanography* 21 : 883-886.

B - Algues marines

Étude préliminaire sur les espèces *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacquin) Lamouroux et *Gelidium latifolium* (Greville) Bornet et Thuret, de Tunisie

B. S. RAFIK & Jamel KSOURI

Institut National des Sciences et Technologies de la mer Centre de Khéreddine,
29, Rue du Général-Khéreddine-Pacha. Le Kram, Tunis, Tunisie

Dans une étude préliminaire sur les algues productrices de phyco colloïdes en Tunisie, l'algue rouge carraghénophyte *Hypnea musciformis* a été récoltée dans quatre sites différents : le lac de Bizerte, Cap Zebib, Ghar el Melh (Sidi Ali El Mekki) et le canal de Khéreddine (Tunis). Deux types d'extraction de carra-

ghénanes ont été pratiqués : la première est appelée extraction alcaline. La seconde est dite extraction totale (uniquement dans l'eau). Par ailleurs, des échantillons de la rhodophycée agarophyte *Gelidium latifolium* ont été récoltés sur la côte nord tunisienne (à Ghar el Melh) afin d'en extraire et analyser l'agar-agar (rendement d'extraction, force de gel, point de gélification et point de fusion). Concernant *Hypnea*, les résultats obtenus montrent que le taux de carraghénanes extraits, varie suivant les différents sites, selon la première méthode, comme suit : entre 25,6 % et 29,2 % à Bizerte ; entre 24,6 % et 38,2 % à Cap Zebib ; entre 26,4 % et 29,5 % à Ghar et Melh ; entre 27,8 % et 29,5 % dans le canal de Khéreddine. Avec la deuxième méthode, le taux de carraghénanes extraits varie entre 16,4 % (dans le canal de Khéreddine) et 25,5 % (Ghar el Melh). Les différences observées entre les deux méthodes s'expliquent par le fait que l'ajout d'une solution alcaline favorise la formation de ponts hydrophobes dans la structure moléculaire des carraghénanes formée de galactose et d'anhydro-galactose ce qui permet d'augmenter leurs taux et leur confère un pouvoir gélifiant.

Pour *Gelidium*, les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction varie entre 17 % et 22 %. La force de gel varie entre 1060 et 1200 Nikans. Quant aux points de gélification et de fusion, ils oscillent respectivement entre 36 °C et 38 °C pour le premier et entre 88 °C et 100 °C pour le second.

Ces résultats préliminaires sont encourageants dans la mesure où il est possible d'entrevoir dans le futur des études plus approfondies sur les Hypnéacées et les Géliidiales de Tunisie. De telles études pourront porter sur la biologie, la culture (expérimentale puis pilote avant d'aboutir à l'échelle industrielle), dans le but d'extraire les phycocolloïdes de ces algues rouges qui sont largement utilisés, en tant que gélifiants et épaississants, notamment en industrie agro-alimentaire, en pharmacie, en cosmétique.

Étude de la structure et de l'organisation des parois de *Palmaria palmata* (Linnaeus) O. Kuntze (Rhodophyta)

Estelle DENIAU^a, Marc LAHAYE^a & Joël FLEURENCE^b

*^aUnité de Recherche sur les Polysaccharides, leurs Organisations et Interactions
Institut National de la Recherche Agronomique, BP 1627 F 44300 Nantes, France*

*^bLaboratoire de Biochimie des Protéines et Qualité,
Institut Français de Recherche et d'Étude de la mer, rue de l'Île-d'Yeu,
F-44300 Nantes, France*

Palmaria palmata (Linnaeus) O. Kuntze fait partie de la dizaine d'algues autorisées pour l'alimentation humaine en France. Ses principales potentialités nutritives sont ses fortes teneurs en fibres alimentaires et en protéines cytoplasmiques. Les parois cellulaires constituent une importante barrière physique à l'accessibilité de ces protéines : digestibilité et/ou extractabilité. La connaissance précise de l'organisation pariétale permettrait de mieux adapter les procédés biotechnologiques de transformation de l'algue. Les polysaccharides ont précédemment fait l'objet de plusieurs études mais des imprécisions structurales demeurent. Par ailleurs, les autres composés de la paroi n'ont pas été ou très peu caractérisés.

Notre travail s'inscrit dans ce cadre avec comme objectif final une meilleure compréhension de la structure et de l'organisation des parois cellulaires de *Palmaria palmata*, c'est-à-dire la détermination des différents polymères pariétaux, de leurs fonctions et interactions. Nous pourrions ainsi établir un modèle

pariétal suffisant pour expliquer l'impact des parois sur la réussite des procédés biotechnologiques et sur la texture de l'algue alimentaire.

Les premiers résultats obtenus ont permis la mise au point d'un protocole de purification des parois cellulaires prenant en compte les deux types cellulaires présents dans l'algue : cellules corticales et médullaires. L'obtention des parois purifiées est en effet indispensable à la mise en évidence d'une fraction protéique pariétale et à son étude ultérieure. Par ailleurs, nous avons apporté de nouvelles connaissances sur la structure des polysaccharides pariétaux : ionicité de certains xylanes, existence de polymères minoritaires (l'un riche en galactose et acides aminés et l'autre riche en glucose et en sulfates).

