

Capacité de stockage intracellulaire de l'azote et du phosphore chez *Microcystis aeruginosa* Kütz. et *Synechocystis* sp. : cyanobactéries toxiques occasionnant des blooms dans la région de Marrakech (Maroc)

B. Sbiyyaa¹
M. Loudiki¹
B. Oudra¹

Mots-clés : *Microcystis aeruginosa*, *Synechocystis* sp., réserves intracellulaires, azote, phosphore.

Le comportement nutritionnel de *Microcystis aeruginosa* et de *Synechocystis* sp. en période de carence des nutriments a été évalué par des expériences simultanées de carence et d'enrichissements en azote et en phosphore. Ces manipulations ont permis d'estimer les réserves intracellulaires en nutriments stockées par ces deux espèces de cyanobactéries et de voir dans quelle mesure ces réserves soutiennent leur croissance au cours de la carence. L'évaluation de la capacité de stockage des nutriments a été faite en culture sur milieu naturel (eau du lac pour *Microcystis* et eau usée pour *Synechocystis*) et sur milieu enrichi BG 13.

La croissance des deux souches d'algues est beaucoup plus rapidement affectée par la carence en azote (N-NO₃). Le nombre de cellules filles, produites à partir des réserves intracellulaires en azote, est pratiquement similaire pour les deux types de milieux de culture utilisés. A l'inverse, malgré la carence en phosphore, les deux cyanobactéries poursuivent leur croissance en phase exponentielle beaucoup plus longtemps grâce aux réserves qui ne sont épuisées qu'au 8^{ème} jour de mise en carence. Le nombre de cellules filles produites à partir des réserves intracellulaires en phosphore, est légèrement plus faible en culture sur milieu BG 13 que sur milieu naturel. Les deux souches stockent des quantités en azote et en phosphore non négligeables qui leur permettent de maintenir leur croissance lorsque les nutriments font défaut dans le milieu.

Nitrogen and phosphorus intracellular capacity in storage by *Microcystis aeruginosa* Kütz and *Synechocystis* sp. : toxic cyanobacteria occasionally forming blooms in Marrakesch area (Morocco)

Keywords : *Microcystis aeruginosa*, *Synechocystis* sp., intracellular stock, nitrogen, phosphorus.

Nutritive behavior of microalgae *Microcystis aeruginosa* and *Synechocystis* sp., when nutrients are deficient, was evaluated by simultaneous experiments of nitrogen and phosphorus deficit and enrichment. These experiments allowed us of estimation intracellular nutrient reserve stored by the two alga strains, which support their growth in the course of nutrient deficiency. Nutrient storage capacity was determined using natural culture media (lake water, wastewater) and enriched BG 13 medium.

Results showed that the growth of alga strains was rapidly affected by nitrogen (N-NO₃) deficiency. Daughter cell number produced from intracellular nitrogen stock was similar for all media used. Inversely, in spite of phosphorus deficiency, algal cells continue logarithmic growth using their reserve which had not been exhausted before the eighth day of deficiency. Daughter cell number produced from phosphorus stock was slightly lower in BG 13 than in natural medium. Cyanobacterial strains store nitrogen and phosphorus in quantities which may maintain their growth when these nutrients are deficient in their natural habitats.

1. Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Département de Biologie, BP S15, Marrakech, 40001 Maroc.

Introduction

Les cyanobactéries, comme les algues proprement dites, possèdent des différences marquées dans leur aptitude à absorber et à stocker les divers nutriments. D'après l'ensemble des données disponibles, la capacité de stockage, souvent exprimée par le coefficient de consommation de luxe (Q_m/Q_0), varie non seulement en fonction des groupes d'algues mais également des espèces et du nutriment considéré. La grande majorité de mesures des capacités de stockage intracellulaire des nutriments a été effectuée chez des espèces de diatomées et de chlorophycées. Les mesures concernant les espèces de cyanobactéries restent cependant très fragmentaires (Dauta 1982, Piquemal 1990) malgré leur importance qualitative et quantitative dans le phytoplancton d'eau douce.

Nos recherches menées depuis 1990 sur le phytoplancton d'un lac de barrage eutrophe et d'un lagunage de la région de Marrakech ont montré que les cyanobactéries prolifèrent régulièrement en période chaude estivale et occasionnent des efflorescences qui se développent et continuent à persister même en présence de quantités non détectables de nutriments inorganiques surtout dans le lac (Cherifi 1992, Oudra 1990). La croissance de ces cyanobactéries planctoniques apparaît comme n'étant pas vraiment limitée par ces conditions nutritives précaires suggérant ainsi une importante capacité de stockage intracellulaire des nutriments.

Afin d'évaluer ces capacités de stockage intracellulaire de l'azote et du phosphore, des expérimentations au laboratoire ont été réalisées chez *Microcystis aeruginosa* Kütz. et *Synechocystis* sp. isolées respectivement du lac et du bassin de lagunage des eaux usées et maintenues en culture aussi bien sur milieu inorganique enrichi que sur milieu naturel. Les résultats de ces expériences devraient permettre d'évaluer l'importance du stockage de ces deux éléments nutritifs et d'observer dans quelle mesure ces stocks intracellulaires contribuent à la prolifération de ces espèces et expliquent leur persistance dans les milieux étudiés même lorsque les nutriments font défaut.

2. Matériel et méthodes

2.1. Souches d'algues étudiées

Les cyanobactéries utilisées pour ces expériences sont *Synechocystis* sp. isolée des bassins de stabilisation expérimentaux de traitement des eaux usées de la ville de Marrakech et *Microcystis aeruginosa* isolée du lac réservoir Lalla Takerkoust. Ces deux espèces for-

ment régulièrement des efflorescences en été et au début de l'automne dans leurs milieux respectifs (Cherifi 1992, Oudra 1990).

Les souches d'algues isolées ont été mises en culture non axénique sur milieu spécifique BG 13 (Ferris & Hirsch 1991) dont la composition chimique, totalement minérale, permet de réduire au minimum la prolifération bactérienne. Dans le but d'évaluer l'importance du stockage intracellulaire des nutriments en milieu naturel, *Synechocystis* sp. et *Microcystis aeruginosa* ont été également mises en culture respectivement sur eau usée et sur eau du lac filtrées et stérilisées. Afin de prévenir un appauvrissement du milieu en gaz carbonique, les cultures sont aérées avec un apport continu d'air et exposées à une intensité lumineuse de $82 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ provenant de tubes fluorescents blancs avec une photopériode 16h/8h (16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité) et une température de $26^\circ\text{C} \pm 1$. Selon Dauta et al. (1982), l'intensité lumineuse et la température agissent surtout sur le taux de croissance des cultures et son étalement dans le temps mais n'influencent pas les valeurs des stocks internes en nutriments.

2.2. Mise en carence des cultures

Les nutriments étudiés dans ces expériences sont l'azote N, apporté sous forme de NaNO_3 , et le phosphore P apporté sous forme de K_2HPO_4 .

