

LA RHODOPHYCEE *GRACILARIA VERRUCOSA* (HUDSON) PAPENFUSS, DU LAC DE BIZERTE (TUNISIE) : VARIATIONS MENSUELLES DE LA BIOMASSE , DU RENDEMENT ET DE LA QUALITE DE L'AGAR.

Rafik BEN SAID et KSOURI, J.

*Institut National des Sciences et Technologies de la Mer
28, rue 2 mars 1934. 2025 Salammbô, Tunisie

ملخص

خلال سنة 1999 قمنا بمتابعة شهرية للطحلب الأحمر غراسيلاريا في بحيرة بنزرت في الشمال التونسي. العوامل التي تمت دراستها هي الكتلة الحيوية ونسبة استخلاص الاغرة وقوة الجمد وحرارة التجمد والانصهار للاغرة. و لقد أظهرت النتائج أن أعلى كتلة حيوية تحصلنا عليها في شهر جوان (2500 غ/صم2) والدنيا في أكتوبر (130 غ/صم2) وان احسن نسبة استخلاص للاغرة تم الحصول عليها في افريل (37,92%) بينما كانت أدناها في سبتمبر (10,67%). أما قوة الجمد العليا والدنيا التي تحصلنا عليها فهي على التوالي 410 غ/صم2 في شهر ماي و 125 غ/صم2 في ديسمبر. وبالنسبة لنقطة التجمد فهي تتراوح بين 31 و 44 درجة مئوية ونقطة الانصهار بين 79 و 100 درجة مئوية وذلك على طول السنة.

RESUME

Un suivi mensuel de la rhodophycée *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Rhodophytes ; Gracilariales , Gracilariacées), a été effectué dans le lac de Bizerte (au nord de la Tunisie) durant l'année 1999 . Les paramètres étudiés sont : la biomasse , le rendement d'extraction en agar , la force de gel , le point de fusion et le point de gélification de ce phycocolloïde. Les résultats obtenus montrent que la biomasse moyenne la plus élevée , en poids frais est enregistrée en juin (2500 g/m²) , tandis que la biomasse moyenne la plus faible est obtenue en octobre (130 g /m²) . Concernant l'agar , le meilleur rendement d'extraction est enregistré en avril (37,92 %) et le plus faible en septembre (10,67 %) . Les forces de gel maximale et minimale sont obtenues , respectivement en mai (410 g /cm²) et en décembre (125 g / cm²) . Le point de gélification varie entre 31 °C et 44 °C .Quant au point de fusion il fluctue au cours de l'année entre 79 °C et 100 °C .

Mots clés : *Gracilaria verrucosa* , biomasse , rendement en agar , qualité , lac de Bizerte , Tunisie .

ABSTRACT

During the year of 1999 , the red seaweed *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Rhodophyta ; Gracilariales , Gracilariaceae) , has been followed monthly in Bizerte lake (in the north of Tunisia) . The parameters studied are :biomass , agar-yield , gel strength ,gelling and melting temperatures ; The results showed that the highest average of wet biomass is recorded in june (2500 g/m²) and the lowest is obtained in october (130 g/m²) . The highest agar-yield is obtained in april (37,92 %) ; while the lowest is recorded in september (10,67 %) . High and low gel strengths are obtained in may (410g /cm²) and in december (125 g :cm²) , respectively .Gelling temperature varies between 31 °C and 44 °C , while melting temperature varies between 79 °C and 100 °C .

Key-words : *Gracilaria verrucosa* , Biomass ;agar-yield , quality , Bizerte lake , Tunisia .

INTRODUCTION

L'utilisation des algues ne cesse de croître de par le monde . Les secteurs d'application au profit de l'Homme sont très divers. Dans ce contexte , 47 % des tonnages d'algues sont consommés par l'Homme comme aliments, 43 % sont utilisés pour la production des colloïdes, 7 % servent à préparer des amendements agricoles pour fertiliser les champs en abaissant l'acidité des sols et en y apportant des oligoéléments à base d'algues calcaires

