

CULTURE DES SPORES DE *GRACILARIA GRACILIS* (STACKHOUSE) M. STEENTOFT, L.M. IRVINE ET W.F. FARNHAM, 2006 ET *G. BURSA-PASTORIS* (GMELIN) SILVA, 1952, DE LA LAGUNE DE BIZERTE

Rafik BEN SAID* et H. AOUMI

Institut National des Sciences et Technologies de la Mer

Rafik.bensaid@instm.rnrt.tn



دراسة استزراع مخبرية للابواغ الثمرية والرباعية المتأتية من الطحليين الأحمرين من جنس غراسيلاريا : تمت دراسة استزراع مخبرية للابواغ الثمرية والرباعية المتأتية من الطحليين الأحمرين من جنس غراسيلاريا وهما غراسيلاريا غراسيليس وغراسيلاريا بورسا بستوريس والمتواجدين في بحيرة بنزرت. وقد تمت تجربة عدة مستويات من شدة الإضاءة والدورة الضوئية. وبينت النتائج المتحصل عليها أن دورة ضوئية تقدر بـ 16/8 مع شدة إضاءة تساوي 2000 لوكس تمثل أفضل الظروف لكلا الطحليين بالنسبة للابواغ الثمرية. أما الأيوغ الرباعية فإن أفضل النتائج تم التحصل عليها تحت نفس الدورة الضوئية ولكن تحت إضاءة تقدر بـ 3600 لوكس بالنسبة للنوع الأول و 2000 لوكس بالنسبة للنوع الثاني. وهذه النتائج تبرز أن كل نوع له حاجياته من ظروف الإضاءة رغم بعض التلاقي وهو ما يجب أخذه بعين الاعتبار في عمليات الاستزراع المستقبلية وعلى نطاق أوسع.

كلمات مفاتيح : استزراع-ابواغ ثمرية -ابواغ رباعية- غراسيلاريا غراسيليس- غراسيلاريا بورسا بستوريس

RESUME

Ce travail a porté sur la culture au laboratoire de carpospores et de tétraspores issues de deux algues rouges : *Gracilaria gracilis* et *G. bursa-pastoris* de la lagune de Bizerte. Différentes conditions d'intensité lumineuse et de photopériodes ont été testées. Les résultats ont montré que la meilleure croissance des carpospores a été enregistrée sous la photopériode de 8/16 et une intensité lumineuse de 2000 lux et ceci pour les deux espèces. Pour les tétraspores, l'optimum de croissance a eu lieu à la même photopériode mais à 3600Lux pour *Gracilaria gracilis* et 2000 Lux pour *G. bursa-pastoris*. Ces résultats montrent certaines convergences vis-à-vis de leurs exigences en lumière mais aussi certaines divergences dont on devrait en tenir compte dans le futur pour cultiver les deux espèces à une plus grande échelle.

Mots clés : Culture, carpospores, tétraspores ; *Gracilaria gracilis* ; *G. bursa-pastoris*

ABSTRACT

Spore cultivation of *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) M. Steentoft, L.M. Irvine et W.F. Farnham, 2006

and *G. bursa-pastoris* (Gmelin) Silva, 1952, of Bizerte lagoon : This study has been carried out on the carpospores and tetraspores of the two seaweeds *Gracilaria gracilis* and *G. bursa-pastoris* collected in the Bizerte lagoon . Both types of spores were cultivated in laboratory conditions. Different irradiation levels and light / dark cycles were tested. The results showed that the highest growth of carpospores was recorded at 8:16 light/ dark cycle and 2000 Lux. While the best growth of tetraspores was obtained at 3600 Lux in *G. gracilis* and 2000 Lux in *G. bursa-pastoris*, the two at 8:16 photoperiod. These results showed some slight similarity of the two species but in the same time some differences in irradiance requirements. These differences are very important to take into account for the future cultures in a large scale.

Keywords : culture ; carposores ; tetraspores; *Gracilaria gracilis* ; *G. bursa-pastoris*

INTRODUCTION

L'intérêt aux algues marines ne cesse de progresser de par le monde. Cet intérêt revêt plusieurs aspects, notamment la culture et l'extraction de produits à vocation alimentaire, pharmaceutique, médicinales, cosmétiques, etc... La culture des algues est une radition très ancienne dans plusieurs pays asiatiques tels que la Chine, le Japon, La Corée, etc...

(Pérez, 1997). Plusieurs espèces d'algues sont actuellement cultivées. Elles appartiennent aux trois grands groupes, à savoir les chlorophycées (algues

vertes), les phéophycées (algues brunes) et les rhodophycées (algues rouges). Les cultures ont été effectuées chez certaines espèces par bouturage qui représente une technique assez facile à appliquer. Cependant chez d'autres espèces , la culture doit passer par les spores pour arriver à produire de grandes biomasses telles que chez *Undaria pinnatifida* et *Porphyra yezoensis* (Pérez ,1997). Parmi les algues rouges agarophytes figure le genre *Gracilaria*. Plus de 150 espèces différentes appartenant à ce genre existent dans les mers du globe, mais quelques unes sont actuellement cultivées

à l'échelle mondiale (Padhi *et al.*, 2011), en particulier *Gracilaria gracilis* (= *verrucosa*). La culture de cette espèce aussi bien à partir de boutures que de spores a été démontrée avec succès (Mantri *et al.*, 2009). En Afrique, en particulier, *Gracilaria gracilis* a été cultivée également avec succès, notamment en Afrique du sud (Molloy & Bolton 1996; Robello *et al.*, 1996; Jaffray *et al.*, 1997). En Tunisie, des prospections ont été réalisées sur le littoral et ont montré que le Genre *Gracilaria* est représenté essentiellement par les deux espèces voisines *Gracilaria gracilis* et *Gracilaria bursa-pastoris* (Ksouri *et al.*, 1997). Ces deux espèces existent notamment dans le lac de Tunis et la lagune de Bizerte. Dans cette dernière lagune, elles sont présentes dans la frange littorale (-3 m) située entre Menzel Abderrahmane et Oued Guéniche (Ksouri & Ben Saïd, 1998). Dans ces zones, les deux espèces vivent souvent à l'état libre sur le fond, sur les biotopes photophiles peu profonds, dans des endroits calmes et même au niveau des côtes en associations avec d'autres espèces d'algues telles que les Ulves et autres espèces, appartenant aux zostères et aux cymodocées. Des essais de culture par bouturage ont été initiés dans la lagune de Bizerte (Ksouri *et al.*, 1999) puis poursuivis par la suite, avec certains ajustements (Ksouri *et al.*, 2000; Mensi *et al.*, 2010). Les résultats de ces travaux ont montré qu'il est relativement facile de cultiver *Gracilaria* par bouturage. Cependant, afin de préserver les stocks naturels de *Gracilaria*, d'une part et augmenter les biomasses, d'autre part, il faudrait voir d'autres moyens pour aboutir à cet objectif. Dans ce cadre, des essais de sporulation de *Gracilaria gracilis* et *G. bursa-pastoris*, provenant de la lagune de Bizerte ont été réalisés afin de d'avoir des spores susceptibles d'être cultivées en conditions de laboratoire (Ben Saïd *et al.*, 2011). Ce travail constitue donc une continuité des travaux antérieurs et vise la connaissance des conditions optimales de lumière, en particulier, pour la croissance des spores des deux espèces citées ci-dessus afin de les transférer ultérieurement soit en milieu naturel soit dans des bassins de grands volume, en conditions contrôlées. De telles étapes permettraient d'avoir de petites plantules voir des plantes adultes.