L'expérience a été réalisée sur milieu BG 13 en utilisant l'eau usée de la station pilote de lagunage et l'eau du lac du barrage Lalla Takerkoust. L'eau usée a été d'abord totalement carencée en nutriments (N et P) par des ensemencements successifs de *Synechocystis* sp. A la fin de la phase exponentielle de croissance, la culture de *Synechocystis* sp. est filtrée sur filtre millipore ($0.45 \mu\text{m}$). Le milieu de culture récupéré est à nouveau réensemencé par la même espèce afin d'éliminer toute trace d'azote et de phosphore. A l'inverse de l'eau usée, l'eau du lac utilisée dans ces manipulations est exempte de nutriments et n'a subi par conséquent aucun traitement. Le tableau 1 résume les caractéristiques chimiques de l'eau du lac et de l'eau usée avant et après deux repiquages par *Synechocystis* sp. Les méthodes d'analyses des nitrates (NO_3^-), des nitrites (NO_2^-) et des orthophosphates (PO_4^{3-}) sont décrites dans la norme AFNOR (1986), les bicarbonates sont dosés par méthode volumétrique décrite par Rodier (1984).

2.3. Protocole expérimental et détermination des quotas cellulaires internes

Le protocole expérimental utilisé est celui réalisé par Dauta et al. (1982). C'est une méthode relativement

Tableau 1. Caractéristiques chimiques de l'eau du lac et de l'eau usée avant et après repiquage par *Synechocystis* sp.Table 1. Chemical characteristics of lake water and wastewater before and after transplanting of *Synechocystis* sp.

Paramètres	Eau usée			Eau du lac
	Etat initial	1 ^{er} repiquage	2 ^{ème} repiquage	Etat initial
N-NO ₃ ⁻ (µg/L)	9.6	0	0	0
N-NO ₂ ⁻ (µg/L)	27	13.06	4.24	1.45
N-NH ₄ ⁺ (µg/L)	9850	121.73	0	0
P-PO ₄ ³⁻ (µg/L)	7690	820	1.22	0
HCO ₃ ⁻ (mg/L)	422	226	131.76	151.2

simple utilisée par plusieurs auteurs (Boumnich 1992, Belkoura 1994) et basée sur l'annulation du taux de croissance lorsque le quota minimal (Q_0) est atteint. La densité des cultures est déterminée par dénombrement des cellules au microscope à l'aide d'un hématimètre type Malassez (Sournia 1978). Les colonies de *Microcystis* sont préalablement désintégrées par sonification à 50 KHz pendant 5 secondes avant le comptage. Les cultures de cyanobactéries maintenues en phase exponentielle de croissance sontensemencées dans un milieu enrichi en nutriments (17647 µg at N/L, 178 µg at P/L) et incubées pendant 8 heures dans les conditions mentionnées auparavant. Cette durée est supposée suffisante à l'algue pour constituer des réserves intracellulaires proches de la limite supérieure (Q_m) (Dauta 1982). Les cultures sont ensuite récupérées par filtration douce sur filtre Millipore (0.45 µm) et abondamment rincées avec du milieu de culture sans azote et sans phosphore, ceci pour éliminer toute trace de nutriments et de matériel excrété.

Au temps T_0 , elles sont réensemencées dans les trois milieux (BG 13, eau usée, eau du lac) préalablement privés du nutriment à étudier (N ou P) et réincubées dans les mêmes conditions.

L'annulation du taux de croissance des cultures correspond à l'instant T_1 où les réserves intracellulaires tendent vers le minimum (Q_0 : Quota minimal ou Quota de subsistance). Ce premier stade de croissance est décrit par l'équation: $N_0 \cdot Q_m = N_1 \cdot Q_0$ avec: N_0 = Nombre de cellules au temps T_0 , N_1 = Nombre de cellules au temps T_1 .

Lorsque le taux de croissance s'annule, les cultures de cyanobactéries sont réparties dans trois flacons de 250 ml auxquels on ajoute chacun une dose connue (D_1 , D_2 et D_3) de l'élément nutritif manquant (Tableau 2).

L'ajout de nutriment provoque une reprise de la croissance de l'algue jusqu'à l'épuisement de ses nouvelles réserves au temps T_2 , soit N_2 le nombre de cellules obtenues, correspondant à la dose D , l'équation: $N_1 \cdot Q_0 + D = N_2 \cdot Q_0$ décrit le deuxième stade de l'expérience et permet de calculer la valeur du quota minimal ($Q_0 = D/N_2 - N_1$). Les valeurs des quotas maximums sont déduites de celles des quotas minimums par l'équation $Q_m = Q_0 \cdot N_1/N_0$. Les quotas intermédiaires $Q_{N,P}$ correspondant aux temps T sont calculés par la formule $Q_{N,P} = Q_0 \cdot N/N_0$ avec: N = Nombre de cellules au temps T . Puisque trois doses différentes D_1 , D_2 et D_3 ont été utilisées, les quotas maximums et minimums, calculés pour chaque dose, ont permis d'obtenir les valeurs moyennes de Q_0 et de Q_m pour chaque espèce.

Parallèlement à l'estimation des stocks cellulaires en nutriments, l'évolution du quota en chlorophylle a a été suivie sur des cultures privées d'azote ou de phosphore. Le dosage des pigments a été réalisé par la méthode décrite par Marker et al. (1980).

3. Résultats

La croissance de *Microcystis aeruginosa* et de *Synechocystis* sp. est beaucoup plus rapidement affectée par la carence en azote que celle en phosphore. Les divi-

Tableau 2. Doses d'azote et de phosphore ajoutées aux cultures carencées de *Microcystis aeruginosa* et *Synechocystis* sp.Table 2. Quantities of nitrogen and phosphorus added to deficient cultures of *Microcystis aeruginosa* and *Synechocystis* sp.

	D1	D2	D3
Azote (µg at. N)	28.57	14.28	7.14
Phosphore (µg at. P)	1.29	0.64	0.32

sions cellulaires s'arrêtent dès le 4^{ème} jour de mise en carence pour *Microcystis aeruginosa* et *Synechocystis* sp. aussi bien en culture sur BG13 que sur milieu naturel (eau du lac ou eau usée) (Fig. 1). Le nombre de cellules filles, produites par chaque espèce à partir de ses réserves intracellulaires en azote, est pratiquement similaire pour les deux types de milieux de culture utilisés.

Les effets de la carence en phosphore sur la croissance se manifestent plus tardivement et sont moins sévères que ceux de la carence en azote. Les cellules carencées en phosphore poursuivent leur développement en phase exponentielle jusqu'au 8^{ème} jour de mise en carence pour *M. aeruginosa* en culture sur BG 13 et sur eau du lac et jusqu'au 6^{ème} et 7^{ème} jour pour *Synechocystis* sp. maintenue respectivement en culture sur BG 13 et sur eau usée (Fig. 2). A l'inverse de la caren-

ce en azote, le nombre de cellules filles, produites à partir des réserves intracellulaires en phosphore, est légèrement plus faible en culture sur milieu synthétique que sur milieu naturel.

L'enrichissement du milieu carencé par l'élément nutritif qui fait défaut (N ou P) permet aux cellules de reprendre leur croissance jusqu'à l'épuisement complet de leurs nouvelles réserves qui survient 4 à 5 jours après l'ajout (Figs 1 et 2). Etant donné que la réponse des espèces est similaire pour les trois doses utilisées D1, D2 et D3, seuls les résultats correspondant à la dose D1 sont représentés à titre d'exemple.

Les valeurs déterminées des quotas minimum et maximum pour l'azote et le phosphore sont rapportées dans le tableau III.