rouges dont l'espèce *Lithothamnium calcareum*, plus connue sous le nom de « maërl » et 3 % dans la pharmacie, la parapharmacie, la cosmétique et l'agriculture (PEREZ, 1997). Parmi les colloïdes produits par les algues, figurent les alginates extraits des algues brunes et les carraghénanes et les agars sont obtenus à partir des algues rouges. Les algues agarophytes les plus intéressantes se rapportent à trois genres: *Gelidium*, *Pterocladia* et *Gracilaria*, représentés par différentes espèces dans différentes régions du monde. Parmi les gracilaires, figure l'espèce *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Rhodophytes; Gracilariales, Gracilariacées), qui est une espèce cosmopolite, largement exploitée et cultivée dans plusieurs pays tels que la Chine et le Chili, dans le but d'en extraire un agar de qualité. Les études portant sur la qualité de l'agar obtenu de diverse espèces, en particulier de *Gracilaria verrucosa* sont très nombreuses. Citons dans ce contexte ceux de LAHAYE et al (1985), YENIGÜL (1993); CHIRAPART et OHNO (1993).

En Tunisie, l'intérêt porté à la valorisation des algues est récent. Depuis 1996, des travaux ont été entrepris ayant pour but la prospection des gracilaires, leur cartographie, et l'évaluation de leurs potentialités (KSOURI et al, 1997), dans le lac nord de Tunis; (KSOURI et BEN SAID 1998), dans le lac de Bizerte. L'étude des phycocolloïdes n'a pas été abordée à ce jour en Tunisie.

Dans ce travail, seront présentés les résultats obtenus concernant la variation de la biomasse de *Gracilaria verrucosa*, récoltée dans le lac de Bizerte (au nord de la Tunisie), ainsi qu'une étude de l'agar extrait de cette espèce et plus particulièrement le rendement d'extraction et la qualité de ce phycocolloïde au cours de l'année 1999.

MATERIEL ET METHODES

Le matériel biologique utilisé est la rhodophycée *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Rhodophytes; Gracilariales; Gracilariacées). Elle est récoltée mensuellement dans le lac de Bizerte (au nord de la Tunisie), de janvier à décembre 1999.

Suivi de la biomasse

Durant l'année 1999, un suivi mensuel de la variation des biomasses de *Gracilaria verrucosa* a été effectué dans la zone située entre Menzel Jemil et Menzel Abderrahane (Fig. 1). Sur une superficie de l'ordre de 1 ha et à une profondeur ne dépassant pas 1,2m. Cinq (5) échantillons d'algues sont prélevés à différentes distances et l'aide d'un quadrat métallique de 0,5m de côté couvrant ainsi une surface de 0,25 m². Au laboratoire, les échantillons sont pesés puis séchés à l'air libre puis à l'étuve à 60°C jusqu'à l'obtention du poids sec. Les biomasses à l'état frais et sec sont notées puis rapportées au m².

Extraction de l'agar

Le protocole expérimental utilisé pour l'extraction de l'agar à partir de *Gracilaria* est celui utilisé à l'IFREMER (BEN SAID, 1998). Les étapes de l'extraction sont les suivantes: 15 g d'algues sèches sont mis dans 800 ml d'H₂SO₄ à 0,05 % à froid pendant 2 h. Ensuite, elles sont rincées à l'eau douce pendant 1 h. L'extraction de l'agar est réalisée dans une solution alcaline (NaOH) à 5 %, à 90°C pendant 80 mn. Cette dernière est filtrée sous pression. Le filtrat obtenu subit une congélation pendant une nuit puis une décongélation. L'agar obtenu sous forme d'un film, est récupéré puis mis à sécher dans une étuve pendant 24 h. Ensuite l'agar sec est pesé pour estimer le rendement d'extraction.

