

- Biologie des microalgues
- Systèmes de culture
- Applications

Cours de Biotechnologie des microalgues

Master Biotechnologie Végétale 2016-2017

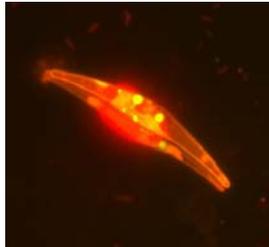
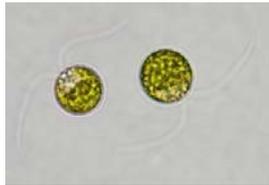
Pr. Imane Wahby

*Laboratoire de Botanique, Mycologie & Environnement
Département de Biologie*



Définitions

La biotechnologie ?



- Fusion entre la biologie et la technologie.
- Ensemble de méthodes et procédés qui utilisent des agents biologiques pour produire des biens ou des services.

Santé

Agriculture

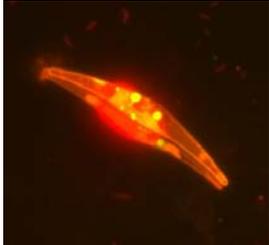
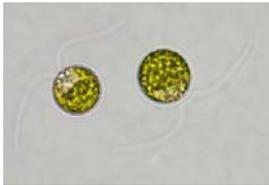
Agroalimentaire

Environnement

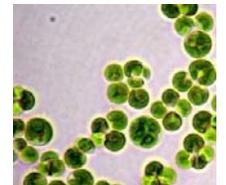
Energie

Définitions

Les algues?



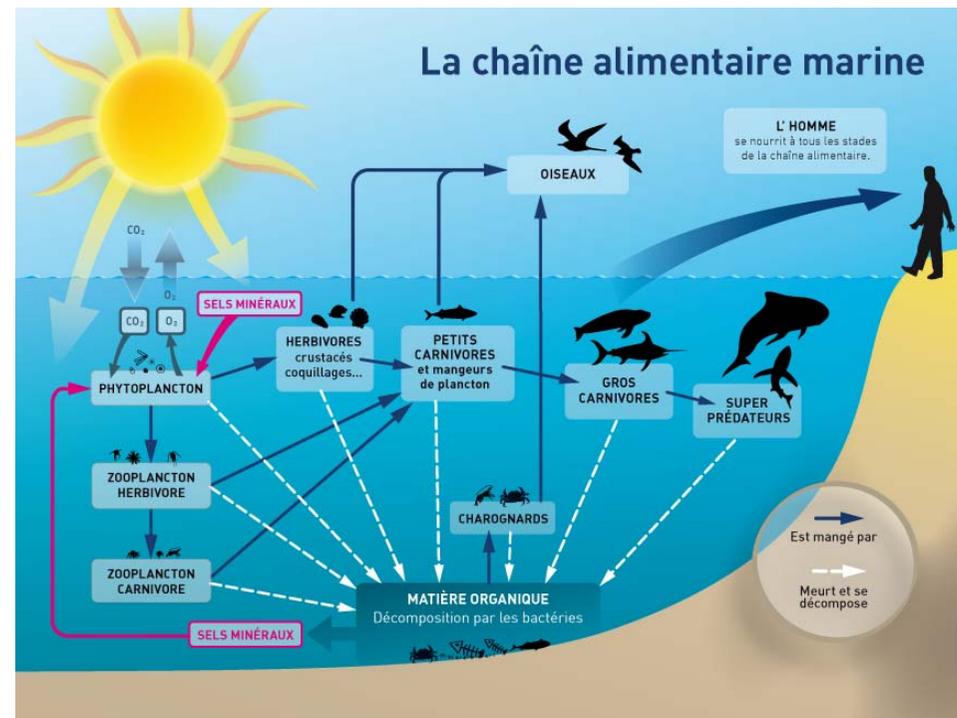
- Ensemble d'organismes préférentiellement vivant dans les milieux aquatiques.
 - Rassemblent:
 - * Les macroalgues benthiques (fixées sur un support)
- &
- * Des organismes microscopiques pélagiques (en eau libre, du fond à la surface): les microalgues ou **phytoplancton**.



Définitions

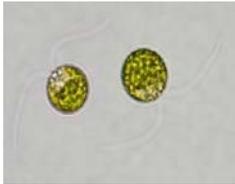
Phytoplancton

- *phyton* = plante : plancton végétal
- Ensemble d'organismes végétaux vivant en suspension dans l'eau
- Premier maillon de la chaîne alimentaire.