Effets de la qualité de la lumière sur la croissance, la photosynthèse et la production de marennine chez *Haslea ostrearia* Simonsen.

Gérard TREMBLIN, Christelle VACHOUX & Jean Luc MOUGET

*Laboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, EA 2663 (ISOMer),
Faculté des Sciences, Université du Maine, av. Olivier-Messiaen,
F-72085 Le Mans cedex 9, France*

La diatomée *Haslea ostrearia* est cultivée industriellement en lumière blanche artificielle (tubes fluorescents) et en conditions contrôlées depuis une dizaine d'années (SOPROMA, Bouin, France). Au cours de son développement, elle élabore et accumule un pigment bleu hydrosoluble (la marennine) essentiellement utilisé pour le verdissement des huîtres. Dans ce travail, nous avons cherché à optimiser l'éclairement afin de tenter d'améliorer la rentabilité des cultures en milieu non renouvelé. Ainsi les effets de la qualité de l'éclairement à deux niveaux d'irradiance ont été suivis sur des cultures expérimentales en batch dans les conditions du laboratoire. Dans une première série d'expériences (éclairagements isoquantiques bleu, jaune, vert, rouge et blanc) deux niveaux d'irradiance ont été utilisés : 20 et 100 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En culture sous faible éclairement, la croissance des algues éclairées en lumière bleue se différencie nettement de celle obtenue dans les autres conditions lumineuses. Sous plus fort éclairement, la croissance est identique quelle que soit la qualité de la lumière incidente.

Les paramètres de fluorescence ont été utilisés pour préciser l'état photosynthétique des microalgues au cours des cultures. Quelque soit le niveau ou la qualité de l'éclairement fourni, le rendement quantique maximal du photosystème II d'un échantillon d'algues précédemment placé à l'obscurité (Fv/Fm), reste sensiblement constant avec une valeur proche de 0,75 sous 100 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et de 0,8 sous un éclairement plus faible (20 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Le Taux Relatif de Transport des Electrons (RETR) tend à diminuer au cours du batch dans toutes les conditions lumineuses. Toutefois, sous un faible niveau d'éclairement, ce paramètre est plus élevé durant les premiers jours de culture pour les cellules placées sous lumière bleue, ce que traduit bien la plus forte croissance observée dans ces conditions. Cet « effet lumière bleue » disparaît ensuite au cours du batch avec des valeurs du RETR équivalentes sous les éclairagements blanc, bleu et rouge et, plus faibles encore dans les deux autres conditions. La quantité de marennine produite par les algues a été mesurée (en fin de culture) par spectrophotométrie dans le milieu et dans les algues après extraction dans un tampon approprié. Dans les deux cas, faible et fort niveau d'éclairement, les algues cultivées sous lumière bleue produisent davantage de marennine, respectivement 370 et 230 % de la quantité produite par les

témoins en lumière blanche. Pour confirmer ces résultats et afin d'envisager un transfert en milieu industriel, deux essais complémentaires ont été réalisés, l'un en utilisant des filtres bleus (filtres d'usage courant en polycarbonate pouvant couvrir de grandes surfaces), l'autre en utilisant des tubes fluorescents bleus du commerce. Ces expériences ont confirmé, sous faible niveau d'irradiance (réduction maximale des coûts énergétiques en vue d'une transposition des systèmes à plus grande échelle) et par rapport à un éclairage blanc, l'augmentation de la production de marennine en lumière bleue. Elle est de l'ordre de 180 à 200 % pour des taux de croissance équivalents, voire légèrement supérieurs dans le bleu. Dans la mesure où la production de marennine semble être l'objectif majeur de la culture industrielle de cette micro-algue, il ressort de ce travail une possibilité d'optimiser à moindre coût ces cultures.

L'activité anhydrase carbonique de quelques diatomées des claires ostréicoles

Annick Morant-MANCEAU, Elisabeth PRADIER & Gérard TREMBLIN

Laboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, EA 2663 (ISOMer),
Faculté des Sciences, Université du Maine, av. Olivier-Messiaen,
F-72085 Le Mans cedex 9, France