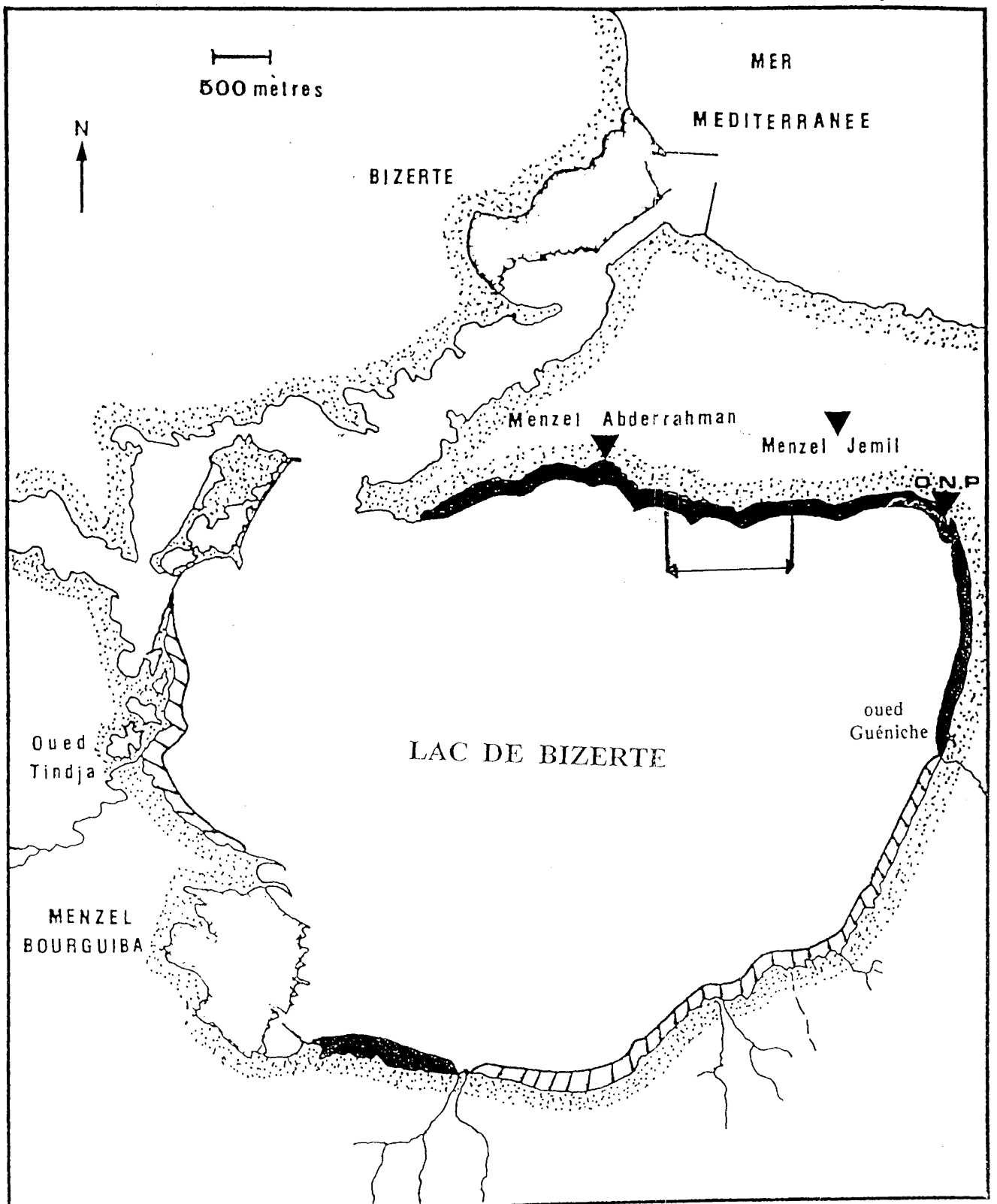


Fig1: Zones de prospection et de récolte de *Gracilaria verrucosa* dans le lac de Bizerte (1999)

Légende : Zones prospectées (KSOURI et BEN SAID , 1998)

- ↔ Secteur étudié
- Présence de *Gracilaria*
- ▨ Absence de *Gracilaria*

Etude de la qualité de l'agar.

Trois critères importants sont étudiés pour évaluer la qualité de l'agar . Ce sont la force de gel , le point de gélification et le point de fusion.

L'agar extrait est réduit en poudre puis séché à l'étuve à 110 °C pendant 3 H . Plusieurs extractions sont réalisées afin d'avoir une quantité suffisante pour l'analyse . Une solution d'agar à 1,5 % est préparée en laissant bouillir 6 g de poudre d'agar dans 400 ml d'eau pendant 40 mn .

* force de gel :

Dans un petit récipient sont coulés, 300 ml d'agar chauffé qu'on laisse refroidir pendant 24 h jusqu'à la prise complète du gel. Ensuite , des poids sont ajoutés progressivement sur le plateau d'un gélomètre fabriqué artisanalement , jusqu'à ce que le gel soit brisé entre 15 et 20 secondes (Fig 2) .

