

## Écophysiologie de l'agarophyte *Gracilaria multipartita* (Clément) Harvey (Rhodophyceae, Gracilariales)

Siham EL BACHA<sup>1</sup>, Abderrazzak EL GOURJI<sup>1</sup>, Thierry GIVERNAUD<sup>2</sup>,  
Yves LEMOINE<sup>3</sup> & Aziza MOURADI<sup>1a</sup>

(Reçu le 12/03/2004 ; Accepté le 27/09/2004)

### الدراسة الأكفسيولوجية للاجاروفيت جراسيلاريا ملتيفاريتا (كليمانت) هارفي (كراسيلاريا-رودوفيتا)

إن تأثير أهم الحدود الكيميائية والفيزيائية (الحرارة، كثافة الطحلب، الضوء، الملوحة، الأملاح الغذائية) على نمو جراسيلاريا ملتيفاريتا قد حلل في المخبر تحت ظروف محددة تبين من خلال هذه الدراسة أن للحصول على أقصى نمو لهذا الطحلب يجب توفر الشروط الآتية: كثافة الطحلب متراوحة بين 0,5 و 3 غرامات للتر الواحد، إنارة بضوء أبيض وبكثافة ضوئية محصورة بين 100 و 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ، استعمال نترات الأمونيوم كأفضل مصدر للأزوت بتركيز محصور بين 0,5 و 4mM، استعمال الكربونات بتركيز أقل من 5mM. أما الفوسفات فتركيز أقل من 0,2mM و تراوح الملوحة بين 24 و 46PPT. على إثر هذه الدراسة نستنتج أن هذا الطحلب له قدرة للتكيف مع ظروف فيزيوكيماوية متغيرة كما أن نموه يصل إلى 2,5%j<sup>-1</sup> ولذا فهو صالح للتربية المائية.

**الكلمات المفتاحية:** جراسيلاريا ملتيفاريتا - الزراعة المحددة - كثافة الطحلب - الضوء - الأزوت - الكربونات - الفوسفات - الملوحة - النمو

### Écophysiologie de l'Agarophyte *Gracilaria multipartita* (Clément) Harvey (Rhodophyceae, Gracilariales)

L'influence des principaux paramètres physico-chimiques (température, densité algale, lumière, salinité, sels nutritifs) sur la croissance de *Gracilaria multipartita* a été étudiée au laboratoire en conditions contrôlées. Les conditions requises pour une croissance maximale sont une densité algale comprise entre 0,5 et 3 g. l<sup>-1</sup>, un éclairage sous lumière blanche d'une intensité comprise entre 100 et 300  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , le nitrate d'ammonium comme source préférentielle d'azote avec une concentration comprise entre 0,5 et 4 mM, une concentration en phosphates inférieure à 0,2 mM, une concentration en carbonates inférieure à 5mM et une salinité comprise entre 24 et 46 PPT. En fonction de cette capacité d'adaptation de l'espèce à des conditions physico-chimiques variées et de sa vitesse de croissance qui peut atteindre 2,5%j<sup>-1</sup>, *G. multipartita* pourrait être utilisé en aquaculture.

**Mots clés:** *Gracilaria multipartita* - Culture contrôlée - Densité algale - Lumière - Azote - Carbonates - Phosphates - Salinité - Croissance

### Ecophysiology of the agarophyte *Gracilaria multipartita* (Clemente) Harvey (Rhodophyceae, Gracilariales)

The influence of the more important physicochemical parameters (temperature, density, light, salinity, contribution of nutritive salts) on the growth of *Gracilaria multipartita* was studied in controlled. The conditions required for a maximal growth are an algal density included between 0,5 and 3 g. l<sup>-1</sup>, a lighting under white light of an intensity ranged from 100 to 300  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , the nitrate of ammonia like preferential source of nitrogen with a concentration ranged from 0,5 - 4 mM, a phosphate concentration inferior to 5mM, a carbonate concentration inferior to 5mM and a salinity understood between 24 and 46 PPT. According to this capacity of adaptation of the species to varied physico-chemical conditions and its growth speed that can reach 2,5%day<sup>-1</sup>, *G. multipartita* could be used in aquaculture.

**Key words:** *Gracilaria multipartita* - Controlled culture - Algal density - Light - Nitrogen - Carbonates - Phosphates - Salinity - Growth

<sup>1</sup> Laboratoire de Biochimie et de Biotechnologies Marines, Faculté des Sciences, Kénitra, Maroc

<sup>2</sup> SETEXAM, Usine EL ASSAM, Route de Tanger, B.P. 210, Kénitra, Maroc. E-mail : Setexam@wanadoopro.ma

<sup>3</sup> Laboratoire de Cytophysologie Végétale et Phycologie, Bât. SN2, UST Lille, F-59655 Villeneuve d'ascq Cedex, France

<sup>a</sup> Auteure correspondante; e-mail: aziza\_mouradi@hotmail.com; mouradi14@caramail.com

## INTRODUCTION

Le Maroc est le deuxième producteur mondial d'Agar. Ce phycocolloïde est utilisé pour ses propriétés de gélification aussi bien dans les industries agro-alimentaires qu'en pharmacie ou en biotechnologie (Armisen 1995). Au Maroc, il est extrait presque exclusivement de *Gelidium sesquipedale* (Turner) Thuret (Rhodophyceae, Gélidiales). Cette algue est récoltée en plongée sur les gisements naturels. Cette ressource naturelle fait l'objet d'une exploitation intensive et présente d'importants signes de dégradation (Givernaud *et al.*, 2003, Givernaud *et al.*, 2005). Pour permettre à l'industrie locale de poursuivre son développement, il était nécessaire de trouver de nouvelles sources d'approvisionnement en matière première. Au plan mondial, les gracilaires prennent une part de plus en plus importante comme source de matière première pour l'extraction de l'Agar. Elles représentent plus de 60% de la production mondiale (Perez 1997). Les espèces du genre qui, au départ, ont été exploitées à partir des gisements naturels, sont maintenant produites essentiellement en aquaculture. La culture représenterait actuellement plus de 80% de la production de gracilaires.