Dans l'eau de mer, le carbone inorganique (Ci) disponible est présent sous quatre formes en équilibre : CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- et CO_3^{2-} . De nombreux travaux ont mis en évidence chez les algues l'utilisation des ions HCO_3^- comme source de CO_2 pour la photosynthèse. La déshydratation des ions HCO_3^- est catalysée par une anhydrase carbonique (AC) interne et/ou externe. Un transporteur d'anions HCO_3^- a aussi été mis en évidence dans le plasmalemme. L'importance de ces divers mécanismes dans la fourniture de CO_2 pour la photosynthèse de quatre diatomées présentes dans les claires ostréicoles : *Haslea ostrearia* Simonsen, *Navicula phyllepta* Kützing, *Amphora coffeaeformis* (Agardh) Kützing et *Entomoneis paludosa* (W. Smith) Reimer a été précisée. L'activité AC a été mesurée *in vitro* par potentiométrie. Le temps nécessaire pour obtenir une baisse de pH de 0,4 unité est mesuré sans matériel végétal (T0) et avec les algues (T). Une unité enzymatique (UE) AC est définie par le rapport $(T_0 - T) / T$. Elle est exprimée en fonction de la masse de chlorophylle *a*. La photosynthèse a été mesurée à l'aide d'une électrode de Clark sous un éclairage saturant de $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. L'acétazolamide (AZ), l'éthoxyzalamide (EZ) et le 4,4'-diisothiocyanostibilène-2,2'-disulfonate (DIDS) inhibent respectivement l'AC externe, l'AC totale et le transport d'ions HCO_3^- . Une activité AC significative a été mesurée chez les quatre diatomées, *H. ostrearia* ayant l'activité totale la plus élevée ($52 \text{ UE mg}^{-1} \text{ chl } a$) et *E. paludosa* la plus faible ($13,5 \text{ UE mg}^{-1} \text{ chl } a$). Chez les quatre microalgues, l'activité AC interne représente entre 53 et 63 % de l'activité totale. La présence d'EZ $200 \mu\text{M}$ dans le milieu de culture inhibe complètement la photosynthèse nette d'*H. ostrearia*, *N. phyllepta* et *A. coffeaeformis*; pour *E. paludosa*, une concentration de $300 \mu\text{M}$ est nécessaire. Des concentrations croissantes en AZ (100 à $600 \mu\text{M}$) augmentent le pourcentage d'inhibition de la photosynthèse nette des quatre diatomées. Les quatre diatomées semblent avoir, au niveau du plasmalemme, un système de transport des ions HCO_3^- sensible au DIDS $300 \mu\text{M}$. La photosynthèse des algues est donc partiellement dépendante de cette entrée directe d'ions HCO_3^- dans les cellules. En conclusion, la fourniture de Ci nécessaire à l'activité photosynthétique des quatre diatomées est assurée en partie par une activité AC significative aussi bien au niveau du plasmalemme que du cyto-

plasme et par un transport transmembranaire d'anions HCO_3^- . Chez *E. paludosa*, la diffusion de CO_2 semble être la source principale de Ci puisque cette algue, contrairement aux trois autres, est peu sensible aux inhibiteurs utilisés.

Biosynthèse des acides gras à longue chaîne chez *Haslea ostrearia* Simonsen : influence du niveau d'éclairement

Lionel ULMANN ^{a, b}, Virginie MIMOUNI ^{a, b} et Gérard TREMBLIN ^b

^a IUT de Laval, Département Génie Biologique,
rue du Docteur Calmette-et-Guérin, 53000 Laval

^b Faculté des Sciences du Mans, EA 2663 Ecophysiologie Marine Intégrée,
Université du Maine, av. Olivier-Messiaen, F-72085 Le Mans cedex 9, France

Le but de notre travail est d'étudier l'influence de l'irradiance (20, 100 et 500 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sur la synthèse des acides gras polyinsaturés (AGPI) chez *Haslea ostrearia* Simonsen, diatomée marine impliquée dans le verdissement des huîtres, en phase exponentielle de croissance (E) et en phase plateau (P). Après culture des microalgues, les esters méthyliques d'acides gras sont analysés par chromatographie en phase gazeuse. Les résultats montrent une augmentation des teneurs en AGPI et une diminution des taux d'acides gras monoinsaturés (AGMI), en phase plateau, par rapport à la phase exponentielle, quelle que soit l'intensité de l'éclairement. En phase exponentielle de croissance, nous observons une augmentation des taux en AGMI avec l'éclairement, alors qu'en phase plateau, il semblerait que ce soit à 100 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ que l'on ait le plus haut taux d'AGMI. Les taux d'acide eicosapentaénoïque (EPA) sont toujours nettement supérieurs aux taux d'acide docosahexaénoïque (DHA). Aucune influence du niveau d'éclairement n'a été observée sur les taux d'EPA et de DHA en phase exponentielle de croissance. En revanche, en phase plateau, l'augmentation de l'éclairement induit une diminution des taux en EPA alors qu'elle induit une augmentation des taux de DHA.

Application de la fluorimétrie modulée aux macroalgues : avantages et contraintes du FMS (Hansatech)

Jean-Luc MOUGET & Gérard TREMBLIN

Laboratoire de Physiologie et de Biochimie Végétales, EA 2663 (ISOMer),
Faculté des Sciences, Université du Maine, av. Olivier-Messiaen,
F-72085 Le Mans cedex 9, France

La fluorimétrie modulée est un outil performant pour l'étude de la photosynthèse. Comparée à l'oxymétrie et à l'utilisation de radioisotopes, les mesures de fluorescence sont non invasives et non confinées, et elles apportent des renseignements sur les mécanismes fins de la photosynthèse. Chez un organisme photosynthétique, la fluorescence correspond à la désactivation radiative de l'excitation des molécules de chlorophylle *a* constituant les complexes protéines-pigments des photosystèmes. *In vivo* et à température ambiante, chez les algues comme chez les végétaux supérieurs, l'essentiel de l'émission de fluorescence de la chlorophylle *a* provient du PSII, avec un rendement faible (environ 1-3 %) ; ce rendement varie en fonction de l'efficacité des autres voies de désactivation, essentiellement la photochimie (séparation de charge, de l'ordre de 80 %) et la

dissipation thermique (environ 10 %). Un fluorimètre modulé comporte une lumière analytique modulée dont l'intensité est suffisamment faible pour ne pas déclencher de photochimie, et un détecteur qui ne considère que la fluorescence provoquée par le signal modulé. Combiné à la méthode des flashes saturants, il permet de connaître la répartition de l'énergie captée par les PSII entre les 3 voies de dissipation possibles (photochimie, fluorescence, chaleur), qui dépend de l'état et du fonctionnement de l'appareil photosynthétique.