MATERIEL ET METHODES

Le matériel biologique utilisé correspond aux deux espèces voisines d'algues rouges : *Gracilaria gracilis* (Stachhouse ; Steetoft, Ivrine et Farnham, 2006) (= *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss, 1950) (Fig.1) et *G. bursa-pastoris* (Gmelin) Silva, 1952 (Fig.2). Les échantillons ont été récoltés à pied dans la lagune de Bizerte, entre 0.5 et 1 m de profondeur en mars et avril 2010. Les algues ont été

par la suite transportées au laboratoire (Tunis) où elles ont été bien nettoyées du sable et des épiphytes avant leur utilisation pour l'obtention des spores. Les algues ont été séparées en deux types : thalles carposporophytiques reconnaissables à leurs cystocarpes producteurs de carpospores et visibles à l'œil nu et thalles tétrasporophytiques reconnaissables à leurs tâches rougeâtres représentant les tétrasporocystes cruciés. Ces derniers produisent les tétraspores. Ils ont été observés à la loupe binoculaire de type Wildheerbrugg et au microscope photonique de marque Nikon, type 104.

METHODES

Milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé est le milieu SWM3 (Chen *et Ren*, 1983), mais modifié. Le choix de ce milieu a été fondé sur le fait qu'il a été utilisé auparavant avec succès (Lecacheux, 1985 ; Ben Saïd, 1986). Sa composition chimique est la suivante : nitrate de sodium : NaNO_3 (2mM) ; Dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4 (0.1 mM) ; Acide éthylène diamine tétracétique de phosphate (disodique) (Na_2EDTA (30.0 μM)) ; Chlorure de fer (FeCl_3) (2 μM) ; Tris-Hydroxyméthylaminométhane (500g) ; Eau de mer filtrée et stérile (1000ml). Le milieu de culture est stérilisé à l'autoclave avant utilisation. Son changement a été effectué une fois par semaine pour maintenir les spores en bon état de croissance.

Méthode de culture:

Les carpospores et les tétraspores de *Gracilaria gracilis* et *Gracilaria bursa-pastoris* sont préalablement collectées après fragmentation des thalles, sans distinction de la position initiale des cystocarpes ou des tétrasporocystes (parties apicales, ou intermédiaires ou basales). Cette opération a pour objectif seulement de faciliter l'émission des spores (Ben Saïd (1996a). Après avoir obtenu un nombre très élevé de carpospores et de tétraspores, ces dernières sont par la suite ensemencées dans des boîtes de Pétri contenant 15-20 ml de milieu de culture. L'inoculum varie entre 1000 et 2500 spores. Chaque boîte contient deux lames de verre qui servent de support pour les spores et facilitent ainsi ultérieurement leur étude et la mesure de leur diamètre de germination. Les cultures ont été réalisées dans une chambre climatisée où la température a varié entre 16 et 18 °C. Le Tableau I résume les conditions expérimentales citées. Le suivi de la croissance et le développement des spores a été réalisé d'une façon hebdomadaire, pendant six à sept semaines. Le nombre de spores dont le diamètre de germination est mesuré chaque semaine est généralement compris entre 30 et 40.



Figure 1 : Thalle de *Gracilaria gracilis* (=verrucosa)



Figure 2 : Thalle de *G. bursa-pastoris*

Tableau I : Conditions expérimentales de la culture des spores de *Gracilaria*

	Eclairage	
	Intensité lumineuse (Lux)	Photopériode
<i>Gracilaria gracilis</i>	I1 : 775 I2 : 2000 I3 : 3600	8/16 et 12/12
<i>Gracilaria bursa-pastoris</i>	I1 : 750 I2 : 1150 I3 : 2000	

Pour chaque condition de culture, quatre boîtes de Pétri ont été ensemencées.

Analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés comme étant le diamètre moyen de germination des spores (μm) et la

comparaison des moyennes a été réalisée par le test non paramétrique de Mann Whitney. Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS. Version 17.

RESULTATS

1. *Gracilaria gracilis*

Croissance des carpospores sous une photopériode de 8/16:

Intensité lumineuse de 775 Lux :

Les résultats présentés dans la Fig. 3 montrent que les carpospores de *Gracilaria gracilis*, ayant un diamètre initial d'environ $25\mu\text{m}$, croissent d'une façon remarquable dès la première semaine jusqu'à la 5^{ème} semaine, où la taille du diamètre de germination a atteint son maximum ($134.37 \pm 7.50 \mu\text{m}$). Pendant la 6^{ème} semaine, les carpospores qui ont survécu présentent un diamètre de germination plus faible que l'optimum. Sous ces conditions, et pendant la croissance optimale de carpospores (5^{ème} semaine), nous avons observé plusieurs spores qui ont émis des frondes (Fig.4).