Dans les cultures carencées en azote ou en phosphore, les cellules se divisent en utilisant leurs réserves en

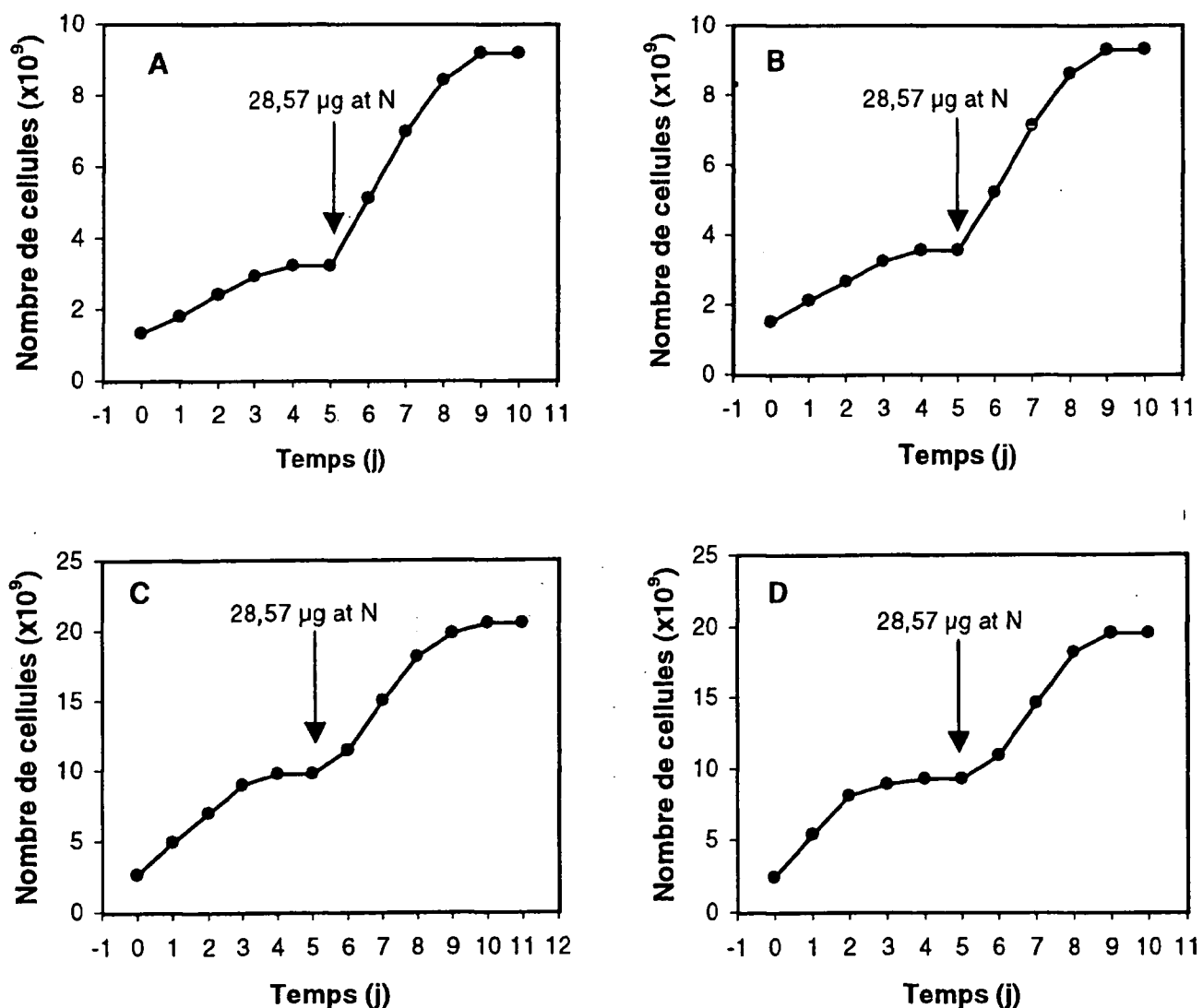


Fig. 1. Estimation des quotas internes en azote chez *Microcystis aeruginosa* en culture sur BG 13 (A) et sur l'eau du lac (B) et chez *Synechocystis* en culture sur BG 13 (C) et sur l'eau usée (D). Résultats correspondant à la dose D1.

Fig. 1. Estimation of internal nitrogen quota for *Microcystis aeruginosa* cultured in BG 13 (A) and lake water (B) and for *Synechocystis* cultured in BG 13 (C) and wastewater (D). Only D1 was represented.

Tableau 3. Réserves intracellulaires en azote et en phosphore : valeurs moyennes du quota minimal (Q_o) et du quota maximal (Q_m) exprimés en μg at 10^{-9} cellules (\pm écart-type).

Table 3. Intracellular nitrogen and phosphorus stocks : mean values of minimal quota (Q_o) and maximal quota (Q_m) in μg at 10^{-9} cellules (\pm standard deviation).

Espèce	Quotas	Azote	Phosphore
<i>M. aeruginosa</i> BG 13	Q_o	20.5 ± 1.57	0.91 ± 0.1
	Q_m	49.17 ± 3.78	11.61 ± 1.24
	Q_m/Q_o	2.4	12.76
<i>M. aeruginosa</i> Eau du lac	Q_o	23.58 ± 1.58	1.12 ± 0.08
	Q_m	56.14 ± 3.57	13.76 ± 1.01
	Q_m/Q_o	2.38	12.28
<i>Synechocystis</i> BG 13	Q_o	7.43 ± 0.42	0.43 ± 0.05
	Q_m	27.99 ± 1.57	4.1 ± 0.53
	Q_m/Q_o	3.77	9.53
<i>Synechocystis</i> Eau usée	Q_o	7.81 ± 0.09	0.35 ± 0.03
	Q_m	30.43 ± 0.36	3.44 ± 0.32
	Q_m/Q_o	3.89	9.83