* Point de gélification et point de fusion

Dans deux tubes à essai sont versés 20 ml de la solution d'agar chauffé . On plonge un thermomètre dans l'un des tubes ainsi qu'une petite bille en verre . puis on le fait tourner entre les doigts jusqu'à stabilisation de la bille .On relève alors sur la température de gélification. Le deuxième tube est laissé refroidir pendant 24 h . Une bille en acier est déposée à la surface du gel formé dans le tube. Ce dernier est par la suite mis dans un bain- marie qu'on chauffe lentement . Lorsque la bille tombe au fond , la température est lue sur le thermomètre plongé dans le bain-marie. C'est le point de fusion de l'agar.

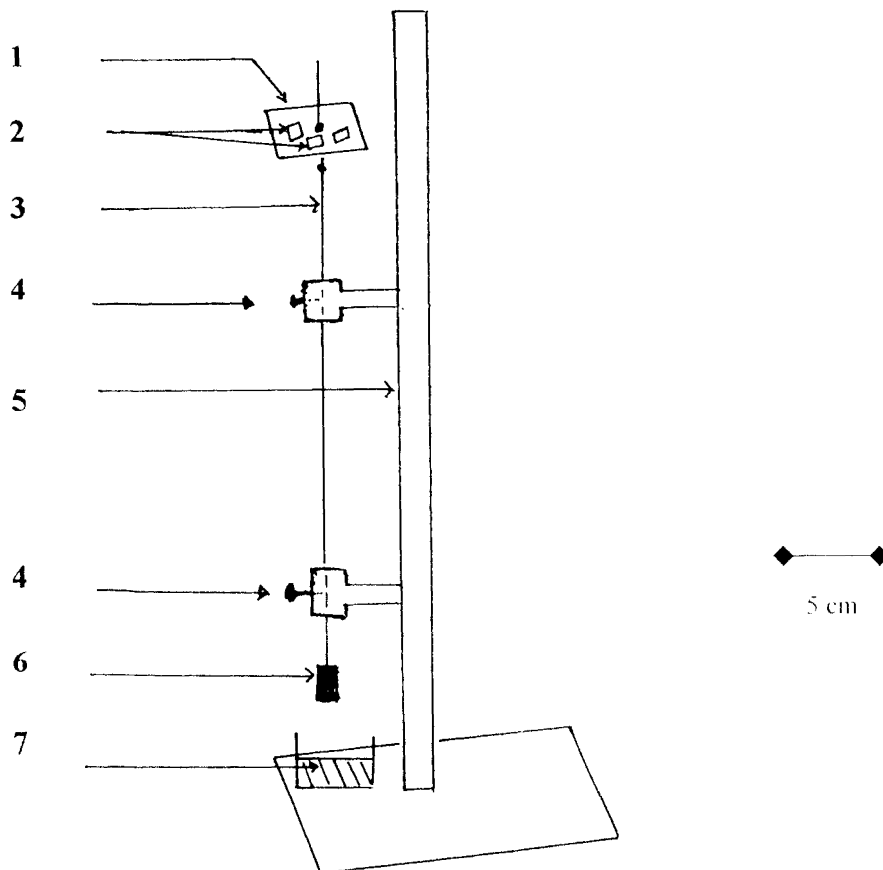


Fig. 2 : Schéma de l'appareil utilisé pour mesurer la force de gel : 1 : plateau, 2 : poids, 3 : tige métallique, 4 : vis pour varier la hauteur de la tige, 5 : support pour la fixation de la tige, 6 : petit cylindre métallique, 7 : gel d'agar

RESULTATS

La moyenne des résultats obtenus sur la variation de la biomasse, le rendement d'extraction et la qualité de l'agar de *Gracilaria verrucosa* sont consignés dans le tableau n° 1.

Tableau 1 : Variations mensuelles de la biomasse, du rendement d'extraction et de la qualité de l'agar de *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte, au cours de l'année 1999.