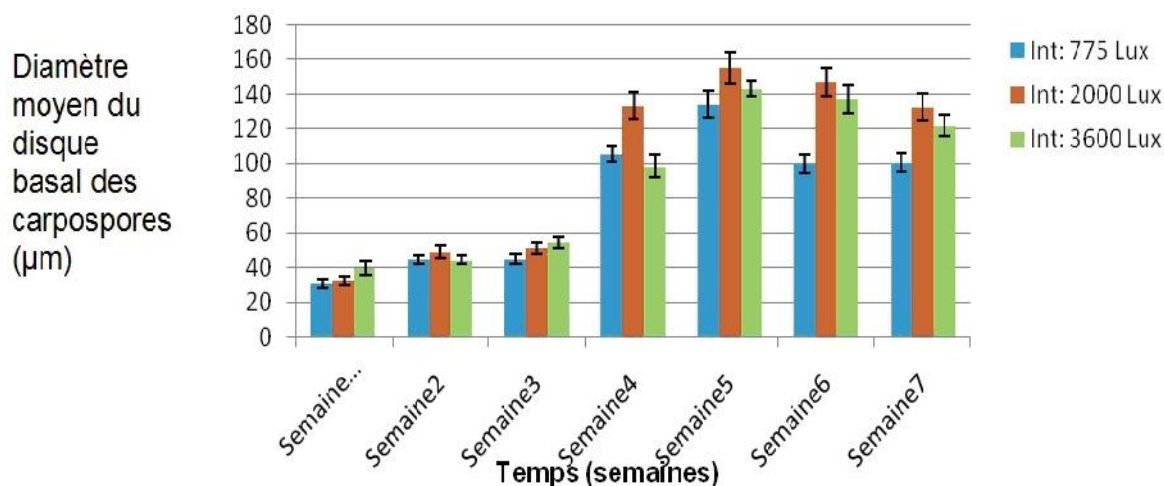


Figure 3: Evolution de la croissance des carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensités lumineuses 775, 2000 et 3600 Lux)

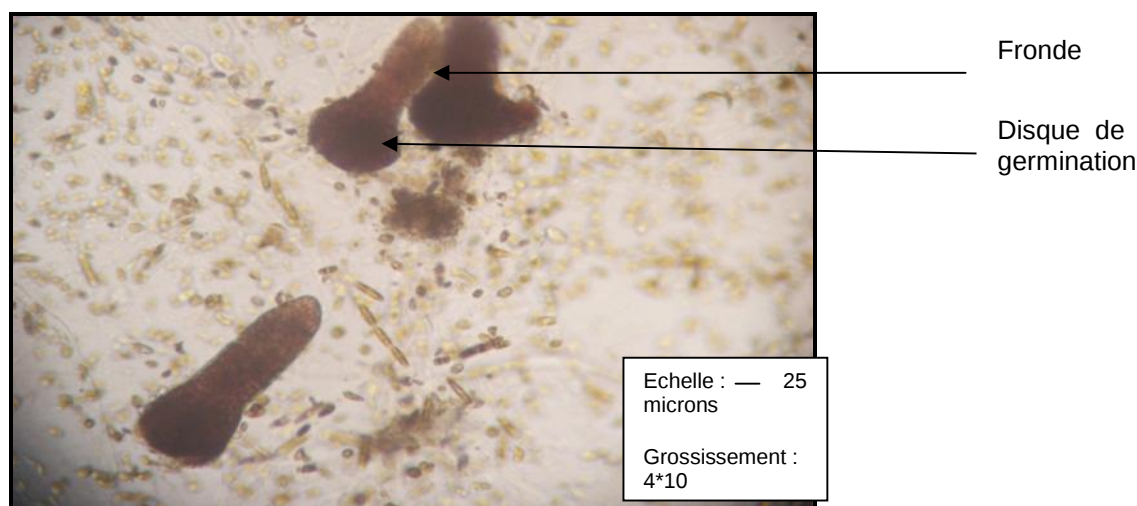


Figure 4 : Carpospores germées avec frondes (photopériode 8/16, intensité lumineuse 775Lux) (après 5 semaines)

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Sous cette intensité (2000 Lux), la croissance des carpospores ressemble à celle obtenue à 775 Lux pendant les trois premières semaines (Fig.3). Mais, à la 4^{ème} semaine, nous avons remarqué que les disques germinatifs deviennent plus développés, et à la 5^{ème} semaine le maximum de croissance est atteint ($155.2 \pm 8.55 \mu\text{m}$). De même on a noté une croissance développée des frondes (Fig.5).

Intensité lumineuse de 3600 Lux :

Sous cette intensité, les carpospores de *Gracilaria gracilis* augmentent plus rapidement pendant les trois premières semaines. Cependant, dès la 4^{ème} semaine, il y a un certain ralentissement de la croissance, malgré sa progression (Fig.3). À la 5^{ème} semaine, la croissance est maximale ($143.45 \pm 4.4 \mu\text{m}$). Pendant ce temps, on a également noté un développement des frondes.

Croissance des carpospores sous une photopériode de 12/12:

Intensité lumineuse de 775 Lux :

Les résultats présentés dans la Fig.6 montrent une croissance progressive des carpospores dès la première semaine d'incubation jusqu'à la 5^{ème} semaine, où la taille du diamètre a atteint son maximum ($132.50 \pm 4.56 \mu\text{m}$). Pendant ce laps de temps, on a remarqué que les disques germinatifs étaient bien développés. Mais, à partir de la 6^{ème} semaine, les spores restées encore vivantes présentaient un diamètre germinatif moins important qu'auparavant. Par ailleurs, les frondes érigées n'ont pas été observées durant toute la période de culture.

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Les résultats enregistrés sur la Fig.6 montrent que la croissance des carpospores de *Gracilaria gracilis* est ralentie au cours des deux premières semaines. À la

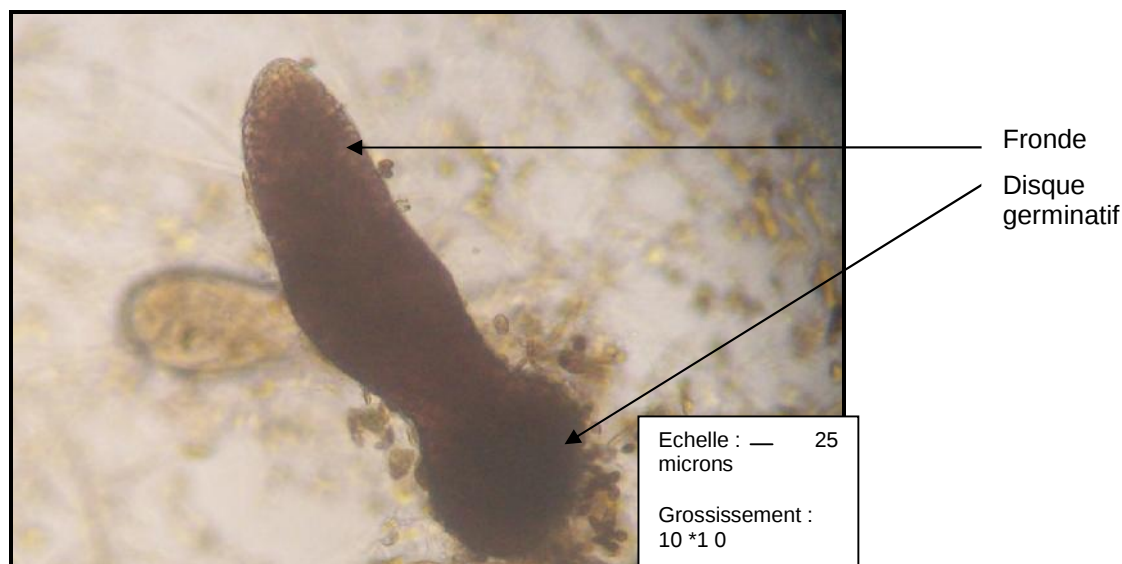


Figure 5 : Carpospores germées de *Gracilaria gracilis* (photopériode 8/16, intensité lumineuse 2000 Lux)