Un programme de recherche est en cours depuis 1993 pour inventorier les ressources naturelles en gracilaires le long du littoral marocain. L'espèce *Gracilaria multipartita* est présente tout le long de la côte atlantique du Maroc (Gayral, 1958). La biologie de cette espèce et les variations de la composition chimique des thalles a été suivie en milieu naturel (Givernaud *et al.*, 1999; El Gourji *et al.*, 1999). Cette étude a permis de montrer que l'Agar de *G. multipartita* répondait aux besoins de l'industrie et de déterminer la meilleure période de récolte. Cependant, les ressources naturelles de cette espèce sont dispersées le long du littoral et son exploitation ne pourra jamais fournir plus de quelques centaines de tonnes par an (Givernaud, comm pers.). Il était important d'envisager la culture de cette espèce. La première étape consiste à réaliser une étude écophysiologique en conditions contrôlées. Elle déterminera l'influence des principaux paramètres physico-chimiques sur la croissance des thalles.

## MATÉRIEL & MÉTHODES

La station de récolte se situe sur la plage des Nations à 22 km au Nord de la ville Rabat (Figure 1).

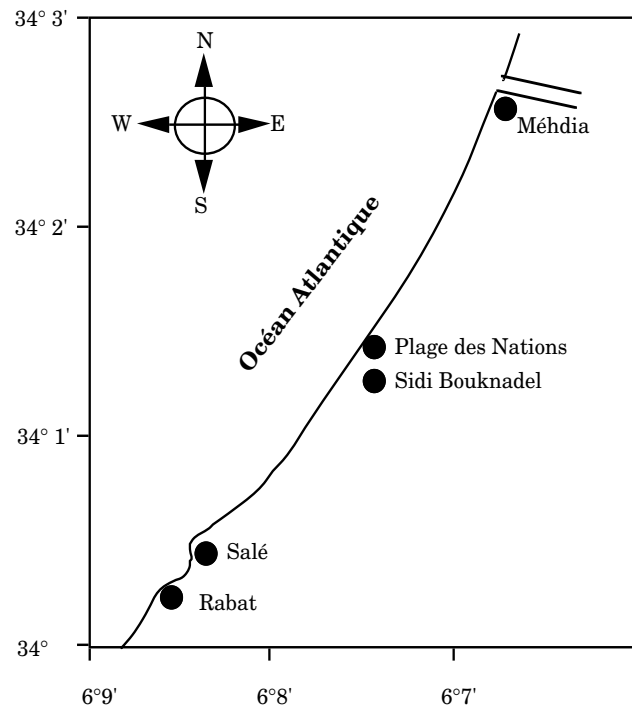


Figure 1. Situation géographique du site de récolte

Les thalles de *Gracilaria multipartita* (Figure 2) sont collectés sur les rochers émergés aux marées basses de vive eau.

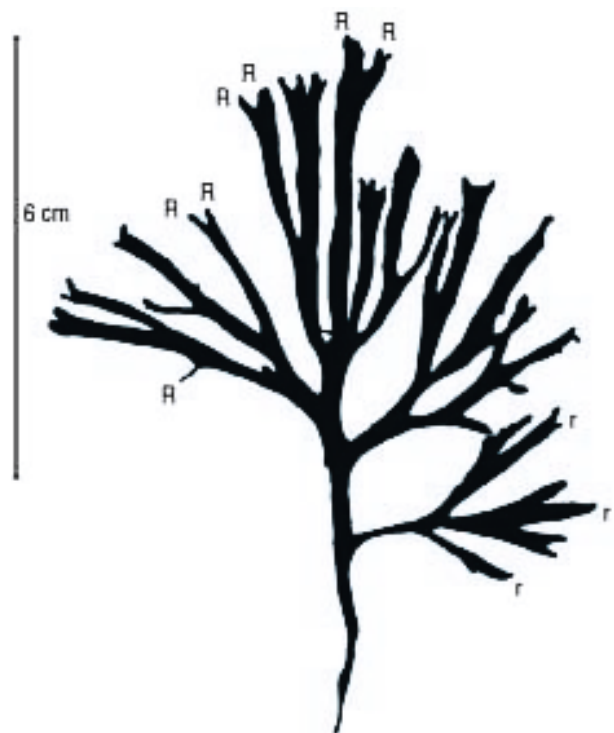


Figure 2. Appareil végétatif de *Gracilaria multipartita* (Clemente) Harvey (1846)

Au laboratoire, les thalles sont triés pour ne garder que les frondes jeunes, non épiphytées et en bon état. Les algues sont ensuite lavées avec de l'eau de mer filtrée et mises en culture dans des conditions standards pendant au moins 2 semaines (eau de mer filtrée salinité 34 PPT, température 18°C, Intensité lumineuse 200  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , photopériode 16: 8 Lumière: obscurité) jusqu'à leur utilisation. Cette préculture permet d'homogénéiser les lots d'algues et d'avoir des thalles dans un état physiologique comparable pour toutes les expérimentations.