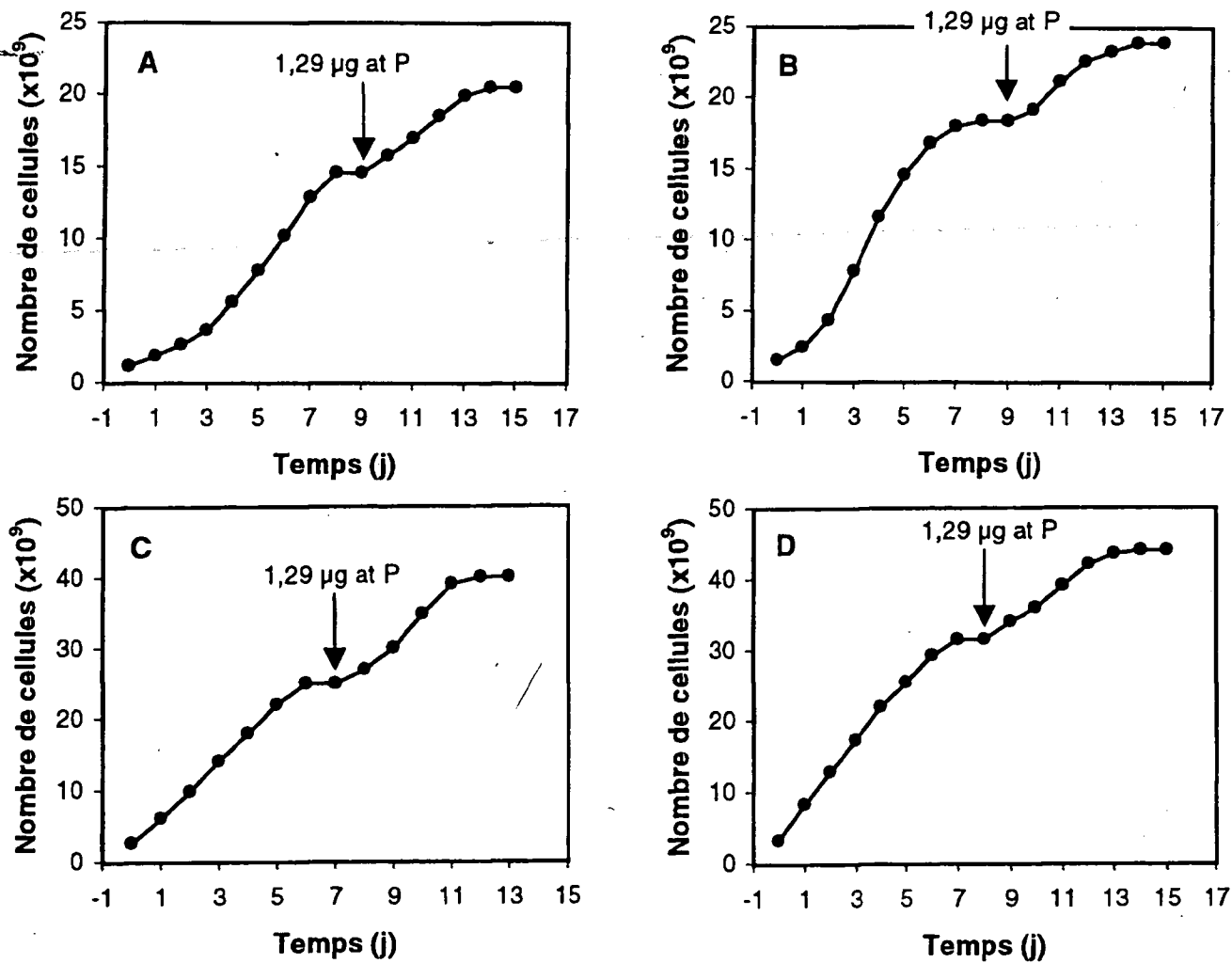


Fig. 2. Estimation des quotas internes en phosphore chez *Microcystis aeruginosa* en culture sur BG 13 (A) et sur l'eau du lac (B) et chez *Synechocystis* en culture sur BG 13 (C) et sur l'eau usée (D).

Fig. 2. Estimation of internal phosphorus quota for *Microcystis aeruginosa* cultured in BG 13 (A) and lake water (B) and for *Synechocystis* cultured in BG 13 (C) and wastewater (D).

N ou en P. Ceci se répercute au niveau des quotas internes en azote (QN) ou en phosphore (QP) dont les valeurs chutent progressivement au cours du temps (Fig 3 & 4). Cette diminution, plus accentuée pendant les deux ou trois premiers jours de mise en carence, s'atténue fortement par la suite pour atteindre le quota cellulaire minimal (Q_0) ou quota de subsistance. L'analyse de l'évolution, au cours de la carence, des réserves restantes exprimées en pourcentage et calculées par rapport au quota maximal $[(Q_{N, P} - Q_0 / Q_m - Q_0) \times 100]$, montre que *M. aeruginosa* utilise 40 à 50 % de ses réserves en N et en P après seulement 24 heures d'incubation. Ce chiffre atteint 75% pour l'azote et varie de 60 à 70% pour le phosphore après 48h d'incubation. Chez *Synechocystis* sp., la consommation des réserves est beaucoup plus rapide avec 64 à 75 % après seulement 24 heures d'incubation. Quels que soient l'espèce en présence et le milieu de culture

utilisé, les réserves cellulaires en azote sont toujours épuisées beaucoup plus rapidement que celles en phosphore.

En 24 heures de croissance sur milieu carencé, *Synechocystis* sp. consomme à peu près deux fois plus de réserves que *M. aeruginosa*. Pour l'azote, le rapport Q_m/Q_0 varie de 2.38 chez *M. aeruginosa* à 3.89 chez *Synechocystis* sp.. Pour le phosphore, au contraire, le rapport Q_m/Q_0 est plus faible chez *Synechocystis* sp. (9.53) contre 12.76 chez *M. aeruginosa*. Ces données montrent que les deux cyanobactéries présentent des stocks internes utilisables plus élevés en phosphore qu'en azote dont les réserves cellulaires utilisables sont 5 fois moins élevées chez *M. aeruginosa* et 2.5 fois chez *Synechocystis* sp. par rapport au phosphore. L'évolution des teneurs cellulaires en chlorophylle *a* dans les cultures carencées montre que la déficience en