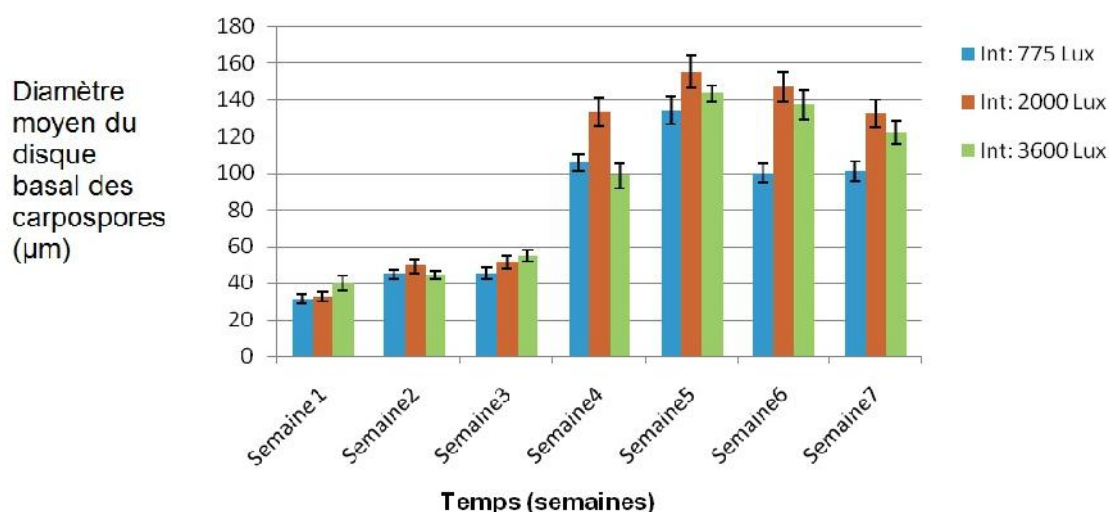


Figure 6 : Evolution de la croissance des carpospores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensités lumineuses 775, 2000 et 3600 Lux)

3^{ème} semaine, il y a eu une croissance deux fois plus importante qu'auparavant. Puis, les carpospores ont atteint le maximum de leurs croissances au bout de la 4^{ème} semaine ($158.20 \pm 8.58 \mu\text{m}$), ce qui va se stabiliser jusqu'à la fin de l'expérimentation. L'apparition des frondes a été observée depuis la 4^{ème} semaine de culture.

Intensité lumineuse de 3600 Lux :

La Fig. 6 montre que la croissance des carpospores de *Gracilaria gracilis* est progressive dès la première semaine de culture jusqu'à la 5^{ème} semaine, où elle est maximale avec un diamètre moyen de $141.25 \pm 3.50 \mu\text{m}$. Il faut remarquer que le diamètre germinatif des carpospores a augmenté d'une façon rapide, notamment entre la troisième et la quatrième semaine. Cependant, il n'y a pas eu de développement très

important entre la 4^{ème} et la 5^{ème} semaine. Puis, il y a eu diminution progressive du diamètre de germination. A partir de la 4^{ème} semaine, il y a eu apparition des frondes dont la taille a augmenté au cours de la 5^{ème} semaine. Au bout de la 6^{ème} semaine, nous avons noté sous le microscope une régression du nombre de spores et de leur état général (une certaine nécrose et dégénérescence sur les contours du disque basal).

Croissance des tétraspores sous une photopériode de 8/16:

Intensité lumineuse de 775 Lux :

La Fig.7 montre que le diamètre de germination des tétraspores a augmenté progressivement pour atteindre approximativement le double de celui de la spore initialement émise par le thalle mère, au bout de

deux semaines. Au 21^{ème} et au 28^{ème} jour, la croissance était très rapide, puisque le diamètre moyen atteint en ce moment là est d'environ 110 µm. Au bout de la 5^{ème} semaine, nous avons enregistré le maximum de croissance (138.80 ± 3.54 µm), qui s'est stabilisé pendant la 6^{ème} semaine. Ensuite, il y a eu chute de la croissance des tétraspores. L'apparition des frondes a été remarquée au bout de la 4^{ème} semaine.

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Sous ces conditions lumineuses, la croissance des tétraspores ressemble à celle observée sous 775 Lux. Cependant, elle est légèrement supérieure pendant les 3 premières semaines (Fig.7). Entre la 4^{ème} et la 6^{ème} semaine, nous avons enregistré les valeurs maximales ($120-130$ µm). Puis, il y a eu régression de la croissance au cours de la septième semaine.

Intensité lumineuse de 3600 Lux :

À forte intensité (3600 Lux), les tétraspores ont vu leur diamètre de germination croître d'une façon sensible au bout de la deuxième semaine de culture, puis il s'est stabilisé pendant la 3^{ème} semaine. Au bout de 28 jours, il y a eu croissance très rapide. Ensuite, il y a eu croissance relativement faible. Le maximum a été atteint pendant la 6^{ème} semaine (150.15 ± 8.58 µm). Les spores qui ont survécu pendant la 7^{ème} semaine ont manifesté une chute remarquable de croissance. L'apparition des frondes dans ces conditions a été observée dès la 4^{ème} semaine.

Culture des tétraspores sous une photopériode de 12/12:

Intensité lumineuse de 775 Lux :

Sous ces conditions, la croissance des tétraspores de *Gracilaria gracilis* a évolué positivement depuis la première semaine jusqu'à la 5^{ème} semaine pour atteindre son maximum, soit 110.02 ± 6.52 µm. Ensuite, il y a une légère diminution de la croissance (Fig.8). L'apparition des frondes a été observée au bout de la 5^{ème} semaine.