Les cultures expérimentales sont réalisées dans des bocaux en verre de 3 litres avec une densité moyenne de matière végétale de 2  $\text{g.l}^{-1}$ . La température est maintenue constante à  $18 \pm 1^\circ\text{C}$  par un système thermostaté. Les cultures sont éclairées en lumière blanche (tubes fluorescents blancs de jour de luxe 40 W, intensité 100  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), la photopériode étant réglée à 16 h. L'agitation est assurée par un apport d'air comprimé.

Le milieu de culture est constitué par de l'eau de mer filtrée (diamètre de pores 0,45  $\mu\text{m}$ ), puis enrichi en azote sous forme de  $\text{NaNO}_3$  (1 mM) et en phosphate sous forme de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,1 mM). Ce milieu est renouvelé une fois par semaine. À chaque renouvellement, les algues sont nettoyées. Après essorage, la masse d'algues est pesée puis ramenée à sa valeur initiale.

La croissance est déterminée par l'augmentation de la matière fraîche entre chaque renouvellement de milieu. La croissance est exprimée en % par jour en utilisant la formule de Patwary & Van Der Meer (1984):

$$V = \frac{100}{(t_1 - t_0)} \times \text{Log} \frac{Pt_1}{Pt_0}$$

V: vitesse de croissance en % par jour

( $t_1 - t_0$ ): intervalle de temps entre les deux prélèvements exprimé en jours

$Pt_1$  et  $Pt_0$ : masse d'algues aux instants  $t_1$  et  $t_0$

Les cultures sont maintenues pendant au moins deux mois. Les observations réalisées ont montré que les algues prenaient environ deux semaines pour s'adapter aux nouvelles conditions de culture. Aussi, la vitesse de croissance moyenne au cours de l'expérience ne prend pas en compte les mesures des trois premières semaines.

Pour l'étude de l'influence des différents paramètres physico-chimiques, les conditions standards ont été utilisées en faisant varier un à un chacun des facteurs suivants:

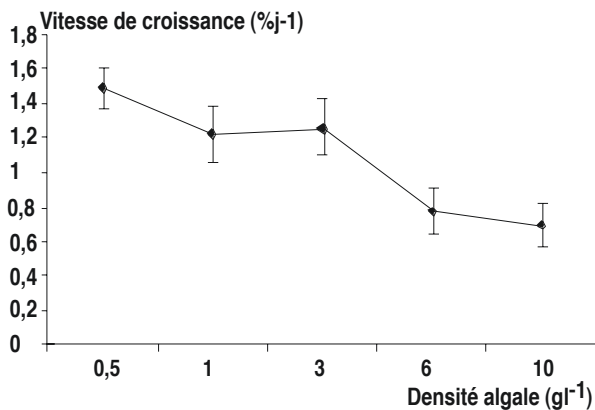
- Densité algale: 5 densités de culture ont été testées (0,5 g/l; 1 g/l; 3 g/l; 6 g/l; 10 g/l).
- Intensité lumineuse: 8 intensités lumineuses ont été étudiées (0; 50; 100; 200; 300 et 600  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ).
- Qualité de la lumière: sous une intensité constante de 70  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , quatre qualités de lumière différentes (blanc, rouge, verte et bleue) ont été testées en utilisant des tubes fluorescents de couleur différente.
- Influence de la concentration en nitrate: les apports complémentaires en nitrates testés sont 0; 0,5; 1; 2; 4 et 8 mM. Pour toutes ces concentrations le rapport N/P a été maintenu à 10 par ajustement des apports de phosphate dans le milieu.
- Influence de la nature de la source azotée: le nitrate de sodium (1 mM), le chlorure d'ammonium (1 mM), le nitrate d'ammonium (0,5 mM) et l'urée (0,5 mM) ont été testés. Les concentrations des différents sels ont été calculées pour avoir une concentration finale de 1 mM d'azote.
- Influence de la concentration en phosphate: différentes concentrations de phosphate sous forme de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2 et 1 mM) ont été utilisées.
- Influence de la salinité: les salinités testées sont 8; 16; 24; 28; 34 et 46 PPT. Elles sont obtenues à partir de l'eau de mer (dont la concentration habituelle varie entre 34 et 35 PPT) ajustées par ajout d' $\text{H}_2\text{O}$  distillée ou de NaCl.
- Influence de la concentration en carbonates: les concentrations testées sont 0; 5; 10; 15; 20 et 30 mM de bicarbonates (sous forme de  $\text{NaHCO}_3$ ).

## RÉSULTATS

### 1. Influence de la densité algale

Les meilleures vitesses de croissance (1,2 à 1,6%. $\text{j}^{-1}$ ) ont été obtenues pour des densités algales variant de 0,5 à 3  $\text{g.l}^{-1}$  (Figure 3).

Pour les densités supérieures à 3  $\text{g.l}^{-1}$ , la vitesse de croissance diminue jusqu'à 0,8%. $\text{j}^{-1}$  pour 10  $\text{g.l}^{-1}$ . Pour les densités de 0,5 et 1  $\text{g.l}^{-1}$ , l'épiphytisme est important et la vitesse de croissance diminue après 1 mois de culture.