Les mesures de fluorescence avec le FMS, appareil destiné originellement aux plantes supérieures, ne posent pas de problème particulier avec les Chlorophycées (*Ulva* sp.), dont le contenu pigmentaire est peu différent de celui des végétaux supérieurs. Bien que donnant des résultats satisfaisants avec les Rhodophycées (*Palmaria palmata*), la sensibilité du FMS est parfois insuffisante, d'où des problèmes liés au bruit électronique (gain au maximum), ou à la détection du signal modulé. Chez certaines Phéophycées, deux problèmes peuvent survenir. Des valeurs de F_m' (fluorescence maximale de l'échantillon adapté à la lumière) supérieures à F_m (fluorescence maximale de l'échantillon adapté à l'obscurité) sont fréquemment observées aux faibles niveaux de lumière actinique (généralement = $100 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$), notamment chez *Fucus vesiculosus*, *F. serratus* et *F. spiralis*. L'augmentation de la durée de la période d'obscurité (jusqu'à 1 h 30) préalable à la mesure de F_m n'a aucune influence sur ce phénomène.

Chez ces mêmes espèces de Fucacées, les valeurs de F_s (fluorescence d'un échantillon éclairé) mesurées à un niveau plus élevé de lumière actinique (= $200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sont souvent inférieures à F_0 (fluorescence minimale mesurée sur un échantillon adapté à l'obscurité). Ce dernier phénomène serait lié à l'établissement d'un important *quenching* non photochimique dans les antennes du PSII, et dépendrait du cycle des xanthines présentes (transformation sous forte lumière de la violaxanthine en zéaxanthine, ou de la diadinoxanthine en diatoxanthine). Ce phénomène rend incontournable la détermination expérimentale (ou le calcul théorique) de F_0' (fluorescence minimale mesurée sur un échantillon adapté à la lumière) pour réaliser une analyse de *quenching*.

En conclusion, le FMS est un appareil relativement performant, simple d'utilisation et adéquat pour l'étude de la photosynthèse chez les macroalgues et la réalisation d'analyses de *quenching* de fluorescence. Sa sensibilité est parfois limitante avec des algues émettant un signal de fluorescence faible (Rhodophycées). Enfin, le problème des valeurs de F_m' supérieures à F_m n'est pas spécifique au FMS, bien que cet appareil, de par sa conception, et contrairement à d'autres modèles de fluorimètre (PAM, Walz), offre une plage étendue de faibles niveaux de lumière actinique, mieux à même de le mettre en évidence.

Influence du fer et du manganèse dissous sur la croissance et la physiologie de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen.

Christophe MOREAU ^a, Gérard TREMBLIN ^a & Jean-Michel ROBERT ^b

^a ISOMer – EA 2663, Université de Nantes, Faculté des Sciences et Techniques,
2, rue de la Houssinière, BP 92208, F-44322 Nantes cedex 3, France

^b ISOMer – EA 2663, Faculté des Sciences, Université du Maine,
av. Olivier-Messiaen, F-72085 Le Mans cedex 9, France

Lors d'une étude précédente de l'influence de huit métaux-traces, sur la croissance de *Haslea ostrearia* Simonsen il avait été montré l'importance du fer et du manganèse. Il est vrai que ces deux métaux sont connus pour être les plus impor-

tants dans le développement des microalgues ou pour la stimulation d'une population naturelle phytoplanctonique cultivée en présence de ces éléments. Il nous semblait donc intéressant d'étudier et de vérifier l'influence de ces deux micronutriments sur la croissance et la physiologie de cette espèce. Ces métaux sont apportés de façon équimolaire avec de l'EDTA, et à différentes concentrations correspondant aux concentrations utilisées lors de la confection des milieux f/2, 2f et 4f de Guillard. Des mesures de la production de biomasse algale et du dégagement d'oxygène lors de la photosynthèse sont réalisées par des tests biologiques sur des cultures enrichies différenciellement en ces deux métaux-traces. Comme nous l'avons précédemment montré, la présence de fer dans les enrichissements permet d'augmenter le taux de croissance au cours de la phase exponentielle et la présence de manganèse semblerait favoriser l'utilisation de l'azote organique dissous lorsque l'azote inorganique est épuisé dans le milieu (à J7, pour les cultures enrichies en métaux). L'activité photosynthétique est donc mesurée au cinquième jour (phase exponentielle de croissance) et au huitième jour (phase stationnaire de croissance).