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

En observant la Fig.8, nous remarquons que les tétraspores se sont développées lentement au cours des deux premières semaines. Mais entre la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine, le diamètre de germination a augmenté deux fois plus pour atteindre son maximum de croissance (125.18 ± 8.86 µm) pendant la 5^{ème} semaine, avec apparition des frondes. Ensuite, il y a eu une légère baisse de la croissance au cours de la 6^{ème} semaine.

Intensité lumineuse de 3600 Lux :

En observant la Fig.8, nous pouvons dire que les tétraspores de *Gracilaria gracilis* cultivées sous ces conditions se comportent généralement comme celles soumises à une intensité lumineuse de 2000 Lux. Toutefois, le maximum (110.22 ± 7.58 µm) atteint également pendant la 5^{ème} semaine (avec apparition des frondes) est plus faible que le précédent et la

croissance est restée stable au cours de la 5^{ème} semaine.

2. *Gracilaria bursa-pastoris*:

Culture des carpospores sous une photopériode de 8/16:

Intensité lumineuse de 750 Lux :

Selon la Fig.9, il existe une croissance remarquable des carpospores dès la première semaine d'incubation jusqu'à la 5^{ème} semaine, où la taille du diamètre a atteint son maximum (137.5 ± 8.90 µm). Par ailleurs, nous avons remarqué à partir de la troisième semaine une concentration d'amas de spores avec des frondes bien développées.

Intensité lumineuse de 1150 Lux :

Selon la même Fig.9, nous remarquons une croissance remarquable des carpospores dès la première semaine d'incubation jusqu'à la 5^{ème} semaine, où la taille du diamètre a atteint son maximum (145.41 ± 7.56 µm). Dans ce cas aussi, nous avons assisté à partir de la troisième semaine à une concentration d'amas de spores avec des frondes érigées.

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Sous cette intensité lumineuse, il y a eu une croissance remarquable des carpospores dès la première semaine. Cette évolution s'est poursuivie jusqu'à la 5^{ème} semaine (Fig.9). Pendant ce temps là, la taille du diamètre a atteint son maximum (155.2 ± 6.88 µm).

Culture des carpospores sous une photopériode de 12/12:

Intensité lumineuse de 750 Lux :

La croissance des carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* cultivées sous ces conditions montre qu'elle est relativement lente au cours des deux premières semaines (Fig.10). À la 3^{ème} semaine, le diamètre de germination a augmenté approximativement 6 fois plus que celui initialement mesuré juste après la sporulation. Mais entre la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine, la croissance est devenue plus ralentie et le maximum a été atteint au bout de la 5^{ème} semaine, soit 122.50 ± 5.63 µm. Ensuite, la croissance a diminué progressivement. Il faut signaler ici que les carpospores ont mis leurs frondes à partir de la 3^{ème} semaine.

Intensité lumineuse de 1150 Lux :

La croissance des carpospores sous cette intensité lumineuse est similaire à celle observée à 775 Lux, cependant avec une légère amélioration des résultats au bout de la 5^{ème} semaine. En effet, pendant ce temps là, la taille du diamètre a atteint son maximum (118.41 ± 3.25 µm), puis il y a eu diminution progressive de la croissance (Fig. 10). Par ailleurs, l'apparition des frondes a été détectée dès la 3^{ème} semaine de culture.

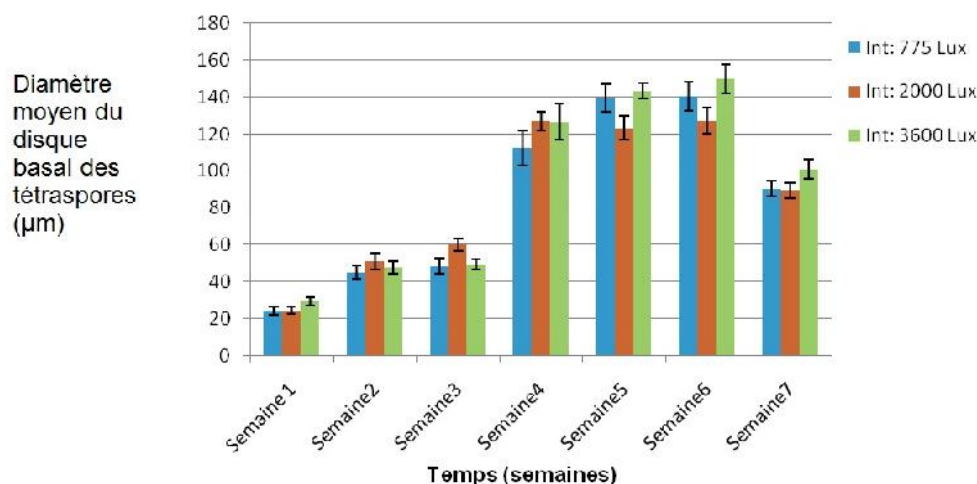


Figure 7 : Evolution de la croissance des tétraspores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensités lumineuses 775, 2000 et 3600 Lux)

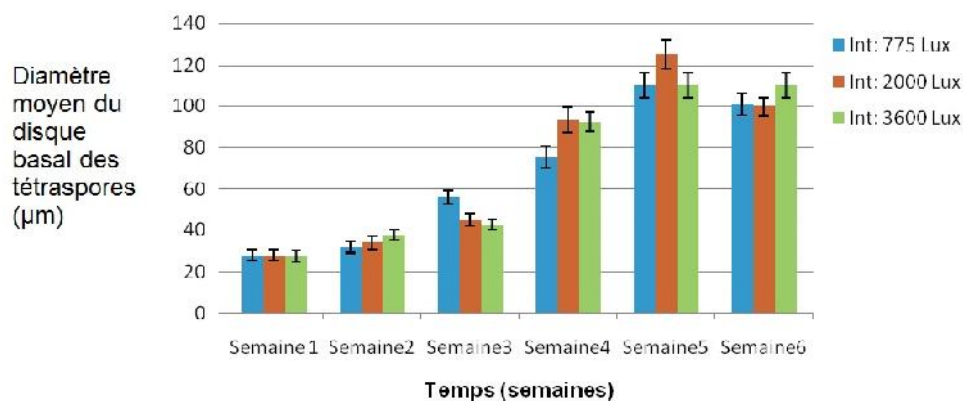


Figure 8 : Evolution de la croissance des tétraspores de *Gracilaria gracilis* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensités lumineuses 775, 2000 et 3600 Lux)