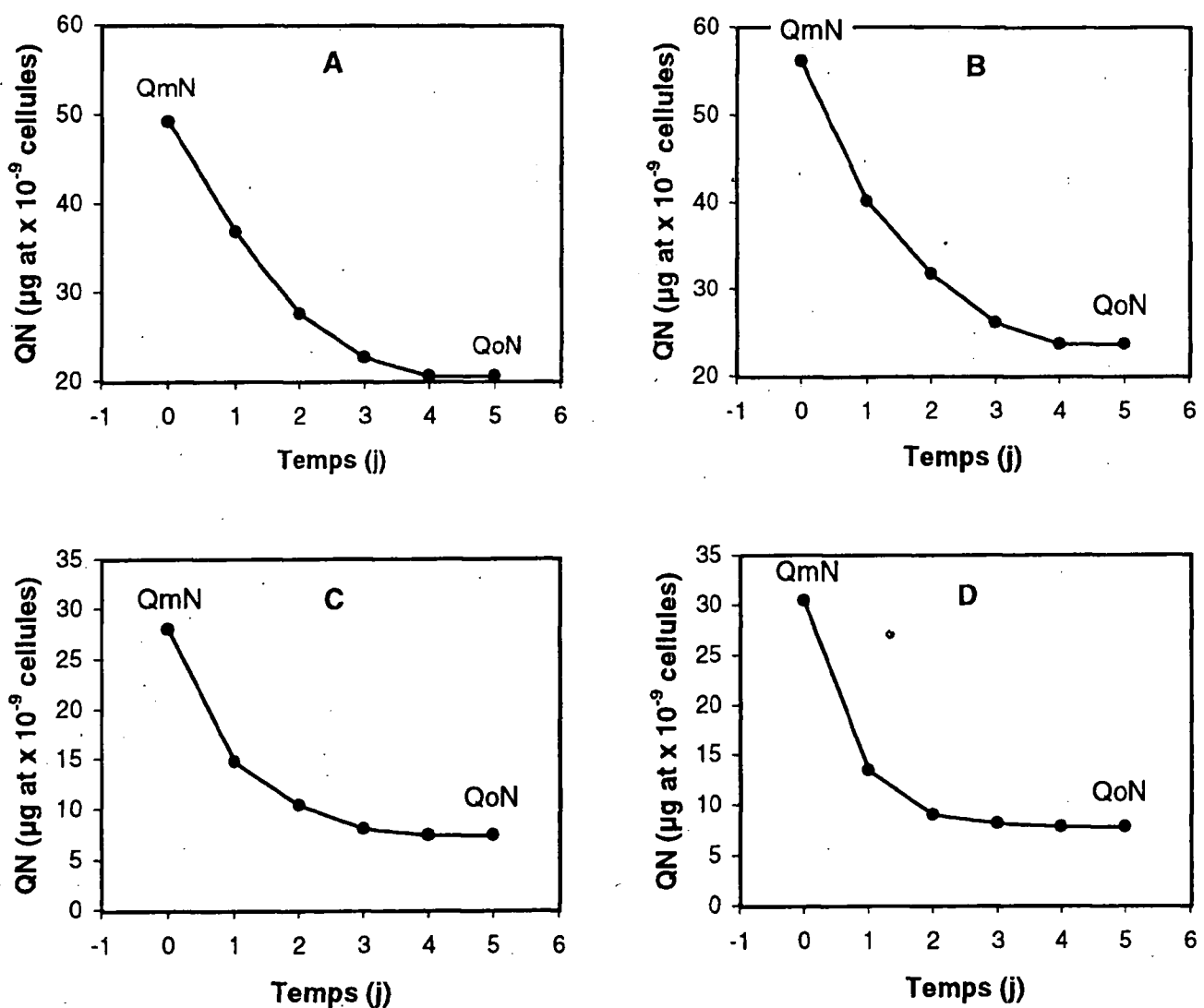


Fig. 3. Variation du quota en azote (QN) de *M. aeruginosa* au cours de la carence en culture sur BG 13 (A) et sur l'eau du lac (B) et de *Synechocystis* en culture sur BG 13 (C) et sur l'eau usée (D).

Fig. 3. Variation of nitrogen quota in the course of the deficiency of *M. aeruginosa* cultured in BG 13 (A) and lake water (B) and *Synechocystis* cultured in BG 13 (C) and wastewater (D).

azote affecte plus sévèrement les teneurs en pigments qui deviennent très basses (Fig. 5). Cette réduction dépasse 70 % des teneurs initiales aussi bien pour *M. aeruginosa* que pour *Synechocystis*. La carence en phosphore provoque une baisse moins importante des teneurs en pigments de l'ordre de 40 à 52%.

4. Discussion

Nombreux sont les travaux de recherche consacrés à la limitation de la croissance algale par les nutriments. Le phosphore, l'azote et la silice, sont considérés comme les nutriments essentiels qui déterminent la croissance algale (Reynolds 1984, Conley et al. 1988, Sterner & Hessen 1994). Un élément est qualifié de nutriment limitant si son ajout à une culture d'algue carencée provoque une stimulation marquée de la croissance. Nos expérimentations démontrent clairement que

l'ajout du nutriment faisant défaut permet à la culture d'algue de reprendre sa croissance qui se maintient jusqu'à ce que la concentration du dit élément devienne limitante dans le milieu (Figs 1, 2). Cette reprise prouve également que *M. aeruginosa* et *Synechocystis* sp. conservent leur potentialité de croissance après un jeûne relativement prolongé, grâce à leurs réserves cellulaires accumulées.

Le tableau 4 regroupe les données de la littérature relatives au stockage intracellulaire de l'azote et du phosphore par plusieurs espèces d'algues marines et dulcicoles. Seules les données exprimées en unités comparables ont été retenues.

Les résultats obtenus dans cette étude et mentionnés également dans le tableau 4 sont très reproductibles et vont dans le même sens que ceux rapportés par Dauta (1982), Boumnich (1992), Belkoura (1994) pour

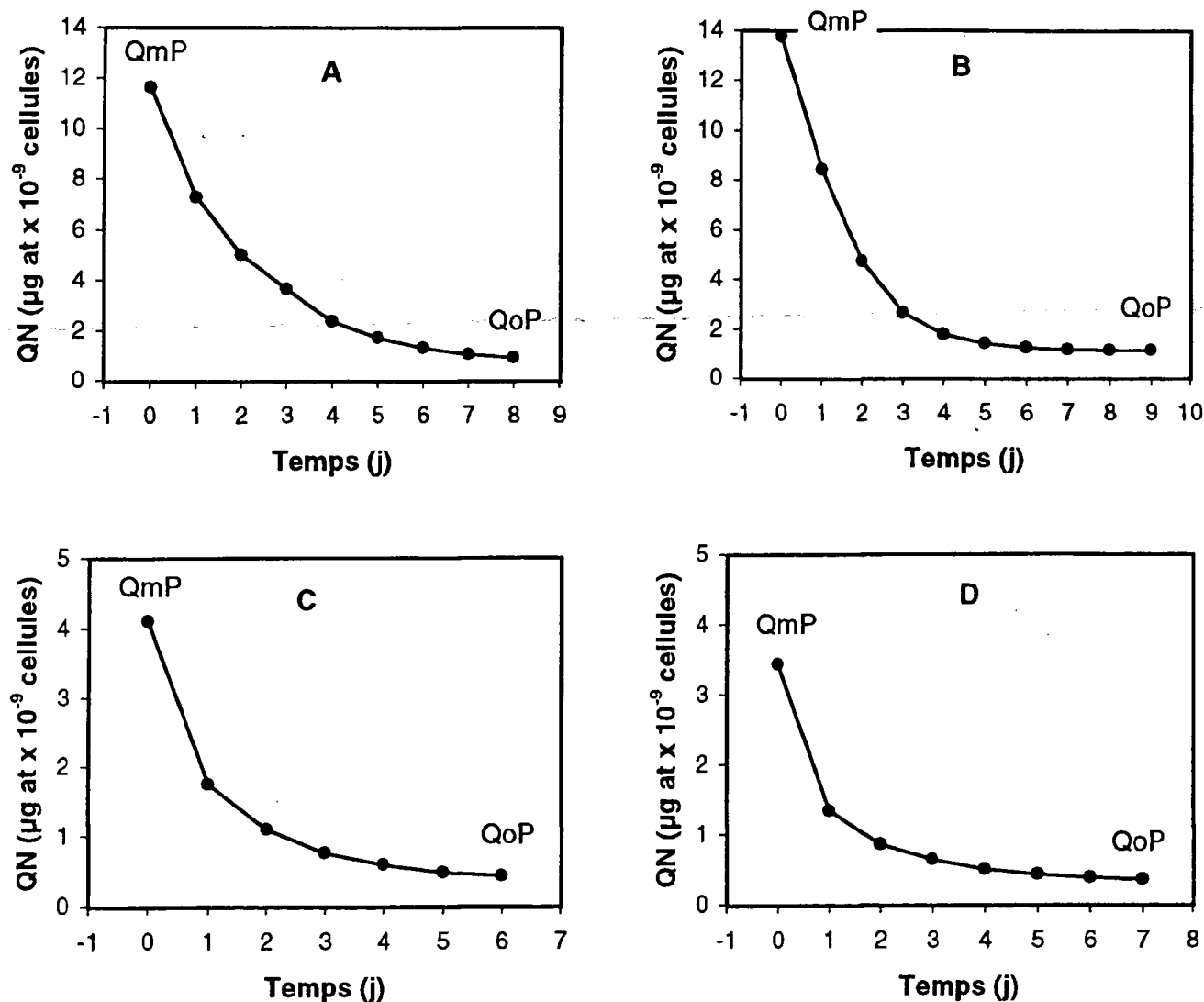


Fig. 4. Variation du quota en phosphore (QP) de *M. aeruginosa* au cours de la carence en culture sur BG 13 (A) et sur l'eau du lac (B) et de *Synechocystis* en culture sur BG 13 (C) et sur l'eau usée (D).