On note une augmentation de l'intensité photosynthétique apparente (I.P.) des cellules cultivées sur milieu enrichi en fer, durant la phase exponentielle de croissance, puis sa diminution jusqu'à devenir inférieure à l'I.P. du témoin. Cette différence peut s'expliquer par le fait que lorsque les cellules algales cultivées sur les milieux enrichis en fer arrivent en phase stationnaire de croissance (J8), les cellules de la culture témoin sont en fin de phase exponentielle de croissance. Parallèlement, la présence de manganèse dans le mélange métallique entraîne toujours une diminution significative de l'effet positif du fer, lors de la phase exponentielle de croissance. De plus, le dosage de la marennine, au huitième jour de culture, montre une augmentation de la teneur de ce pigment libéré par l'algue dans tous les milieux enrichis par rapport au milieu témoin. Cependant la teneur intracellulaire en chlorophylle *a* augmente par rapport à celle de la culture témoin parallèlement à un enrichissement en fer, seul ou en présence de manganèse. Compte tenu de cette variation de la teneur en pigment, il apparaît essentiel de rapporter l'intensité photosynthétique apparente des cellules à la chlorophylle *a*, responsable de ce processus métabolique. Contrairement aux observations précédentes faites au cinquième jour de culture, on note seulement une diminution significative de l'I.P. avec le mélange enrichissant FeMn₃, les autres enrichissements métalliques ne provoquant pas de modification significative de l'I.P. rapportée à la chlorophylle *a*. Au huitième jour de culture, les résultats sont les mêmes, à savoir aucune influence par rapport à la culture témoin ou une diminution significative de l'I.P. dans presque toutes les conditions d'enrichissement métallique.

La stimulation de l'intensité photosynthétique apparente des cellules, en présence de fer, semble donc due plus à une modification de la taille des antennes collectrices de la lumière plutôt qu'à une augmentation de leur efficacité photosynthétique.

Utilisation des algues unicellulaires dans les essais écotoxicologiques permettant d'évaluer les risques des produits chimiques pour l'homme et son environnement

A. PESANDO

Faculté des Sciences - Parc Valrose, F-06108 Nice cedex 2, France

Dans le cadre de l'élaboration de réglementations en écotoxicologie rendant obligatoire la surveillance des pollutions et l'étude des propriétés toxiques des

substances chimiques produites par l'industrie, vis à vis de l'environnement, un certain nombre de tests répondant à des protocoles normalisés ont été mis au point.

Parmi les modèles utilisés pour ces tests, les algues unicellulaires présentent plus particulièrement un intérêt écotoxicologique car elles sont à la base de la chaîne alimentaire, sont représentatives des milieux aquatiques et leur cycle de division est rapide. En outre, elles sont faciles à cultiver et peu coûteuses. Ce test permet de mesurer une inhibition de la croissance d'une culture de microalgues et d'évaluer en quelques jours les effets d'une substance toxique sur plusieurs générations.

Quelques exemples d'utilisation du test microalgues ont été présentés. Ils concernent des contaminants de l'environnement tels que les nitro-aromatiques, des produits utilisés en cosmétologie (conservateurs et tensio-actifs) ainsi qu'une toxine naturelle la caulerpénine métabolite majoritaire de l'algue verte *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. La sensibilité de ce test est évaluée en comparant les effets toxiques des produits étudiés avec ceux obtenus en utilisant d'autres modèles.

**Réponse de deux diatomées dominantes des claires ostréicoles,
Haslea ostrearia Simonsen et *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve
à des modifications de la qualité spectrale de la lumière.**

Rozenn CANNUEL^a, Malko RECH^b, Jean-Luc MOUGET^b,
Jean-Michel ROBERT^a & Gérard TREMBLIN^b

^aLaboratoire de Biologie Marine, ISOMer, Université de Nantes,
2, rue de la Houssinière, BP 92208, F-44322 Nantes cedex 3, France

^bLaboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, EA 2663 (ISOMer),
Faculté des Sciences, Université du Maine, av. Olivier-Messiaen,
F-72085 Le Mans cedex 9, France

En milieu marin, les caractéristiques spectrales de la lumière solaire incidente sont modifiées par la colonne d'eau, celle-ci agissant comme un filtre sélectif diminuant l'irradiance et laissant passer majoritairement les radiations bleues et bleu-vertes. C'est cette lumière modifiée que les organismes marins autotrophes utilisent lors de la photosynthèse. Par ailleurs, si l'eau de mer peut changer la qualité spectrale de la lumière, un organisme vivant peut également influencer sur son environnement. Ainsi, la diatomée *Haslea ostrearia* qui colonise régulièrement les claires produit un pigment bleu-vert hydrosoluble, appelé marennine, capable de modifier la qualité de la lumière dans ces milieux artificiels.

L'objectif de ce travail est d'étudier la réponse d'*H. ostrearia* et de *Skeletonema costatum*, autre diatomée dominante des claires ostréicoles, à des modifications *in vitro* de la qualité spectrale de l'éclairement incident. Trois types d'éclaircements isoquantiques ($100 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ont été testés : un éclaircissement blanc (témoin), un éclaircissement bleu et un éclaircissement blanc filtré par de la marennine en solution (FM). Après avoir été acclimatées à ces trois conditions d'éclaircissement, *H. ostrearia* et *S. costatum* ont été cultivées en milieu renouvelé afin de les maintenir en phase exponentielle de croissance. La croissance et la teneur en Chl *a* ont été suivies lors de cultures en batch. Pour *H. ostrearia*, les éclaircissements blanc et FM ont donné des résultats similaires, tandis que l'éclaircissement bleu a ralenti la croissance des micro-algues, mais par contre a permis l'obtention d'une