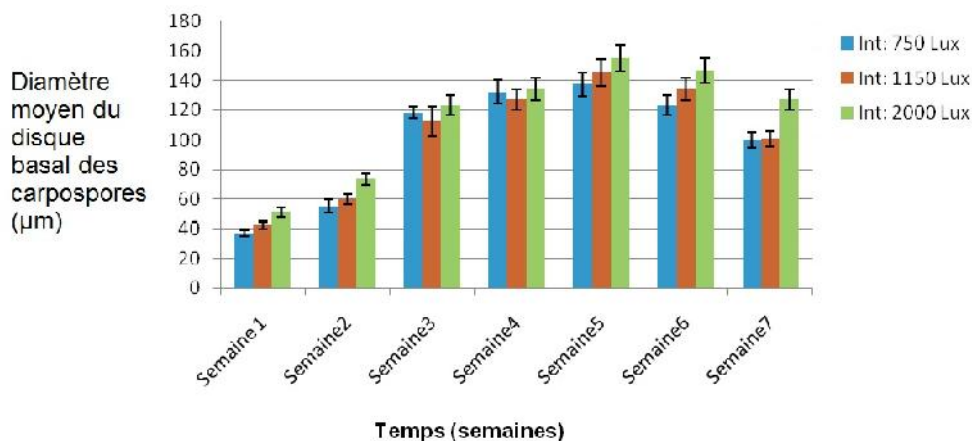


Figure 9 : Evolution de la croissance des carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensités lumineuses 750, 1150 et 2000 Lux)

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Avec l'augmentation de l'intensité lumineuse (2000 Lux), le diamètre germinatif des carpospores s'est élargi davantage et d'une façon plus rapide pour

atteindre son maximum ($120.20 \pm 8.90 \mu\text{m}$) au bout de la 5^{ème} semaine. Vers la 6^{ème} semaine, nous avons constaté une légère diminution de la croissance qui a continué de baisser vers la 7^{ème} semaine (Fig.10).

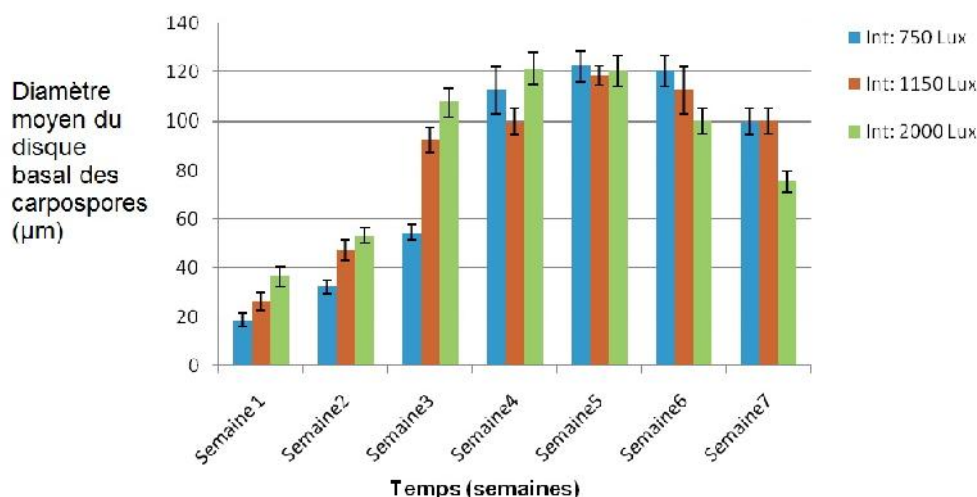


Figure 10 : Evolution de la croissance des carpospores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensités lumineuses 750, 1150 et 2000 Lux)

Sous ces conditions, nous avons également noté l'émission des frondes au bout de la 3^{ème} semaine.

Culture des tétraspoires sous une photopériode de 8/16:

Intensité lumineuse de 750 Lux :

Cultivées à 750 Lux, les tétraspoires de *Gracilaria bursa-pastoris* ont augmenté de taille progressivement depuis le début de leur culture jusqu'à la 3^{ème} semaine. Au bout de la 4^{ème}, le diamètre germinatif a atteint son maximum ($131.56 \pm 5.41 \mu\text{m}$) à la fin de la 5^{ème} semaine. Par la suite, il y a eu diminution de la croissance (Fig. 11). Sous ces conditions, l'apparition des frondes a été enregistrée au cours de la 4^{ème} semaine.

Intensité lumineuse de 1150 Lux :

Sous cette intensité lumineuse, le diamètre moyen du disque germinatif des tétraspoires de *Gracilaria bursa-pastoris* a atteint sa valeur maximale au bout de quatre semaines, soit $127.01 \pm 3.24 \mu\text{m}$, puis il a régressé (Fig.11). L'optimum de croissance s'est accompagné également de l'apparition des frondes sur plusieurs tétraspoires.

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

Le diamètre des tétraspoires cultivées sous cette photopériode (8/16) et cette intensité lumineuse (2000 Lux) a atteint presque le double au cours des deux premières semaines. Ensuite, il a manifesté le même comportement entre la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine pour atteindre son maximum au bout de la 5^{ème} semaine, soit $134.37 \pm \mu\text{m}$. Les tétraspoires survécues ont régressé et le diamètre moyen a atteint en fin d'expérimentation environ $110 \pm \mu\text{m}$ (Fig.11). L'apparition des frondes a eu lieu vers la 4^{ème} semaine de culture.

Culture des tétraspoires sous une photopériode de 12/12:

Intensité lumineuse de 750 Lux :

Les tétraspoires cultivées sous ces conditions de lumière ont montré une croissance régulière dès le début de l'expérimentation pour atteindre leur maximum ($110.22 \pm 4.58 \mu\text{m}$) au bout de la 5^{ème} semaine. Par la suite, le diamètre germinatif décroît lentement (Fig.12). L'apparition des premières frondes est notée pendant la 5^{ème} semaine de culture.

Intensité lumineuse de 1150 Lux :

En augmentant l'intensité lumineuse, les tétraspoires ont vu leur diamètre germinatif s'élargir de la même façon que précédemment pendant les trois premières semaines. Par contre, à la 4^{ème} semaine, nous avons enregistré une croissance plus rapide. Au bout de la 5^{ème} semaine, la croissance maximale a été obtenue, avec un diamètre moyen de $125.18 \pm 7.58 \mu\text{m}$ (Fig.12). L'apparition des frondes a été notée depuis la 4^{ème} semaine.