Fig. 4. Variation of phosphorus quota in the course of the deficiency of *M. aeruginosa* cultured in BG 13 (A) and lake water (B) and *Synechocystis* cultured in BG 13 (C) and wastewater (D).

d'autres algues. *M. aeruginosa* et *Synechocystis* sp. sont capables de stocker l'azote et le phosphore lorsqu'ils sont disponibles dans le milieu et peuvent se développer au dépens de ce stock en cas de carence. Cette situation a été rapportée par Pearl (1988) qui a montré que les cyanobactéries peuvent survivre et maintenir leur croissance même lorsque le phosphore extracellulaire devient déficient. Cette caractéristique peut favoriser, au dépens d'autres algues, la formation par les cyanobactéries de fleurs d'eau persistantes même en présence de faibles concentrations en nutriments. Une forte carence en azote semble affecter plus sévèrement le métabolisme cellulaire de *M. aeruginosa* et de *Synechocystis* sp. que celle en phosphore. Elle se traduit par une forte réduction des teneurs en chlorophylle a et un arrêt de la croissance au bout de quelques jours seulement. *M. aeruginosa* et *Synechocystis* utilisent beaucoup plus de phosphore que d'azo-

te et leurs quotas minimums en phosphore sont nettement inférieurs à ceux en azote, ce qui est en accord avec les rapports N/P de la matière vivante. Si on compare les deux espèces de cyanobactéries, *M. aeruginosa* semble stocker plus de phosphore (Q_m/Q_o plus élevé) et moins d'azote (Q_m/Q_o plus faible) par rapport à *Synechocystis* sp. Le quota cellulaire interne (Q) de chaque espèce est plus variable pour le phosphore (de 0.35 à 13.76 $\mu\text{g at P} \cdot 10^{-9}$ cellules) que pour l'azote (de 7.43 à 56.14 $\mu\text{g at N} \cdot 10^{-9}$ cellules) et semble être presque invariant pour le carbone (Capblancq 1990). Le taux de croissance est lié au rapport C/N sous des conditions limitantes en azote et au rapport C/P dans le cas où le phosphore est limitant. Chez *Scenedesmus*, la transition de la limitation par le phosphore à celle par l'azote correspond généralement à un rapport atomique N/P proche de 30 (Capblancq 1990). Ce rapport, qui correspond à celui des quotas cellulaires mi-

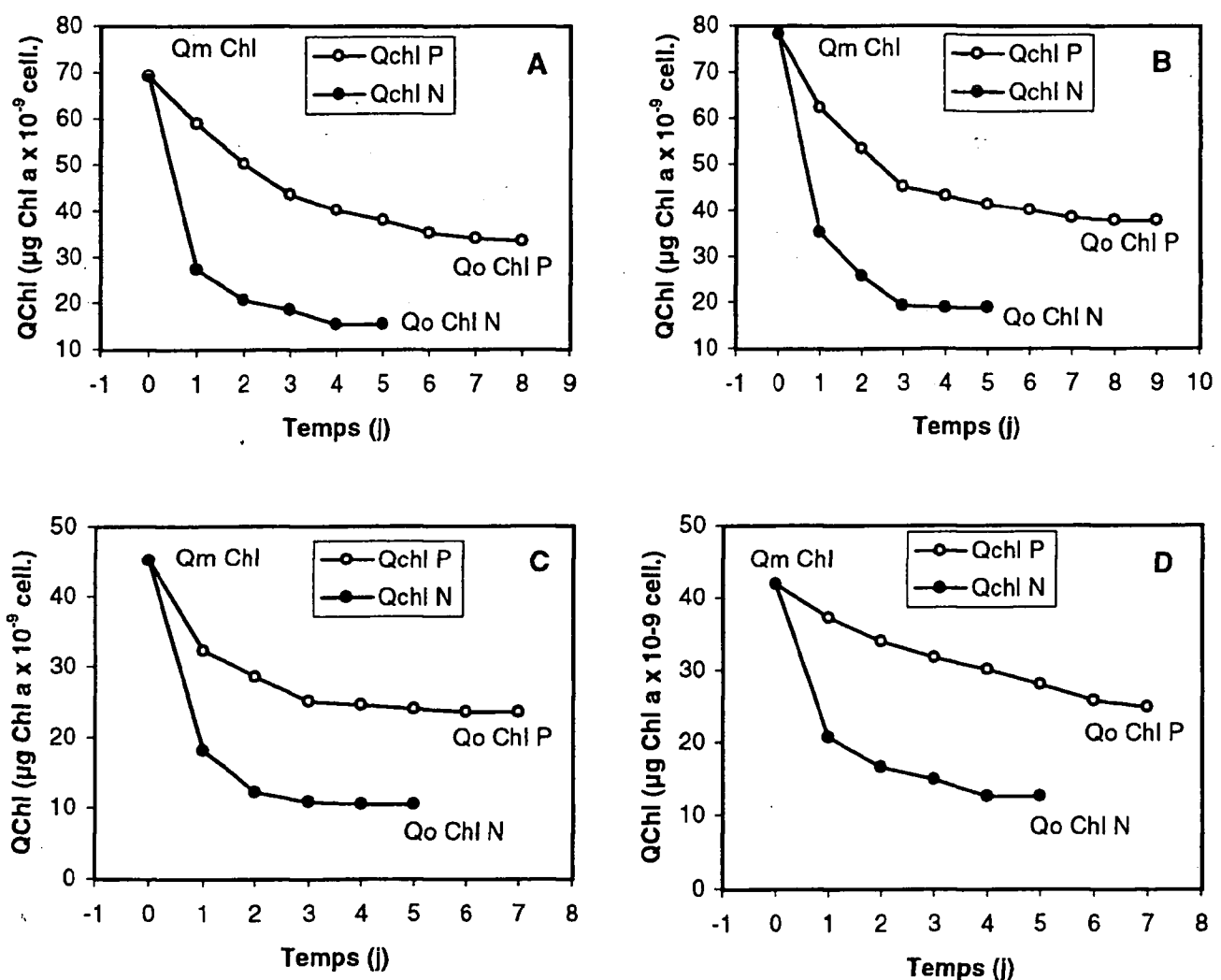


Fig. 5. Variation du quota en chlorophylle a (QChl) au cours de la carence en azote ou en phosphore de *M. aeruginosa* en culture sur BG 13 (A) et sur l'eau du lac (B) et de *Synechocystis* en culture sur BG 13 (C) et sur l'eau usée (D).

Fig. 5. Variation of Chlorophyll quota (QChl) in the course of nitrogen and phosphorus deficiency of *M. aeruginosa* cultured in BG 13 (A) and lake water (B) and *Synechocystis* cultured in BG 13 (C) and wastewater (D).