concentration en cellules légèrement plus élevée. Pour *S. costatum*, les trois courbes de croissance obtenues étaient semblables jusqu'au 6^e jour. Passé ce délai, l'éclairement FM a engendré un ralentissement de la croissance mais une biomasse plus importante a été obtenue en fin de culture. En ce qui concerne les teneurs en Chl *a* des deux diatomées au cours de la culture, deux types de réponses ont été observés. Chez *H. ostrearia*, le contenu cellulaire en Chl *a* est resté stable, alors que chez *S. costatum* les teneurs en Chl *a* ont diminué d'environ 80 % au bout de 11 jours de culture. Chez *H. ostrearia* l'activité photosynthétique maximale (Pmax) la plus élevée a été observée chez les algues cultivées sous une lumière blanche filtrée par la marennine et avec l'éclairement bleu pour *S. costatum*. En revanche, par rapport au témoin (lumière blanche), l'éclairement bleu n'a pas stimulé l'activité photosynthétique d'*H. ostrearia*. Les cellules de *S. costatum* cultivées sous une lumière blanche filtrée par la marennine (FM) ont montré une activité photosynthétique réduite par rapport à celle des individus cultivés avec l'éclairement Témoin. L'effet stimulateur de la lumière bleue sur la croissance et la photosynthèse, phénomène connu chez les Phéophycées, n'a pas été retrouvé ici. Par ailleurs, la faible activité photosynthétique mesurée pour *S. costatum* cultivée sous une lumière blanche filtrée par la marennine pourrait expliquer la prédominance régulière d'*H. ostrearia* dans les claires ostréicoles.

C-Algues et Biotechnologie

Les matières premières d'origine marine : intérêt pour l'industrie cosmétique

Laurence J. M. COIFFARD

*L.P.I.C., Université de Nantes, 2, rue de la Houssinière,
44072 Nantes cedex 3, France*

Différents constituants biochimiques et hydrominéraux ont un intérêt capital au niveau cutané. Beaucoup de matières premières d'origine marine sont donc susceptibles d'intéresser le formulateur, soit en tant qu'actif, soit en tant qu'excipient ou additif.

En tant qu'actifs, l'industrie cosmétique a besoin de vitamines, d'acides aminés, d'acides gras et d'oligo-éléments. Parmi les vitamines, il faut citer le rétinol qui régularise le phénomène de kératinisation et induit des modifications dermiques, les vitamines du groupe B permettant de formuler, en particulier grâce à leurs propriétés antiséborrhéiques, des produits de soin pour les cheveux et les phanères, l'acide ascorbique à activité antiradicalaire et dépigmentante et enfin la vitamine E à propriétés antiradicalaires et hydratantes.

Les acides aminés, quant à eux, jouent un rôle dans l'hydratation cutanée puisqu'ils représentent 40 %, du Natural Moisturizing Factor ; l'acide aminé le plus abondant étant la sérine. Il faut, par ailleurs, mentionner le rôle de la tyrosine, pré-curseur des mélanines, dans le bronzage.

Les acides gras essentiels jouent un rôle fondamental dans la fonction barrière de la peau : ils diminuent la perte insensible d'eau.

Enfin, de nombreux oligo-éléments (Cu, Zn, Mn, Mg, Se, IZ, Si...) sont indispensables au bon fonctionnement de la peau.

Toutes ces substances, qualifiées d'eudermiques, se retrouvent à des degrés différents dans diverses matières premières d'origine marine : l'eau de mer, de grandes algues (*Ulva* sp. par exemple), des microalgues (*Dunaliella* sp.), des plantes halophiles (*Salicornia* sp.), des matières premières d'origine animale (huile de Brème de mer).

Les organismes marins peuvent également être source d'excipients (chitosanes, alginates, carraghénanes).

La phycocosmétologie fait partie intégrante de la cosmétologie. Il s'agit même d'une branche en pleine expansion qui fait l'objet de nombreuses études prospectives.

Caractérisation et quantification d'un extrait de marennine, pigment produit par la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen

Jean-Michel ROBERT^a, Michèle MORANÇAIS^a, Pierre PONDAVEN^a,
Elisabeth PRADIER^b, Jean-Luc MOUGÉT^b & Gérard TREMBLIN^b

^aLaboratoire de Biologie Marine, EA 2663 (ISOMer) ; Université de Nantes,
2, rue de la Houssinière, F-44072 Nantes cedex 3, France.

^bLaboratoire de Physiologie et Biochimie Végétales, EA 2663 (ISOMer),
Faculté des Sciences, Université du Maine, av. Olivier-Messiaen,
F-72085 Le Mans cedex 9, France

La marennine est un pigment hydrosoluble de couleur bleu-vert synthétisé par la diatomée pennée *Haslea ostrearia* Simonsen. Sa nature chimique n'est pas encore élucidée, et la purification du chromophore, en cours, se heurte à de nombreuses difficultés. Afin de pouvoir, quantifier rapidement ce pigment lors de nos travaux, une première méthode d'extraction est proposée. A partir de l'extrait obtenu, et après purification partielle, un coefficient d'extinction spécifique est déterminé.