Intensité lumineuse de 2000 Lux :

En augmentant davantage l'intensité lumineuse, la croissance des tétraspoires a été remarquable dès la première semaine de culture jusqu'à la 3^{ème}. Puis la croissance s'est ralentie tout en évoluant positivement pour atteindre son maximum ($125.18 \pm 7.76 \mu\text{m}$) au bout de 5 semaines, à l'instar de celui obtenu sous 1150 Lux (Fig. 12).. Après avoir enregistré la croissance optimale, les spores restantes ont vu leur diamètre de germination diminuer lentement. L'apparition des frondes a été enregistrée au bout de la 5^{ème} semaine.

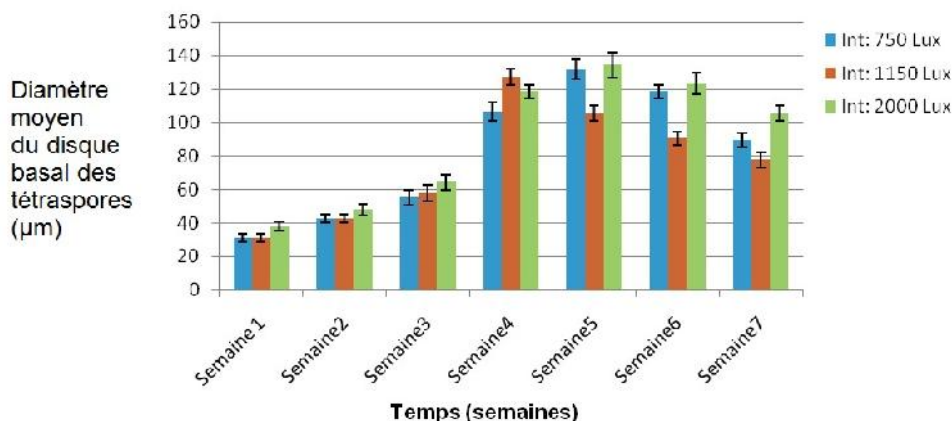


Figure 11 : Evolution de la croissance des tétraspores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 8/16, intensités lumineuses 750, 1150 et 2000 Lux)

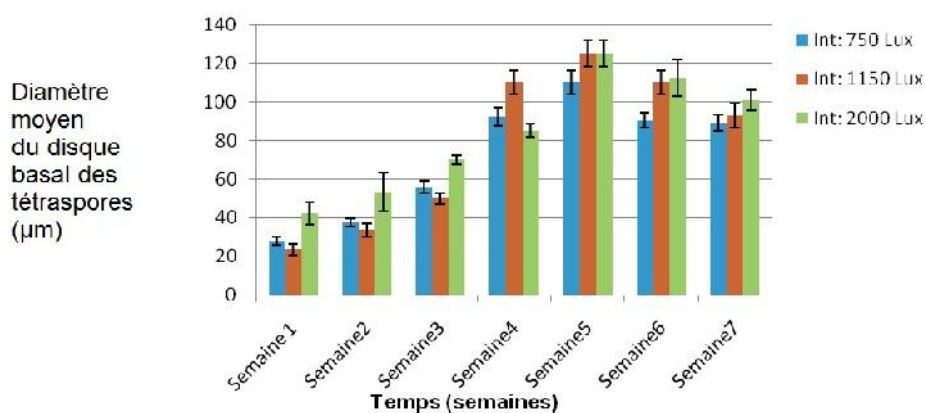


Figure 12 : Evolution de la croissance des tétraspores de *Gracilaria bursa-pastoris* en fonction du temps (photopériode 12/12, intensités lumineuses 750, 1150 et 2000 Lux)

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats enregistrés sur la croissance des carpospores de *Gracilaria gracilis* et *Gracilaria bursa-pastoris*, montrent que les valeurs optimales ont été obtenues sous une photopériode de 8/16 avec une taille maximale du diamètre de $155.2 \pm 8.96 \mu\text{m}$, à une intensité lumineuse de 2000 Lux ; pour les deux espèces. En ce qui concerne les tétraspores issues de *Gracilaria gracilis*, la croissance optimale a été obtenue au cours de la 6^{ème} semaine sous une photopériode de 8/16 et sous une intensité lumineuse de 3600 Lux, soit $150 \pm 7.40 \mu\text{m}$. Chez *Gracilaria bursa-pastoris*, les résultats obtenus des tétraspores montrent que la croissance est optimale à une photopériode de 8/16 et sous une intensité lumineuse de 2000 lux, soit $134.37 \pm 7.56 \mu\text{m}$. Nos résultats se rapprochent de ceux de Bird *et al.* (1977) obtenus sur les spores de *Gracilaria* sp. Ces auteurs observent un développement optimal des spores cultivées à 20°C sous une photopériode de 12h de lumière et sous un éclairage compris entre 7.5 et 9 w/m^2 (#1500 et 1818 Lux), lorsque ces spores étaient cultivées au

préalable à 25°C pendant 3 semaines sous 6 w/m^2 (#1204 Lux) pendant 12h par jour. Les intensités lumineuses qui s'approchent de la lumière du jour inhibent la croissance des spores. Ogata *et al.* (1972) obtiennent des plantes adultes à partir des spores de *Gracilaria* cultivées sous 5000 Lux avec une photopériode de 12/12. Nos résultats se rapprochent, également, de ceux de Ben Saïd (1996 b et Ben Saïd (1997), qui a trouvé qu'à une température de 20°C, un éclairage de 12h, les carpospores et les tétraspores de *Gracilaria verrucosa* donnent une meilleure croissance sous une intensité lumineuse de 90 à 120 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$ (#3863 à 5000 Lux). Par ailleurs, Kling (1978) a montré qu'une intensité lumineuse de 4090 Lux, avec une photopériode de 8 à 12h de lumière par jour, ont donné de meilleurs résultats de culture des thalles de *Gracilaria*, notamment durant la phase « nurserie » (prégrossissement), ainsi qu'au cours de la période de « grossissement » du moins pour un certain temps avant le passage en mer. La température et la lumière, en concomitance avec d'autres facteurs liés aux constituants de l'eau de mer, interagissent sur la spore et l'algue adulte pour

induire la croissance et par conséquent toutes les réactions de biosynthèse de différents métabolites primaires et secondaires. Ramlov *et al.* (2012), travaillant sur *Gracilaria domingensis* (Kützinger) Sonder ex Dickie 1874 (collectée au Brésil) trouvent que cette espèce tolère bien une salinité de 25 à 60psu et développe mieux des disques germinatifs larges et des frondes érigées à la salinité de 30psu et une intensité lumineuse de 150 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (approximativement 11000 Lux).