Tableau 4. Données de la littérature relatives au stockage intracellulaire de l'azote et du phosphore pour quelques espèces de microalgues.
Table 4. Literature data relative to intracellular nitrogen and phosphorus storage for some microalgae species.

Espèces d'algues	Azote μ at. 10^9 cell.			Phosphore			Réf.
	Qo	Qm	Qm/Qo	Qo	Qm	Qm/Qo	
Cyanophycées							
<u>Anabaena cylindrica</u>	57	132	2.31	0.54	3.18	5.90	15
<u>Anabaena macrospora</u>	-	-	-	4.96	25.04	5.05	17
<u>Anabaena sp.</u>	100	-	-	-	-	-	1
<u>Microcystis aeruginosa</u>	189	356	1.88	4.64	31.32	6.75	17
<u>Microcystis aeruginosa</u> *	20.5	49.17	2.40	0.91	11.61	12.76	
<u>Microcystis aeruginosa</u> **	23.58	56.14	2.38	1.12	13.76	12.28	
<u>Synechocystis sp.</u> *	7.43	27.99	3.77	0.43	4.10	9.53	
<u>Synechocystis sp.</u> **	7.81	30.43	3.89	0.35	3.44	9.83	
<u>Synechocystis minima</u>	175	385	2.20	0.35	4.6	12.75	16
Cryptophycées							
<u>Cryptomonas ovata</u>	360	2200	6.11	3.50	330	94.29	12
Haptophycées							
<u>Isochrysis galbana</u>	29-33	-	-	-	-	-	5
<u>Isochrysis galbana</u>	30	-	-	-	-	-	9
<u>Isochrysis galbana</u>	20	-	-	-	-	-	10
Bacillariophycées							
<u>Asterionella formosa</u>	600	-	-	30	-	-	1
<u>Asterionella formosa</u>	-	-	-	2	-	-	3
<u>Asterionella formosa</u>	-	-	-	1.5-3	-	-	8
<u>Asterionella japonica</u>	-	-	-	1.50	-	-	8
<u>Cyclotella nana</u>	-	-	-	0.90	-	-	6
<u>Fragilaria bidens</u>	161	531	3,3	12	67.8	5.55	15
<u>Fragilaria crotonensis</u>	88	183	2.08	2.85	22.04	7.73	17
Chlorophycées							
<u>Ankistrodesmus falcatus</u>	83	315	3,80	0.26	4.24	16.31	16
<u>Chlorella pyrenoidosa</u>	-	-	-	3	-	-	8
<u>Chlorella sorokiniana</u>	20	68	3.40	0.51	5.19	10.10	18
<u>Chlorella sp.</u>	12	-	-	1.40	-	-	2
<u>Chlorella sp.</u>	-	-	-	3.30	-	-	4
<u>Chlorella sp.</u>	-	-	-	-	1.60	-	7
<u>Chlorella vulgaris</u>	80	230	2.88	0.23	2.98	12.96	16
<u>Coelastrum microporum</u>	81	196	2.43	1.90	11.63	6.12	15
<u>Dictyosphaerium</u>	84	126	1.50	0.87	6.06	6.97	15
<u>Monoraphidium minutum</u>	40	93	2.33	1.73	30.6	17.7	15
<u>Pediastrum boryanum</u>	180	260	1.42	7.56	46.87	6.2	15
<u>Scenedesmus crassus</u>	110	380	3.45	1.20	8	6.67	14
<u>Scenedesmus crassus</u>	120	393	3.28	1.24	8.33	6.72	15
<u>Scenedesmus quadricauda</u>	-	-	-	4.50	-	-	8
<u>Scenedesmus quadricauda</u>	170	378	2.20	7.33	41.41	5.65	15
<u>Scenedesmus sp.</u>	46	-	-	1.70	-	-	11
<u>Selenastrum sp.</u>	-	-	-	1.10	6.50	5.91	13
<u>Staurastrum pingue</u>	176	626	3.57	3.95	24.21	6.13	17

Références: 1- Grim 1939, 2- Ketchum & Redfield 1949, 3- Mackereth 1953, 4- Al Kholy 1956, 5- Caperon 1968, 6- Fuhs 1969, 7- Soeder et al. 1971, 8- Muller 1972, 9- Droop 1973, 10- Greeney et al. 1973, 11- Rhee 1973, 12- Cloern 1976, 13- Brown & Harris 1978, 14- Brunel & Guerri 1980, 15- Dauta 1982, 16- Piquemal 1990, 17- Boumnich 1992, 18- Belkoura 1994.

* BG 13. ** Milieu naturel.

nimums (Q_0N / Q_0P), varie de 17.3 à 22.5 chez *Synechocystis* et *M. aeruginosa*. La plupart des données rapportées dans la littérature situent ce rapport autour de 10 (poids / poids) mais des variations interspécifiques entre 4 et 40 ont été souvent rapportées.

Le rapport Q_m/Q_0 varie généralement entre 6 et 25 pour le phosphore et entre 2 et 3 pour l'azote chez les diatomées et les chlorophycées d'eau douce (Dauta 1982). Les résultats obtenus pour *M. aeruginosa* et *Synechocystis* sont généralement comparables à ceux rapportés dans la littérature (Tableau 4). Toutefois, le rapport (Q_m/Q_0) diffère selon les espèces d'un même groupe d'algues, ce qui témoigne d'une différence interspécifique dans les capacités de stockage des nutriments.

Les quotas en chlorophylle *a* de *M. aeruginosa* et *Synechocystis* sp. ont été également influencés par la privation des nutriments. Cependant, la carence en azote est plus ressentie que celle en phosphore (Fig. 5). Des résultats similaires ont été observés chez *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss (Belkoura 1994), *M. aeruginosa* Kütz., *Coelastrum cambricum* Archer, *Staurastrum pingue* Teill, *Fragilaria crotonensis* Kitton (Boumnic 1992) et *Scenedesmus crassus* Chod, *Coelastrum microporum* Naegeli (Dauta 1982). Les quotas en chlorophylle *a* peuvent être régénérés après l'ajout du nutriment qui fait défaut si les quotas de substance ne sont pas affectés et devenir maximum après 48 à 96 h (Boumnic 1992). Les cellules carencées en azote montrent un excès de produits carbonés ou de polysaccharides (grandes quantités de mucilages), des teneurs élevées en lipides et une diminution des teneurs en pigments (azotés), phycoblines des cyanobactéries et chlorophylle (Capblancq 1990).

5. Conclusion

L'étude des carences en azote et en phosphore réalisée sur *Microcystis aeruginosa* et *Synechocystis* sp. nous a permis de déterminer les capacités de ces espèces à stocker ces éléments nutritifs déterminants pour la croissance des algues en général et des cyanobactéries en particulier. Les deux espèces utilisent beaucoup plus de phosphore que d'azote et ce faible stock interne en azote métabolisable se traduit par une diminution des teneurs en chlorophylle *a*, nettement plus accentuée qu'en cas de carence en phosphore. En milieu naturel déficient en azote (NO_3) et en phosphore (Cas du lac réservoir Lalla Takerkoust en été, par exemple), la croissance des cyanobactéries devrait être plus limitée par l'azote que par le phosphore. Or, la croissance est maintenue malgré cette déficience, suggérant ainsi la possibilité d'utilisation par les cyano-

bactéries d'autres formes d'azote tel que l'azote atmosphérique, l'ammonium et l'urée (Syrett 1981, Takamura et al. 1987, Marsot et al. 1991, Philips et al. 1993).