L'extrait de marennine est obtenu à partir de cellules algales cultivées en système non renouvelé. La biomasse est concentrée à la fin de la phase exponentielle de croissance par centrifugation semi-continue (13 800 g). Les cellules sont broyées dans plusieurs bains d'acétone à 80 %, jusqu'à ce que les chlorophylles et les caroténoïdes soient complètement extraits. La pâte d'algues est ensuite récupérée sur filtre GF/C. Les lipides, les glucides et les protéines sont éliminés par solubilisation dans un mélange chloroforme-méthanol-eau. Après centrifugation, le culot contenant toujours les débris cellulaires est rincé à l'acétone à 80 % et mis à sécher à l'abri de la lumière. La marennine est ensuite extraite de ce résidu cellulaire dans une solution de faible force ionique (0,5 M - K₂SO₄) à 80 °C puis concentrée sur résine échangeuse d'anions de type DEAE Sépharose. L'extrait est alors dialysé pour éliminer les sels, puis lyophilisé.

L'effet du pH sur le spectre d'absorption de la marennine partiellement purifiée est mis en évidence en présence d'un tampon universel. La longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption change selon le pH : de 596 nm à pH 3 jusqu'à 670 nm à pH 11. Le coefficient d'extinction spécifique est déterminé dans un tampon phosphate à pH 8, valeur proche de celle qui caractérise l'eau de mer ou encore le milieu de culture en phase plateau. Pour la première fois, à partir de cette méthode, un coefficient d'extinction spécifique est proposé :

E % 1 cm = 17,2 à 669 nm, valeur moyenne obtenue à partir de 6 extraits différents correspondant à des échantillons de cultures effectuées entre 1995 et 1998.

Les résultats quantitatifs obtenus par application de cette méthode d'estimation sont présentés à partir d'une culture non renouvelée afin d'intégrer la quantité de marennine dans l'ensemble des paramètres caractérisant la croissance de l'algue.

RÉFÉRENCE

ROBERT J.M. & HALLET J.N. 1981 — Absorption spectrum *in vivo* of the blue pigment « marennine » of the pennate diatom *Navicula ostrearia* Bory. *Journal of Experimental Botany* 32 (127) : 341 – 345.

La diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen : enjeux de sa production en masse *in situ*

Vincent TURPIN^a, Jean-Michel ROBERT^a & Philippe GOULLETQUER^b

^aLaboratoire de Biologie Marine (ISOMer), Université de Nantes,
Faculté des Sciences et Techniques, 2, rue de la Houssinière, BP 92208,
F-44322 Nantes cedex 3, France

^bIFREMER – Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes, BP 133,
F-17390 La Tremblade, France

Le phénomène de verdissement intervient au sein des claires ostréicoles utilisées pour l'affinage des huîtres [Moreau (1970), Robert (1983)]. Durant leur séjour dans ces bassins, les huîtres peuvent acquérir une coloration verte due à la fixation d'un pigment bleu appelé « marennine » dont l'agent responsable n'est autre que la diatomée *Haslea ostrearia*. Cependant en milieu naturel ce phénomène restait aléatoire et non contrôlable par les ostréiculteurs. Des travaux récents (Lebeau *et al.*, 1998 ; Turpin *et al.*, 1999) offrent de nouvelles perspectives de recherche, où les enjeux concernant la maîtrise de la production en masse de cette espèce sont nombreux. À l'heure actuelle, une seule unité de production en masse d'*H. ostrearia* existe, société SOPROMA implantée à Bouin (85). Malgré des avantages importants (utilisation d'eaux souterraines salées), ce type de production nécessite des moyens conséquents (Production en milieu confiné...), c'est pourquoi une solution alternative a pu être proposée et validée en milieu naturel (Turpin *et al.*, 2001). Les enjeux de ces deux types de production de masse, passent par la valorisation des cultures. Tout d'abord le premier objectif est de favoriser l'installation du phénomène dans les claires. En effet, dans la région de Marennes-Oléron, l'obtention du Label Rouge pour l'appellation AFNOR « Fines de claires vertes » revêt une importance économique non négligeable. De plus, une autre voie de recherche consistait à trouver des débouchés à la production de pâte d'algue. En effet, la particularité de cette diatomée est de synthétiser de la « marennine ». Un extrait brut de cette substance, a été testé *in vitro* sur des tumeurs du type carcinome et mélanome (Carbonelle *et al.*, 1999). Les résultats prometteurs obtenus, montrent pour une injection de l'extrait brut un effet anti-tumoral et anti-proliférateur sur les cellules cancéreuses. Une autre voie intéressante a été développée par Lebeau *et al.* (1998) par la mise au point d'un procédé approprié au transport et à la commercialisation éventuelle d'un inoculum mono-

spécifique concentré d'*Haslea ostrearia*. Il a été possible d'immobiliser en billes d'alginate de fortes concentrations de la diatomée, jusqu'à 107 cell. mL⁻¹ et de conserver ces algues à 4 °C dans un milieu nutritif sous faible éclaircissement pendant plus de deux mois, sans altérer leur viabilité. Ce procédé original permettra de fournir un inoculum aux producteurs désireux de réaliser leur propre pré-culture de 500 L et d'envisager une production de masse en milieu naturel.