En conclusion, les faits suivants peuvent être retenus : La lumière et la température agissent en synergie sur la spore en induisant simultanément l'élargissement du disque germinatif et l'initiation des frondes. C'est l'appareil pigmentaire des spores de *Gracilaria gracilis* et *Gracilaria bursa-pastoris* qui répond aux différents stimuli thermiques et lumineux indispensables au déroulement des différentes réactions métaboliques photosynthétiques. Une température de 16°C semble donner de bons résultats pour la croissance aussi bien des carpospores que des tétraspores. Par ailleurs, une photopériode optimale semble être de 8/16. Concernant les niveaux d'éclairement optimum, ils sont de l'ordre de 2000 Lux pour les carpospores des deux espèces d'algues. Le même niveau énergétique est idéal pour les tétraspores de *Gracilaria bursa-pastoris*. En revanche, un niveau supérieur est exigé pour les tétraspores de *Gracilaria gracilis*, soit 3600 Lux. Il en ressort que chaque type de spores chez les deux espèces étudiées a des exigences particulières en intensité lumineuse et en durée d'éclairement. Par conséquent, il faudrait en tenir compte dans le futur pour la culture des stades plus avancés de croissance des spores. Ces stades traduisent évidemment l'état juvénile de ces plantes marines, à savoir les gamétophytes et tétraspôrophytes. La maîtrise de plusieurs facteurs de culture en conditions contrôlées de laboratoire et par conséquent la réussite d'obtention de petites plantules viables, ouvre l'horizon à leur culture à une échelle pilote puis à grande échelle de ces deux espèces.

BIBLIOGRAPHIE

- Ben Said R.1986.La rhodophycée agarophyte *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss : action de la température et de la lumière sur la sporulation et la croissance des carpospores et des tétraspores. D.E.S.S. « Exploitation des ressources vivantes côtières ». Université de Caen, France.87p.
- Ben Said R.1996 a. La rhodophycée agarophyte *Gracilaria verrucosa*. Etude de l'émission des carpospores et des tétraspores. *Revue de l'INAT*. Vol.11N° 1:127-136.
- Ben Said R.1996 b. Effets de la température et de l'éclairement sur la croissance des tétraspores de la rhodophycée *Gracilaria verrucosa*. *Bull. INSTM*. 23 (1) :62-79.
- Ben Said R.1997. Influence de la température et de l'éclairement sur la croissance des carpospores de rhodophycée *Gracilaria verrucosa*. *Revue de l'INAT*. 12 (1):77-92.
- Ben Said R; Aouini H ; Romdhane M.S & M'rabet R. 2011. Etude de la sporulation de *Gracilaria gracilis* (Stackhouse ; Steetoft, L.M. Irvine et Farnham) et *Gracilaria bursa-pastoris* (Gmelin) Silva de la lagune de Bizerte (Tunisie). *Bull. INSTM*. Vol.38 :101-111.
- Bird N; Mc Lachlan J & Grund D. 1977. Studies on *Gracilaria*.5. *In vitro* life history of *Gracilaria* sp. from the Maritime Provinces. Canadian Journal of Botany. Vol.55.n°10:1282-1290.
- Chen, M. & Ren, G. 1983. Studies on the culture of sporelings of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss. I. the process of germination of spores. 11 the Int. Seaweed Symp., Chine.
- Jaffray AE; Anderson RJ & Coyne VE. 1997. Investigation of bacterial epiphytes of the agar-producing red seaweed *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steetoft, Irvine et Farnham from Saldanha Bay, South Africa and Lüderitz, Namibia. *Bot Mar*. 40:569-576.
- Kling R.1978. Recherches des conditions optimales de croissance de *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss (Gigartinales, Gracilariacées). Thèse de 3^{ème} cycle. Université des Sciences et Techniques de Lille.
- Ksouri J ; Ben Saïd R. & Beji O. 1997. Evaluation des potentialités quantitatives naturelles des gracilaires (algues rouges) du lac nord de Tunis. *Bull. INSTM* .24 : 15-27.
- Ksouri J & Ben Saïd R. 1998. Potentialités en macroalgues : cartographie et biomasse de l'agarophyte rhodophycée *Gracilaria verrucosa* dans le lac de Bizerte. *Bull. INSTM*. 25: 17-34.
- Ksouri J ; Ben Saïd R. & Pellegrini M.1999. Résultats des cultures expérimentales de rhodophycée *Gracilaria verrucosa* dans le lac de Bizerte. Tunisie Septentrionale. *Bull. INSTM* Vol.26.113-125.
- Ksouri J ; Mensi F & Ben Saïd R. 2000. Ajustement de certains paramètres de culture par bouturage de *Gracilaria verrucosa* (algue rouge), dans le lac de Bizerte. *Bull. INSTM*. Vol.27.69-74.
- Lecacheux E.1985. recherches préliminaire de la mise au point d'une technique culturale pour l'agarophyte *Gracilaria verrucosa*. Rapport du D.E.S.S." cultures marines".Univ. Caen. France.
- Mantri VA, Takur MC, Kumar M. Reddy CRK & Jha B. 2009. The carpospore culture of industrially important red alga *Gracilaria dura*

- (Gracilariales, Rhodophyta). *Aquaculture*. 297:85-90.
- Mensi F, Ksouri J ; Hammami W & Romdhane MS. 2010. Choix du site de culture de l'algue rouge *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss dans la lagune de Bizerte : caractéristiques physico-chimique de l'eau. *Bull. INSTM*. 37:133-144
- Molloy F J & Bolton J J. 1996. The effect of Season and Depth on the growth of *Gracilaria gracilis* at Lüderitz, Namibia. *Bot Mar*.19:407-413
- Ogata, E.; Matsui, T & Nakamura H. 1972. The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Rhodophyceae, Gigartinales) *in vitro*. *Phycologia*, 11(1): 75-80.
- Padhi S; Swain P K; Behura SK; Baidya S; Behera SK & Panigrahy M R. 2011. Cultivation of *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss in Chilika Lake for livelihood generation in coastal areas of Orissa State. *J. Appl Phycol*.23:151-155.
- Pérez R.1997. Ces algues qui nous entourent. Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation, culture. IFREMER (France).272 p.
- Ramlov F ; De Souza JMC ; Farias A ; Maraschin M; Horta PA & Yokoya NS .2012. Effects of temperature, salinity, irradiance and nutrients on the development of carposporelings and tetrasporophytes in *Gracilaria domingensis* (Kütz.) Sonder ex Dickie (Rhodophyta, Gracilariales). *Bot Mar*.55:253-259
- Robello J; Ohnon M; Critchley AT & Sawamura M.1996. Growth rates and agar quality of *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft from Namibia, Southern Africa. *Bot Mar*.39:273-279.