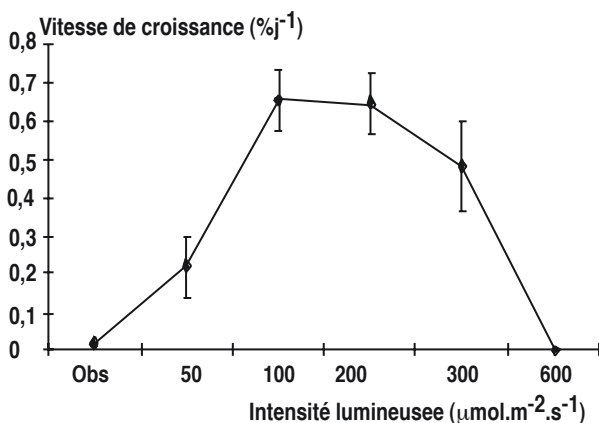
**Figure 3. Évolution de la vitesse de croissance en fonction de la densité algale**

(Température  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ ; Intensité lumineuse  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mM) et  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0,01 mM))

## 2. Influence de la lumière

### 2.1. Influence de l'intensité lumineuse

La vitesse de croissance augmente avec l'intensité lumineuse de  $0,22\%.\text{j}^{-1}$  pour  $50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  et atteint l'optimum de  $0,65\%.\text{j}^{-1}$  à  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . La croissance maximale est de l'ordre de  $0,48$  à  $0,65\%.\text{j}^{-1}$ . Elle a lieu dans un intervalle d'intensité lumineuse allant de  $100$  à  $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Pour des intensités supérieures, la croissance diminue et s'annule à  $600 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (Figure 4).



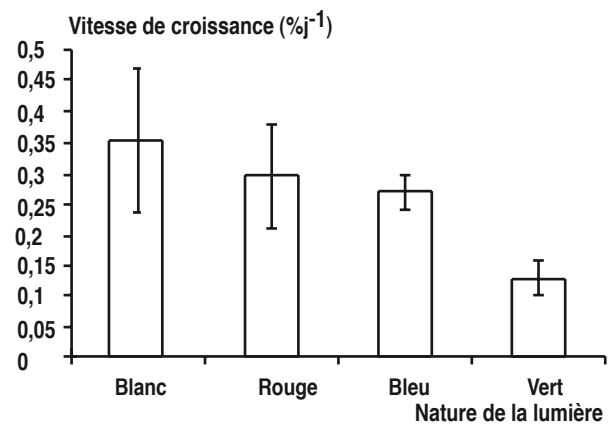
**Figure 4. Évolution de la vitesse de croissance en fonction de l'intensité lumineuse**

(Température  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ ; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mM) et  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0,01 mM))

Outre la variation de la vitesse de croissance, une variation de la consistance et de la couleur des thalles sont observées. Les algues à l'obscurité gardent leur aspect original avec une coloration foncée malgré une croissance presque nulle. Pour les plus fortes intensités lumineuses ( $> 300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), les thalles se décolorent au bout de quelques semaines et se nécrosent.

### 2.2. Influence de la longueur d'onde

La meilleure vitesse de croissance du thalle est obtenue en lumière blanche, alors que la plus faible est obtenue en lumière verte (Figure 5).



**Figure 5. Évolution de la vitesse de croissance en fonction de la qualité spectrale**

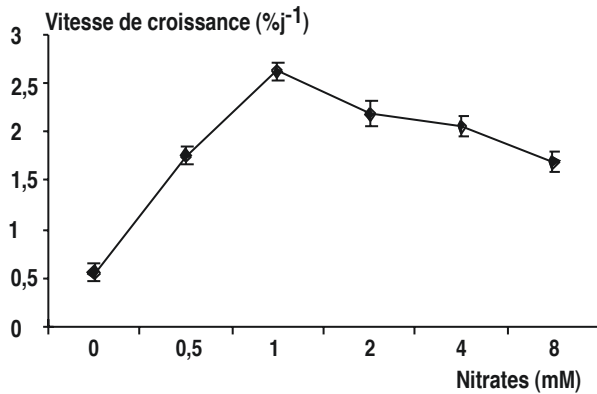
(Température  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ ; Intensité lumineuse:  $70 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mM) et  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0,01 mM))

Au bout de deux mois de culture, aucune dégénérescence n'a été observée quelle que soit la qualité de la lumière utilisée. Toutefois, le taux d'épiphytisme est resté très faible pour les algues cultivées en lumière verte.

## 3. Influence de l'azote

### 3.1. Influence de la concentration en nitrates

Un milieu de culture carencé en nitrates altère significativement la croissance algale. Les algues se décolorent et dégèrent après la cinquième semaine de culture. Pour des apports en nitrates inférieurs à  $0,5$  mM, la coloration des thalles reste inchangée tout au long de la culture, mais la croissance demeure faible. La croissance algale est importante pour des concentrations en nitrates allant de  $0,5$  et  $2$  mM avec un maximum de l'ordre de  $(2,6\%.\text{j}^{-1})$  pour  $1$  mM (Figure 6).

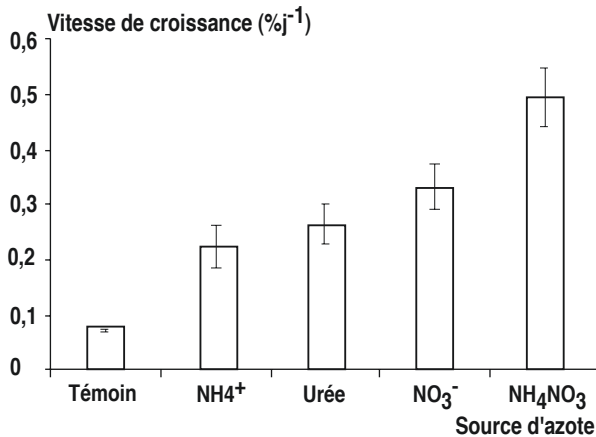


**Figure 6. Évolution de la vitesse de croissance en fonction de la concentration en Azote.** (Température 18±1°C; Intensité lumineuse: 100 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et avec un rapport N/P de 10)

L’optimum de croissance est compris entre 1 et 4 mM. Pour des concentrations supérieures à 4 mM, la croissance décroît sans pour autant s’annuler. Les fortes concentrations favorisent le développement des algues vertes épiphytes.