Mois	Biomasse moyenne humide (g/m ²)	Biomasse moyenne sèche (g/m ²)	% Poids sec /Poids humide	Rendement en agar (% de la matière sèche)	Force de gel (g/cm ²)	Point de gélification (°C)	Point de fusion (°C)
Janvier	350±30	57.05 ± 4.89	16.30	12.28 ± 2.99	144	36	89
Février	400±45	56.44 ± 6.35	14.11	13.35± 3.9	137.5	34	86
Mars	700±120	106.61± 18.27	15.23	14.26± 1.85	150	32	91
Avril	1200±180	123.36 ± 19.55	10.86	37.92± 4.89	305	33	89
Mai	2000±500	314.20 ± 78.55	15.71	30.09± 4.71	410	36	100
Juin	2500±700	350 ± 98	14	24.87± 6.68	315	42	86
Juillet	1300±200	198.3 8 ± 30.50	15.26	19.89± 5.82	240	44	89
Août	500±130	75 ± 19.5	15	19.39± 6.40	205	32	93
Septembre	200±50	32.32 ± 8.08	16.16	10.67± 1.55	245	37	96
Octobre	130±40	11.80 ± 3.64	9.09	13.56± 4.51	195	34	98
Novembre	200±60	29.48 ± 8.84	14.74	13.48± 3.07	235	40	94
Décembre	300±90	40.50 ± 12.15	13.50	14.51± 4.12	125	31	79

La biomasse

Les résultats concernant la variation de la biomasse moyenne mensuelle de *Gracilaria verrucosa* dans le secteur étudié dans le lac de Bizerte sont représentés dans la figure 3.

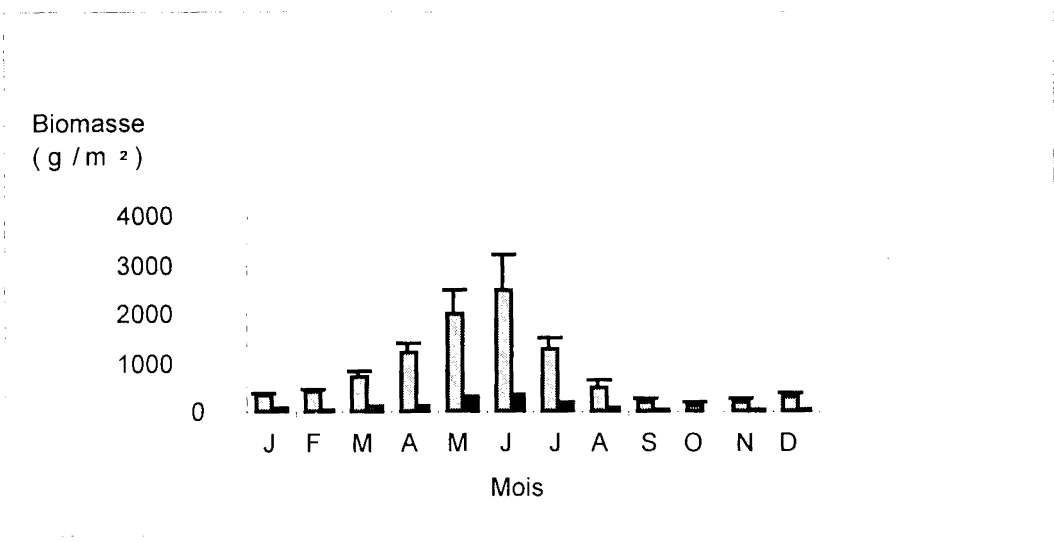


Fig3. Variations de la biomasse en poids humide et en poids sec (g/m²) de *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte (année 1999) .

D’après cette figure , la biomasse moyenne de *Gracilaria* évolue progressivement de janvier , pour atteindre son apogée en juin (2500g/m² en frais et 350 g/m² en sec), puis elle diminue pour atteindre le minima en octobre (130g/m² en frais et 11,8 g / m² , en sec) . En novembre, on note à nouveau une légère augmentation. Ces résultats montrent une nette variation temporelle saisonnière de la biomasse de *Gracilaria verrucosa* .

Rendement d’extraction d’agar et force de gel

La variation mensuelle du rendement d’extraction d’agar et la force de gel sont représentées dans la fig . 4. Sur cette figure , il est à remarquer que le rendement d’extraction augmente progressivement depuis le début de l’année pour atteindre son maximum en avril (37,92 %) , puis chute lentement jusqu’à sa valeur minimale en septembre (10,67 %) . En octobre , la teneur de *Gracilaria* en agar tend à augmenter de nouveau .

Quant à la force de gel , elle augmente depuis janvier pour atteindre son maximum en mai (410 g/ cm²) puis elle diminue jusqu’à atteindre sa plus basse valeur en décembre (125 g/ cm²). Les plus hautes valeurs sont donc enregistrées pendant les saisons printanière et estivale, tandis que les plus faibles sont obtenues en période hivernale .