RÉFÉRENCES

- CARBONNELLE D., PONDAVEN P., MORANÇAIS M., MASSE G., BOSCH S., JACQUOT C., BRIAND G., ROBERT J.-M. & ROUSSAKIS C., 1999 — Antitumor and Antiproliferative effects of an aqueous extract from the marine diatom *Haslea ostrearia* Simonsen against solid tumors : lung carcinoma (NSCLC-N6), kidney carcinoma (E39) and melanoma (M96) cell lines. *Anticancer Research* 19 : 621-624.
- LEBEAU T., MOAN R., TURPIN V. & ROBERT J.-M., 1998 — Alginate-entrapped *Haslea ostrearia* as inoculum for the greening of oysters. *Biotechnology Techniques* 12 (11) : 847-850.
- MOREAU J., 1970 — Contribution aux recherches écologiques sur les claires à huîtres du bassin de Marennes-Oléron. *Rev. Travaux Institut Pêches maritimes* 34 : 380-462.
- NEUVILLE D., 1978 — Les diatomées des claires ostréicoles. Contribution des techniques de culture *in vitro* à l'étude de leur biologie. Thèse Doctorat. Etat, Univ. Poitiers, 279 p.
- ROBERT J.-M., 1983 — Fertilité des eaux des claires ostréicoles et verdissement. Utilisation de l'azote par les diatomées dominantes. Thèse Doctorat Etat, Univ. Nantes, 281 p + Annexes.
- TURPIN V., ROBERT J.-M. & GOULLETQUER P., 1999 — Limiting nutrients of oyster pond seawaters in the Marennes-Oléron region for *Haslea ostrearia* : applications to the mass production of the diatom in mesocosm experiments. *Aquatic Living Resources*, 12 (5) : 335-342.
- TURPIN V., ROBERT J.-M., GOULLETQUER P., MASSÉ G & ROSA P., 2001 — Oyster greening by outdoor mass culture of the diatom *Haslea ostrearia* Simonsen in enriched seawater. *Aquaculture Research* 32 : 801-809.

Prospection des voies de valorisation des végétaux marins en Tunisie

Jamel KSOURI^a, Rafi BEN SAÏD^a, Amor EL ABED^a, René PEREZ^b,
Max PELLEGRINI^c & Fethi MENSI (')

^aInstitut National des Sciences et Technologies de la Mer (INSTM - Tunisie)

^bInstitut Français de Recherche en Mer (IFREMER),
Rue de l'Île-d'Yeu, F-44300 F – Nantes, France.

^cFaculté des sciences de Luminy, Case 901, F-13288 Marseille cedex 9, France

Les algues ont certes un rôle fondamental dans l'équilibre des écosystèmes aquatiques, mais elles représentent aujourd'hui un poids économique important. La plus grande part des tonnages de cette matière première industrielle provient de l'algoculture qui est appelée à faire face à l'augmentation considérable de la demande, la part de la récolte traditionnelle ne cessant de décroître.

En Tunisie, les travaux consacrés à la flore marine, relativement très peu nombreux par comparaison à ceux traitant de la faune marine, n'ont pratiquement

pas touché aux aspects d'exploitation des végétaux marins. À l'occasion du Plan Directeur de l'Aquaculture en Tunisie (Projet PNUD/FAO - 1992), l'algoculture est apparue comme un créneau qu'il importe d'explorer.

C'est ainsi que l'INSTM a mis en place des programmes de recherche-développement dans le cadre de projets nationaux (Programmes Nationaux Mobilisateurs 1996-1999 ; Contrats-Objectifs 1999-2002) et de coopération internationale (Projet Aquaculture 2001 – INSTM/IFREMER 1997-2001 ; Convention de coopération INSTM/Faculté des Sciences de Luminy).

Ces programmes ont porté sur les thèmes suivants :

– Étude des possibilités de valorisation de certaines algues productrices de phycocolloïdes : *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss et *Gelidium latifolium* (Greville) Bornet et Thuret (agar), *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (carraghénanes) et *Dictyopteris membranacea* (Stackhouse) Batters (alginates).

A ce niveau, les travaux ont porté sur des prospections dans des sites lagunaires et marins visant la détermination de l'aire de répartition, l'évaluation des biomasses disponibles dans des sites ateliers, l'estimation des surfaces d'extension, la réalisation d'extraction et la mise en place de cultures expérimentales *in situ*. Particulièrement pour *Gracilaria verrucosa*, les résultats déjà enregistrés sont encourageants et laissent présager des opportunités d'exploitation.

– Exploration des voies de valorisation de certaines espèces d'algues et de phanérogames marines en alimentation animale. Ce projet, en cours d'exécution en partenariat avec l'Institut National de Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT) et l'École Nationale de Médecine Vétérinaire (ENMV), a porté dans une première phase sur la sélection de deux algues vertes [*Ulva* sp. et *Chaetomorpha linum* (Müller) Kützing] et trois phanérogames [*Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile, *Ruppia cirrhosa* (Petania) Grande et *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson] sur la base de leur abondance souvent en grandes quantités en épave ou dans le milieu, marin ou lagunaire, lui-même. La deuxième phase intéresse la détermination de la composition chimique de ces espèces. La troisième phase devrait déboucher, sur la base notamment des teneurs en protéines, matières minérales et cellulose brute, sur l'incorporation de certaines espèces dans l'alimentation de certains animaux terrestres (lapin, poulet...) et aquatiques (*Tilapia*, carpe, mulot).