**3.2. Influence de la nature de la source azotée**

La vitesse de croissance de *G. multipartita* varie selon les différentes formes azotées utilisées (Figure 7).



**Figure 7. Évolution de la vitesse de croissance en fonction de la nature de la source azotée** Même concentration en N pour chaque source d’azote; Témoin (Eau de mer); NaNO<sub>3</sub> (1 mM); NH<sub>4</sub>Cl (1 mM); NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (0,5 mM); NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub> (0,5 mM). (Température 18±1°C; Intensité lumineuse: 100 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et avec un rapport N/P de 10)

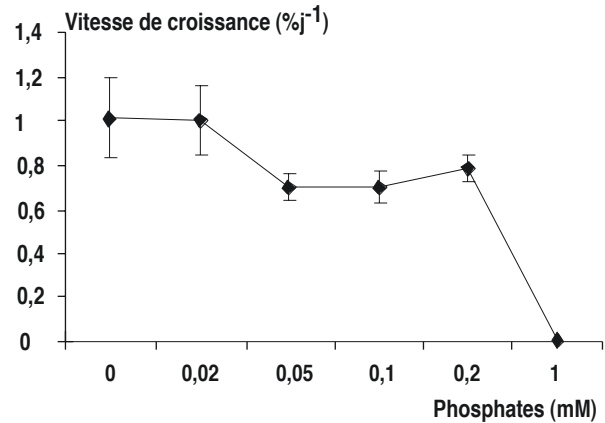
En présence de chlorure d’ammonium ou d’urée, la croissance reste faible (0,22%.j<sup>-1</sup>).

Par contre, les nitrates permettent une meilleure croissance de l’algue, qui se maintient constante pendant toute la durée de l’expérience, mais le taux de croissance le plus élevé (0,56%.j<sup>-1</sup>) est obtenu en présence de nitrate d’ammonium.

**4. Influence des phosphates**

Les faibles teneurs en phosphates permettent une vitesse de croissance importante (Figure 8).

Par contre, au-delà de 0,02 mM, la vitesse de croissance décroît jusqu’à un arrêt total pour une concentration de 1 mM.

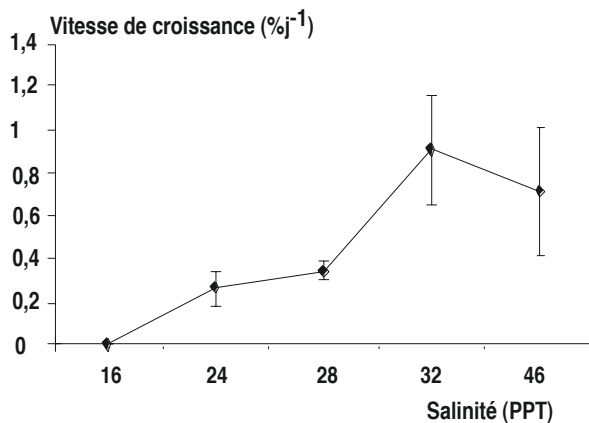


**Figure 8. Évolution de la vitesse de croissance en fonction des phosphates** (Température 18±1°C; Intensité lumineuse 70 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en NaNO<sub>3</sub> (0,1 mM))

**5. Influence de la salinité**

Les salinités inférieures à 16 PPT entraînent la mort des algues. Celles-ci se décolorent et dégénèrent à partir du troisième jour de culture. Le maximum de croissance est de l’ordre de 0,96%.j<sup>-1</sup>. Il est atteint pour une salinité de 34 PPT (Figure 9).

L’optimum de croissance est obtenu pour des salinités allant de 32 à 46 PPT. Dans cet intervalle de salinité, les thalles restent en bon état, deviennent plus rigides et leur couleur devient très foncée.

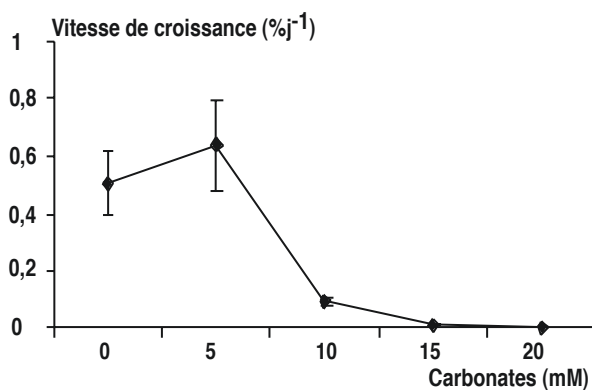


**Figure 9. Évolution de la vitesse de croissance en fonction de la salinité**  
(Température  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ ; Intensité lumineuse  $70 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mM) et  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0,01 mM)). La salinité est ajustée aux valeurs expérimentales par ajout d'eau distillée ou de NaCl.

## 6. Influence des carbonates

Un apport de 5 mM de carbonate dans le milieu de culture augmente de 30% la vitesse de croissance qui atteint la valeur maximale de  $0,7\%.\text{j}^{-1}$  (Figure 10).

Au-delà de cette concentration, la croissance décroît rapidement pour s'annuler à une concentration de 20 mM.



**Figure 10. Évolution de la vitesse de croissance en fonction des carbonates**  
(Température  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ ; Intensité lumineuse  $70 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mM) et  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0,01 mM))

## DISCUSSIONS

Les expériences réalisées ont mis en évidence l'influence de certains paramètres physiques et chimiques sur la vitesse de croissance de *G. multipartita*. Les résultats obtenus permettent de déduire les conditions optimales de culture de cette espèce.