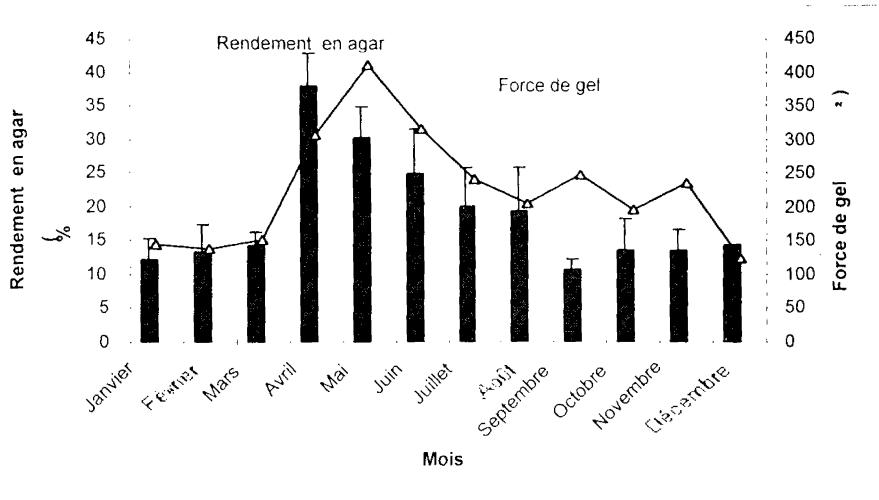


Fig 4 . Variation du rendement en agar de *Gracilaria verrucosa* , du lac de Bizerte et de la force de gel .

Point de gélification et point de fusion

Les variations mensuelles du point de gélification et du point de fusion sont représentées dans la fig 5 .Concernant le point de gélification , la valeur minimale et maximale sont enregistrées respectivement en décembre (31 °C) et en juillet (44 °C). Quant au point de fusion , il varie de 79 °C en décembre à 100 °C en mai .

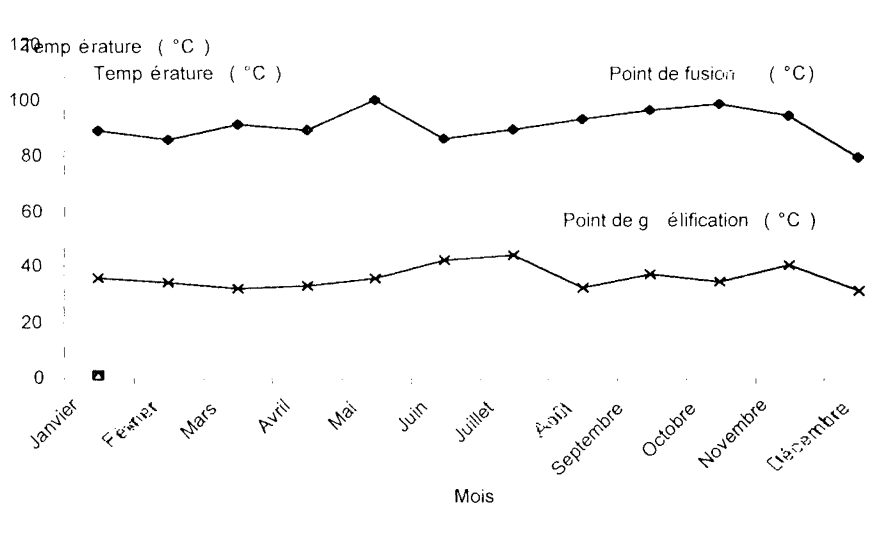


Fig.5. Variation du point de gélification et du point de fusion de l'agar de *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte

DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude portant sur la variation de la biomasse , du rendement d'extraction et de la qualité de l'agar extrait de *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte a permis de montrer les faits suivants :