Les résultats obtenus en culture sur milieu BG 13 restent globalement similaires à ceux obtenus en culture sur milieu naturel et suggèrent un comportement nutritionnel identique de l'algue dans les deux milieux.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier vivement les professeurs Pierre Marsot (Québec) et René Le Cohu (Toulouse) pour avoir relu et critiqué la première version du manuscrit.

Travaux cités

- AFNOR 1986. — Eaux. Méthodes d'essai. 3^e édition 624 p.
- Al Kholy A. A. 1956. — On the assimilation of phosphorus in *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiologia Plantarum*, 9 : 137-510.
- Belkoura M. 1994. — *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss : Ecophysiologie, modélisation de cultures et perspectives de valorisation de la biomasse algale. Thèse d'état, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences, Marrakech : 154 p.
- Boumnic L. 1992. — Etude expérimentale des paramètres écophysiologiques des principales espèces phytoplanctoniques du lac d'Aydat (Puy-de-dôme, France). Essai de modélisation des cultures d'algues. Thèse Doctorat, Université Blaise Pascal, Clermont : 172 p.
- Brown E. J. & Harris R. F. 1978. — Kinetics of algal transient phosphate uptake and then cell quota concept. *Limnol. Oceanogr.*, 23 (1) : 35-40.
- Brunel L. & Guerri M. M. 1980. — Cinétiques d'assimilation et de croissance de *Scenedesmus crassus*. Etude expérimentale et modélisation. Thèse Doctorat 3^{ème} cycle, Toulouse III : 226 p.
- Capblancq J. 1990. — Nutrient dynamics and pelagic food web interactions in oligotrophic and eutrophic environments : an overview. In : Bonin D. J. & Golterman H. L. (Eds.) : *Fluxes between trophic levels and through the water - sediment interface - Hydrobiologia*, 207 : 1-14.
- Caperon J. 1968. — Population growth in micro-organisms limited by food supply. *Ecology*, 48 : 715-722.
- Cherifi O. 1992. — Evolution et dynamique du phytoplancton en relation avec certains paramètres biotiques et abiotiques au niveau de la retenue Lalla Takerkoust. Thèse 3^{ème} cycle, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech : 155 p.
- Cloern J. E. 1976. — Population dynamics of *Cryptomonas ovata*. A laboratory field and computer simulation study. P. H. D. Thesis, Washington State University : 102 p.
- Conley D. J., Quigley M. A. & Schelske C. L. 1988. — Silica and phosphorus flux from sediments : importance of internal recycling in lake Michigan. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45 : 1030-1035.
- Dauta A. 1982. — Conditions de développement du phytoplancton : Etude comparative du comportement de 8 espèces en cultures. II- Rôle des nutriments : Assimilation et stockage intracellulaire. *Annls. Limnol.*, 18 (3) : 263-292.
- Dauta A., Brunel L. & Guerri M. M. 1982. — Détermination expérimentale des paramètres liés à l'assimilation de l'azote et du phosphore par *Scenedesmus crassus*. *Annls. Limnol.*, 18 (1) : 33-40.

- Droop M. R. 1973. — Some thoughts on nutrient limitation in algae. *J. Phycol.*, 9 : 264-272.
- Ferris M. J. & Hirsch C. F. 1991. — Methods for isolation and cultivation of cyanobacteria. *Appl. & Environm. Microbiol.*, 57 (5) : 1448-1452.
- Fuhs G. W. 1969. — Phosphorus content and rate of growth in the diatoms. *Cyclotella nana* and *Thalassiosira fluviatilis*. *J. Phycol.*, 5 : 312-321.
- Greeney W. J., Bella D. A. & Curl H. C. 1973. — A mathematical model of the nutrient dynamics of phytoplankton in a nitrate-limited environmen. *Biotechnol. Bioeng.*, 15 (2) : 331-358.
- Grim J. 1939. — Beobachtung am phytoplankton des Bodensees (Obersees) sowie deren rechnerische Auswertung. *Int. Rev. gesamt. Hydrobiol.*, 39 : 193-315.
- Ketchum B. H. & Redfield A. C. 1949. — Some physical and chemical characteristics of algae grown in mass culture. Conference on solar energy : the scientific basis, Tucson, Arizona.
- Mackereth F. J. 1953. — Phosphorus utilisation by *Asterionella formosa*. *J. Exp. Bot.*, 4 : 296-313.
- Marker A.F.H., Nash E.A. & Riemann B., 1980. — The measurements of photosynthetic pigments in freshwater and standardisation of methods : conclusions and considerations. *Ergebn. Limnol.*, 14 : 91-106.
- Marsot P., Cembella A. & Houle L. 1991. — Growth kinetics and nitrogen nutrition of the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* in continuous dialysis culture. *J. Appl. Phycol.*, 3 : 1-10.
- Muller H. V. 1972. — Wachstum und phosphat-bedarf von *Nitzschia actinastroides* (Lemn.) V. Goor. In statischer und homokontinuierlicher kultur unter phosphat-limitierung. *Arch. Hydrobiol.*, Suppl. 38 : 399-484.
- Oudra B. 1990. — Bassins de stabilisation anaerobie et aerobie facultatif pour le traitement des eaux usées à Marrakech. Dynamique du phytoplancton (Microplancton et picoplancton) et évaluation de la biomasse primaire. Thèse de 3^e cycle. Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech : 144 p.
- Pearl H. W. 1988. — Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (cyanobacteria). In : Craig D. S. - *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge : 442 p.
- Phlips E. J., Hansen P. & Velardi T. 1993. — Enhancement of Napier grass growth through introduction of nitrogen fixing cyanobacteria. *Trop. Agric.(Trinidad)*, 70 (3) : 271-273.
- Piquemal F., 1990. — Contribution à l'étude écophysiological de quelques espèces d'algues en culture. Thèse Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse III : 137 p.
- Rhee G. Y. 1973. — A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and polyphosphate in *Scenedesmus* sp. *J. Phycol.*, 9 : 495-506.
- Reynolds C. S. 1984. — *The Ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge : 384 p.
- Rodier J. 1984. — *L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer*. Dunod, Ed. Paris : 1365 p.
- Soeder C. J., Muller H., Payer H. D. & Schulle E. 1971. — Mineral nutrition of phytoplanktonic algae, some considerations, some experiments. *Mitt. Internat. Verein. Limnol.*, 19 : 39-58.
- Sournia A. 1978. — *Phytoplankton manual*. Unesco (Ed.), Paris : 337 p.
- Stern R. W. & Hessen D. O., 1994. — Algal nutrient limitation and the nutrition of aquatic herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 25 : 1-29.
- Syrett P. J. 1981. — Nitrogen metabolism of microalgae. In : Platt T. (Ed.) : *Physiological bases of Phytoplankton Ecology.*, *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210 : 182-210.
- Takamura N., Iwakuma T. & Yasuno M. 1987. — Uptake of ¹³C and ¹⁵N (Ammonium, Nitrate and Urea) by *Microcystis* in lake Kasumigaura. *J. Plankton Research*, 9 (1) : 151-165.