### 1. Facteurs physiques

*G. multipartita* présente une vitesse de croissance importante lorsque la densité algale est comprise entre  $0,5$  et  $3 \text{g.l}^{-1}$ . Les densités algales supérieures à cet intervalle entraînent une diminution de la vitesse de croissance. Ceci serait dû, d'une part, à l'auto-ombrage et, d'autre part, à un appauvrissement du milieu en éléments nutritifs. Le même effet de la densité algale a été observé par Molloy & Bolton (1996) sur des populations de *Gracilaria gracilis*. Des résultats similaires sont obtenus par de Beer & Levy (1983) sur des populations de *Gracilaria sp.* Ces auteurs ont montré que la vitesse de croissance diminue de moitié après quatre semaines en culture contrôlée, lorsqu'après chaque renouvellement du milieu de culture, la densité algale n'est pas ramenée à sa valeur initiale. Lapointe (1981) a montré que la vitesse de croissance augmente parallèlement avec la densité algale jusqu'à une valeur de ( $4,8 \text{kg.m}^{-2}$ ) au-delà de laquelle elle diminue. Un phénomène équivalent a été noté chez *Gelidium latifolium* (Mouradi, 1992). Certains auteurs ont attribué cette augmentation de la vitesse de croissance avec la densité algale au relargage de vitamines et d'autres métabolites (et peut-être des inhibiteurs des autres espèces) qui favoriseraient le développement des algues.

La lumière est un facteur très important qui influence la vitesse de croissance de *G. multipartita*. Cette algue présente un optimum de croissance dans un intervalle compris entre  $100$  et  $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Ces résultats concordent avec les travaux de Rosemberg & Ramus (1982) qui ont défini le point de saturation de *Gracilaria multipartita* à  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . De même, Beer & Levy (1983) ont montré que, chez *Gracilaria sp.*, la vitesse de croissance est maximale à  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Pour sa part, Gantt (1990) a montré que le point de compensation est de  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Ces intensités lumineuses optimales semblent faibles par rapport au rayonnement auquel *G. multipartita* est soumis dans la nature.

En effet, cette algue pousse à des niveaux assez élevés sur l'estran. Elle est donc bien exposée au soleil. De plus, à chaque marée basse, elle reste couverte par quelques centimètres d'eau et doit donc subir des éclaircissements nettement plus intenses. Ces valeurs d'éclaircissement optimales sont nettement plus faibles que celles qui sont trouvées pour *Gelidium latifolium* qui, vivant au même niveau du littoral, n'est saturée que pour des intensités de  $600 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (Mouradi, 1992).

*G. multipartita* semble supporter l'obscurité. Cette particularité serait partagée par d'autres gracilaires qui sont capables de rester enfouies plusieurs mois dans le sable sur les estrans.

Contrairement aux résultats obtenus par Beer & Levy (1983) sur des cultures de *G. sp.*, une différence significative entre les vitesses de croissance en lumière blanche et en lumière verte a été observée pour *G. multipartita*. Cette espèce peut être maintenue en vie en présence d'une partie du spectre du visible. Ceci serait dû à l'existence, chez l'algue, d'un système d'adaptation à une large gamme spectrale (Dring, 1981; Talarico & Maranzana, 1998).

## 2. Facteurs chimiques

Dans les conditions expérimentales retenues, les concentrations en nitrates inférieures à 5 mM constituent un facteur limitant pour la croissance. La sensibilité de *G. multipartita* à la disponibilité en azote peut être en partie attribuée à la fragilité des pigments photosynthétiques et, en particulier, des phycoérythrine.

Quand les réserves en N internes s'épuisent, le renouvellement de ces pigments n'est plus assuré et ceux-ci sont utilisés comme source d'azote. Alors, le thalle se décolore progressivement pour devenir verdâtre et cesse de grandir. Pour des concentrations supérieures à 4 mM, l'algue continue à croître, mais à une vitesse plus faible à des concentrations comprises entre 1 et 2 mM. Ceci laisse supposer que pour des concentrations supérieures à 4 mM, les nitrates pourraient avoir des effets inhibiteurs ou toxiques. Les mêmes résultats ont été obtenus par Lapointe & Ryther (1979).

Concernant l'utilisation préférentielle de l'une ou l'autre des sources d'azote par l'algue, on remarque que la meilleure croissance est obtenue en

présence du nitrate d'ammonium. Cette préférence reste difficile à expliquer. En effet, les nitrates sont les composés dont l'absorption et le métabolisme demandent la plus grande quantité d'énergie. Le nitrate n'est pas assimilé directement par l'algue comme l'ammonium.  $\text{NO}_3^-$  doit subir une réduction et l'urée obtenue une hydrolyse pour être absorbé sous forme  $\text{NH}_4^+$ .

La préférence d'une source N au lieu d'une autre serait aussi dépendante de la concentration utilisée dans le milieu. À une concentration de 1 mM de chlorure d'ammonium, la vitesse de croissance est plus faible ( $0,22\%.\text{j}^{-1}$ ) qu'à une concentration de 0,5 mM en nitrate d'ammonium ( $0,56\%.\text{j}^{-1}$ ). Liu & Dong (2001) ont montré que chez *G. tenuistipitata*, lors d'un fort apport de  $\text{NH}_4^+$ , il se produirait un effet de rétrocontrôle dans le pool d'azote intracellulaire.