- La biomasse de *Gracilaria* dans le lac de Bizerte varie au cours de l'année. Elle est minimale en automne (130g/m² en frais et 11,8 g / :m² , en sec) et maximale au printemps et au début de l'été (juin : 2500 g/m² en frais et 350 g/m² en sec). En effet , les gracilaires sont peu abondantes en hiver . La croissance active de ces végétaux a lieu au printemps et au début d'été . Nos constatations corroborent les observations de BUSCHMANN et GOMEZ (1993) sur les gracilaires qui se développent aussi , considérablement dans les eaux chiliennes en période printanière. CHIRAPART (1993) , trouve une biomasse maximale en juillet (6952 g/m²), dans la baie de Tosa au sud du Japon. Dans les conditions du lac de Bizerte , nos observations antérieures (KSOURI et BEN SAID ; 1998) et actuelles montrent que les thalles de *Gracilaria* , s'allongent à la suite d'une multitude de ramifications successives . Par conséquent , ces algues gagnent du poids et forment des touffes parfois très impressionnantes , de l'ordre de 7 à 8 kg , avec une longueur qui peut atteindre 4,5 m , pendant la période printanière et au début de la période estivale . En plein été , les thalles perdent de leur poids , principalement à cause de l'élévation de la température . Ils s'effritent facilement et dégénèrent . En fin d'automne et au début d'hiver, (novembre) , les conditions du milieu changent. La température de l'eau baisse . A ce moment , les vestiges des gracilaires et les éléments reproducteurs , notamment les spores qui sont émises dans l'eau au cours de la reproduction , permettent à ces algues de reprendre un nouveau cycle de vie .

- le rendement d'extraction fluctue au cours de l'année d'un mois à un autre et d'une saison à une autre . En effet , le rendement maximal :37,92 % est enregistré au printemps (en avril), tandis que le rendement minimal : 10,67 % est obtenu en automne (septembre).Nos résultats corroborent ceux de CHIRAPART et OHNO (1993) qui ont remarqué le même phénomène sur *Gracilaria sp* (type *Chorda*) dans les eaux de la baie de Tosa au Japon . Cette évolution au cours du temps suit les mêmes variations que subit le développement des peuplements de *Gracilaria* observé dans le lac de Bizerte . Cette croissance atteint son apogée au printemps et au début de l'été puis régresse vers la fin de la période estivale et le début de saison automnale. Une corrélation positive a été trouvée entre l'évolution de la biomasse et le rendement d'extraction (r=0,72) ; Par ailleurs , un test statistique a été fait pour voir s'il existe une corrélation entre le rendement d'extraction et le rapport Poids sec / Poids humide . Le résultat de ce test montre qu'il n'y a pas de corrélation entre les deux paramètres (r= -0,27) .

- La force de gel varie également au cours de l'année et atteint sa valeur maximale de 410 g / cm² au printemps (avril) et sa valeur minimale de 125 g / cm² en hiver (décembre) . Nos résultats rejoignent ceux de BIRD et RYTHER (1990) qui trouvent une qualité supérieure de l'agar obtenu de *Gracilaria verrucosa* lorsque la température de l'eau augmente . En revanche , CHRISTIAEN et al (1987) trouvent une relation inverse entre la force de gel et l'élévation de la température de l'eau . Cette divergence dans les résultats peut être expliquée par les différences de localisation géographique et écologique des gracilaires étudiées . Dans le tableau n°2 sont indiquées les forces de gel des agars obtenus à partir des *Gracilaria* récoltées dans certains pays

Tableau II. Comparaison entre les forces de gel des agars de *Gracilaria* récoltée dans différents pays.

Force de gel (g/cm ²)	Pays	Auteur	Année
306	Kenya	OYIEKE .HA	1993
250-1250	Japon	CHIRAPART et OHNO	1993
293-563	Malaisie	PHANG et al	1996

Un test statistique a été réalisé également pour voir s'il existe une corrélation entre la teneur en agar et la force de gel. La corrélation est positive et le coefficient est hautement significatif ($r = 0,75$)

- Le point de gélification et le point de fusion montrent également des variations au cours de l'année mais ces variations ne sont pas très claires. En effet, dans la même saison, les températures de gélification et de fusion tantôt augmentent, tantôt baissent. Cependant, il y a une nette augmentation du point de gélification, entre mars et juillet et du point de fusion, entre juin et octobre.