En outre, le choix de l'algue dépend d'autres facteurs du milieu parmi lesquels la lumière serait la plus importante (Bird *et al.*, 1979). Dans les conditions de faible intensité lumineuse au laboratoire, *Gracilaria grandis* mieux en présence du  $\text{NH}_4^+$  qu'en présence de  $\text{NO}_3^-$  (de Boer *et al.*, 1978). Cependant, aux fortes intensités lumineuses, les espèces grandissent aussi bien en présence de l'une ou l'autre source d'azote (Lapointe & Ryther, 1978).

Les résultats obtenus dans des flacons avec agitation ne sont peut-être pas représentatifs des préférences de l'algue, mais des interactions complexes entre les transformations de composés azotés dans le milieu et les phénomènes de toxicité de ces composés aux plus fortes concentrations.

Les phosphates constituent un facteur limitant de la croissance des algues, mais les besoins quantitatifs pour cet élément sont plus faibles que pour l'azote. C'est en l'absence ou en présence de faibles apports en cet élément (0 à 0,02 mM) que les meilleures croissances de l'algue sont obtenues.

Ceci montre que, dans les conditions naturelles, l'algue se contente de la faible teneur en phosphates contenus dans l'eau de mer pour accomplir toutes ses fonctions physiologiques. Nos résultats concordent avec ceux qui sont obtenus par Friedlander *et al.* (1985) et Navarro *et al.* (1999).

La salinité influence indirectement les concentrations en oxygène et en gaz carbonique nécessaires à la vie de l'algue. Aussi, elle intervient dans les processus d'osmo-régulation des cellules. Certains mécanismes enzymatiques de l'algue se trouveraient modifiés par le stress salin (déficience en phosphatase et galactosidase) (Lee, Tse-Min *et al.*, 1999).

*G. multipartita* supporte une large gamme de salinité variant de 24 à 46 PPT. Contrairement à la majorité des Gracilaires, *G. multipartita* tolère mieux les fortes concentrations en sel. La salinité optimale pour sa croissance correspond à celle de l'eau de mer.

*G. multipartita* réagit différemment vis-à-vis des carbonates selon la teneur de cet élément dans le milieu de culture. À faibles concentrations de l'ordre de 5 mM, les carbonates constituent un stimulant de la croissance. Au-delà de cette valeur, ils exercent un effet inhibiteur sur elle.

Le carbone inorganique dissout (DIC) dans l'eau de mer inclut le CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub> libre, H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> et CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Toutes les plantes aquatiques utilisent le CO<sub>2</sub> ou l'HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> pour leur activité photosynthétique (Raven, 1991). Les concentrations de ces deux formes de carbone varient en fonction de l'activité photosynthétique ou respiratoire, de la température atmosphérique, de la sédimentation et de l'agitation (Maberly, 1996).

Généralement, le pH est voisin 8,2. Il est en grande partie maintenu par le système tampon carbonates/bicarbonates dont le rapport est égal à 150 (Stumm & Morgan 1970). L'activité photosynthétique ou les apports de carbonates modifient ces équilibres, la disponibilité en CO<sub>2</sub> et le pH.

L'ajout d'une concentration en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> supérieure à 5 mM entraîne une augmentation des modifications de ces équilibres et une diminution de l'activité photosynthétique. Des résultats similaires sont obtenus par Menendez *et al.* (2001) pour *G. verrucosa* où l'activité photosynthétique est réduite de 81,03% en été lorsque le pH est supérieur à 8. Aussi, Axesslon *et al.* (1999) ont noté que l'activité extracellulaire de l'anhydrase carbonique à utiliser le DIC de l'eau de mer est inhibée à pH élevé.

## CONCLUSION

L'optimum de croissance est obtenu pour une densité algale de 2 g.l<sup>-1</sup> sous un éclairage en lumière blanche avec une intensité lumineuse de 100 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, des concentrations de 1 mM en nitrate d'ammonium, 0,02 mM en phosphates et 5 mM en carbonates. La meilleure salinité est celle de l'eau de mer (34 PPT).

Les résultats obtenus montrent que l'espèce (*Gracilaria multipartita*) possède une tolérance assez large aux principaux facteurs du milieu. Toutefois, contrairement à la majorité des autres gracilaires, elle semble mieux adaptée aux conditions du littoral qu'à des milieux estuariens et lagunaires comme la plupart des gracilaires.

En effet, au Maroc, cette espèce n'est jamais présente dans les estuaires et les lagunes. Les vitesses de croissance maximale restent inférieures à celles qui sont évaluées à partir de mesures *in situ* sur des populations naturelles.

De ce fait, il serait primordial, avant de procéder à une culture à l'échelle industrielle, de compléter ces travaux de façon à améliorer le système expérimental adopté. Ce dernier serait probablement plus efficace en agissant sur l'éclairage et le taux de renouvellement du milieu. Ces deux paramètres sont supposés être des facteurs limitants intrinsèques à ce système expérimental.

## RÉFÉRENCES CITÉES

- Armisen R (1995) World-wide use and importance of *Gracilaria*. *J Appl Phycol* 7: 231-243
- Axesslon L, Larsson C & Ryberg H (1999) Affinity, capacity and oxygen sensitivity of two different mechanisms for bicarbonate utilisation in *Ulva lactuca* L. (Chlorophyta). *Plant cell Environ* 22: 969-978
- Beer S & Levey I (1983) Effects of the photon fluence rate and light spectrum composition on growth, photosynthesis and pigment relations in *Gracilaria* sp. *J Phycol* 19:516-522
- Bird NL, Chen L CM & Mc Lachlan J (1979) Effects of temperature, light and salinity on growth in culture of *Chondrus crispus*, *Furcellaria Lumbricalis*, *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales, Rhodophyta), and *Fucus serratus* (Fucales, Phaephyta). *Bot Mar* 22: 521-527



- De Boer JA, Guigli HJ, Israel TL & D'Elia CF (1978) Nutritional studies of two red algae. I. Growth rate as a function of nitrogen source and concentration. *J Phycol* 14: 261-266
- Dring MJ (1981) Chromatic adaptation in benthic marine algae: an examination of its ecological significance using a theoretical model. *Limnol Oceanogr* 26: 271-284
- El Gourji A (1999) Biologie et biochimie de l'agarophyte de *Gracilaria multipartita* (Clemente) J. Agardh (Rhodophycées, Gracilariales). Thèse de Doctorat en Sciences d'Université. Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, Kénitra, Maroc, 166 p.
- Friedlander M & Dawes CJ (1985) *In situ* uptake kinetics of ammonium and phosphate and chemical composition of the red seaweed *Gracilaria tikvahiae*. *J Phycol* 21: 448-453
- Gantt E (1990) Pigmentation and photoacclimation. In *Biology of the Red Algae* (ed. KM Cole & RG Sheath), 203-219. Cambridge University Press
- Gayral P (1958) Les algues de la côte atlantique marocaine. *Soc Sc Nat et Phys du Maroc*. Rabat. 527p.
- Givernaud Th, El Gourji A, Mouradi A, Lemoine Y & Chiadmi N (1999) Seasonal variations of the growth and agar composition of *Gracilaria foliifera* harvested along the Atlantic coast of Morocco. *Hydrobiologia* 398/399: 167-172
- Givernaud Th, Mouradi A, Hassani LM, Akallal R & Riyahi J (2003) Design of a new technique for reseeded of over harvested bed of *Gelidium sesquipedale* (Turn.) Thuret (Rhodophyta, Gelidiales) in Morocco. *Proceeding of the 17<sup>th</sup> international seaweed symposium*; Cap town. Eds. A.R.O. Chapman, R.J. Anderson, V. Vreeland & T.R. Davison, Oxford University press. pp.123-130
- Givernaud T, Sqali N, Barbaroux O, Orbi O, Semaoui Y, Rezzoum N, Kaas R & Mouradi A (2005) Mapping and biomass estimation for a harvested population of *Gelidium sesquipedale* (Turn.) Thuret (Rhodophyta, Gelidiales) along the Atlantic coast of Morocco, *Phycologia* 44(1): 66-71
- Harvey WH (1846) Red seaweeds. *Phycologia Britannica*. *Plantae* pp.1-78. London, Reeve & Benham
- Lapointe BE (1981) The effect of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *angustissima* (Gigartinales, Rhodophyta). *J Phycol* 17: 90-95
- Lapointe BE & Ryther JH (1978) Some Aspects of the Growth and Yield of *Gracilaria tikvahiae* in culture. *Aquaculture* 15: 185-193
- Lapointe BE & Ryther JH (1979) The effects of nitrogen and seawater flow rate on the growth and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* V. *angustissima* in mass outdoor culture. *Bot Mar* 22: 529-537
- Lee TM, Tsai CC & Shih MC (1999) Induction of phosphorus deficiency and phosphatase activity by salinity (NaCl) stress in *Gracilaria tenuistipitata* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Shellfish Research* 18: 227-233
- Liu JW & Dong S L (2001) Comparative studies on utilizing nitrogen capacity between two macroalgae *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* (Rhodophyta) and *Ulva pertusa* (Chlorophyta). I. Nitrogen storage under nitrogen enrichment and starvation. *J Environ Sci* 13: 318-322
- Liu JW & Dong SL (2001) Comparative studies on utilizing nitrogen capacity between two macroalgae *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* (Rhodophyta) and *Ulva pertusa* (Chlorophyta). II. Feedback controls of intracellular nitrogen pools on nitrogen uptake. *J Environ Sci.*; 13(3): 323-327.
- Maberly SC (1996) Diel, episodic and seasonal changes in pH and concentrations of inorganic carbon in a productive lake. *Freshwat Biol* 35: 579-598.
- Menendez M, Martinez M & Comin FA (2001) A comparative study of the effect of pH and inorganic carbon resources on the photosynthesis of three floating macroalgae species of Mediterranean coastal lagoon. *J Exp Mar Biol Ecol* 256: 123-136.
- Molloy FJ & Bolton JJ (1996) The effect of season and depth on the growth of *Gracilaria gracilis* at Lüderitz, Namibia. *Bot Mar* 39: 407-413
- Mouradi A (1992) Recherches biologiques et biochimiques pour la production d'agarose chez *Gelidium latifolium*. Thèse de Doctorat ès-Sciences naturelles, Université de Caen, France, 351 p.
- Navarro A & Robledo D (1999) Effects of nitrogen source, N:P ratio and pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. *Hydrobiologia* 398/399: 315-320.
- Patwary MU & Van der Meer JP (1984) Growth experiments of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). *Phycologia* 23: 21-27

Perez R (1997) Les algues qui nous entourent conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation, culture, aquaculture. IFREMER. Nantes, 272 p.

Raven JA (1991) Implications of inorganic carbon utilization: ecology, evolution and geochemistry. *Can J Bot* 69: 908-924

Rosemberg G & Ramus J (1982) Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva sp.* (Chlorophyceae) soluble nitrogen and carbohydrates. *Mar Biol* 66: 251-259

Stumm W & Morgan JJ (1970) Aquatic chemistry. Wiley New York.

Talarico L & Maranzana G (1998) Light and adaptative responses in red macroalgae, *Abstr. III Algal Photobiology conference*, Sigtuna, Sweden, p. 31