En conclusion, *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte constitue une bonne source d'agar, puisque le rendement maximum coïncide bien avec le développement optimum de l'algue, c'est à dire au printemps et au début de l'été. La récolte de cette algue dans ce plan d'eau ne doit pas dépasser le mois de juin, car la température et la salinité augmentent et les algues dégénèrent. L'agar de *G. verrucosa* du lac de Bizerte a aussi une qualité satisfaisante puisqu'il a une force de gel supérieur à 300 g/cm^2 pendant la même période, critère le plus important à rechercher pour mieux s'orienter quant à son utilisation ultérieure. D'après PEREZ (1997), les agars sont classés commercialement en quatre catégories selon la force de gel : extra (1000 à 1200 g/cm^2) et haute (600 à 900 g/cm^2), pour ceux provenant des Gélidiales (*Gelidium*, *Gelidiella* et *Pterocladia*). Ces agars sont utilisés en particulier dans les industries pharmaceutiques, en biotechnologie et en bactériologie. Les deux autres catégories sont : moyenne (400 à 600 g/cm^2) pour les agars extraits de *Gracilaria verrucosa* et *G. gracilis*, et médiocre (moins de 350 g/cm^2) pour ceux provenant de *Porphyra*. Donc l'agar extrait de *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte a une position acceptable dans cette classification commerciale et son domaine d'utilisation serait le domaine agro-alimentaire, en tant qu'épaississant et stabilisant des denrées alimentaires et des produits destinés à l'utilisation agricole. Ceci laisse augurer un bon avenir pour la culture de *Gracilaria verrucosa* en Tunisie, en particulier dans le lac de Bizerte en vue de son utilisation dans l'industrie de l'agar. Une autre étude devrait être reconduite sur un autre cycle annuel de cette algue agarophyte dans le même site, afin de s'assurer de la reproductibilité de nos résultats. Le projet d'une culture à cette fin est à envisager. Il serait cependant nécessaire de poursuivre les études dans cette voie afin de s'assurer de la qualité de l'agar des gracilaires du lac de Bizerte.

BIBLIOGRAPHIE

- BEN SAID R (1998)- Apprentissage des méthodes d'évaluation de la qualité des agars de *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss. Comparaison à celles de *Gelidium sesquipedale*. Rapport de Séjour Scientifique de Haut Niveau (SSHN). Laboratoire d'algologie appliquée IFREMER (Nantes). Du 16 au 30 Mars 1998. 19p.
- BIRD K T and RYTHER J H. (1990) - Cultivation of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariales, Rhodophyta) Strain G-16 for agar. *Hydrobiologia*, 204/205 : 347-351.
- BUSHMANN, A.H and GOMEZ, P. (1993) interaction mechanisms between *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) and epiphytes. *Hydrobiologia*, 260/261 : 345-351.
- CHIRAPART A and OHNO M. (1993) - Seasonal variation in the physical properties of agar and biomass of *Gracilaria* sp. (*Chorda* type) from Tosa Bay, southern Japan. *Hydrobiologia*, 151/152 : 541-547.
- CHRISTIAEN D; STADLER T; ONDARZA M and VERDUZ M C. (1987) - Structure and functions of polysaccharides from cell wall of *Gracilaria verrucosa*. (Rhodophyceae, Gigartinales). *Hydrobiologia*, 151/152 : 139-146.
- KSOURI J, BEN SAID R, et BEJI O (1997)- Evaluation des potentialités quantitatives naturelles des gracilaires (algues rouges) du lac nord de Tunis. *Bull. INSTM* .24 : 15-27.

- KSOURI J et BEN SAID R.(1998)- Potentialités en macroalgues : cartographie et biomasse de l'agarophyte rhodophycée *Gracilaria verrucosa* dans le lac de Bizerte . *Bull . INSTM*. Vol . 25.
- LAHAYE M; ROCHAS C . and YAPHE W (1985) –A new procedure for determining the heterogeneity of agar polymers extracted in the cell walls of *Gracilaria spp* . (Gracilariaceae , Rhodophyta) . *Canadian Journal of Botany* . 64, 579-585 .
- OYIEKE H A . (1993)- The yield, physical and chemical properties of agar gel from *Gracilaria* species (Gracilariales, Rhodophyta) of the Kenya Coast . *Hydrobiologia* ; 260/261 : 613-620 .
- PEREZ R .(1997)- Ces algues qui nous entourent . Conception actuelle, rôle dans la biosphère , utilisations , culture . éd. IFREMER , 272 PP .
- PHANGS.M; SHAHARUDDIN S; NORAISHAH H and SASEKUMAR A (1996)- Studies on *Gracilaria changii* (Gracilariales , Rhodophyta) from Malaysian mangroves . *Hydrobiologia*.. 326/327 : 347-352.
- YENIGÜL M . (1993)- Seasonal changes in the chemical and gelling characteristics of agar from *Gracilaria verrucosa* collected in Turkey . *Hydrobiologia* ; 260/261 : 627-631 .