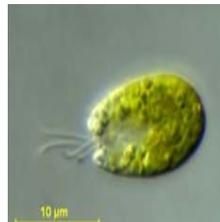
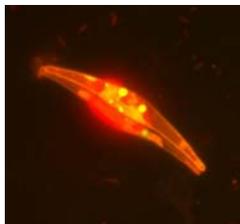
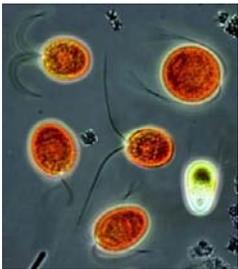
Définitions

Les microalgues?



Algues microscopiques

- ↳ *algae* = forment un grand groupe de végétaux
- Organismes unicellulaires indifférenciés
- Photosynthétiques dans la plupart des cas
- Plusieurs millions d'espèces



Classification des microalgues

Division-Embranchement- Phylumphyta
Classephyceae
Sous classephycidae
Familleaceae
Ordreales
Genre, espèce	

Chlorophyta
Chlorophyceae
Dunaliellaceae
Volvocales
Dunaliella
Dunaliella salina

- Environ 6 000 espèces de microalgues sont identifiées dans le milieu marin,
- Plus de 14 000 en eaux douces



Classification des microalgues

En fonction de la couleur (jusqu'à 1970):

- ✓ Algues **rouges** Rhodophyta
- ✓ Algues **brun doré** Chromophyta
- ✓ Algues **vertes** Chlorophyta
- ✓ Algues **bleues** Cyanophyta (Procaryotes)



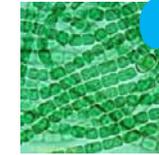
C. reinhardtii



R. salina



Mallomonas sp



Anabaena sp

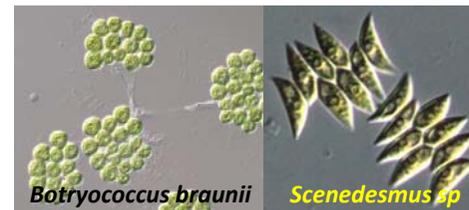
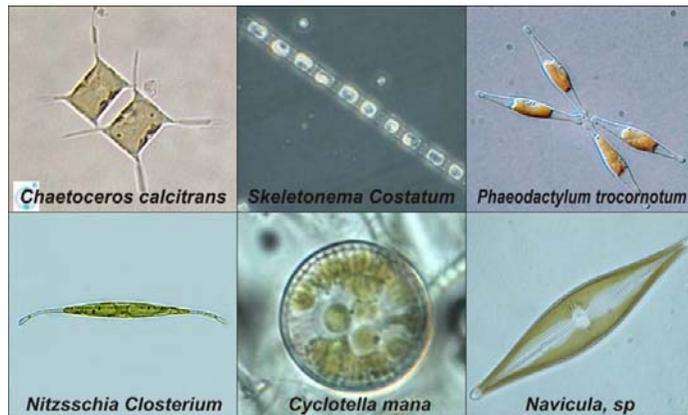
En fonction de:

- ✓ Cytologie,
- ✓ Caractères morphologiques,
- ✓ Caractères biochimiques (Pigments, molécules de réserve).

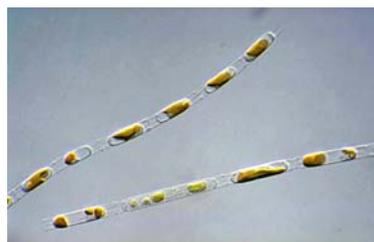
Embranchement, règne	Type de microalgues	Nom commun	Nombre d'espèces	Représentants	Pigments	Réserves	Habitat
Chlorophytes	Eucaryote	Algues vertes	7500	<i>Chlorella</i> , <i>Scenedesmus</i>	chloro a;b,xanthophylles, Carotènes	sucres, amidon, fructane	Eau douce, saumâtre, salée
Chrysophytes	Eucaryote	Algues brun-jaune, vert-jaune et diatomées	6000	<i>dinobryon</i> , <i>Surtrella</i>	chloro a;C1;C2, xanthophylles, carotènes, fucoxanthine	inarine, huiles	Eau douce, saumâtre, salée
Pyrrhophytes	Eucaryote	Dinoflagellés, dinophytes	1100	<i>Gymnodinium</i> , <i>Ceratium</i> , <i>Alexandrium</i>	Chloro a;C1;C2, carotènes, fucoxanthine	amidon,glycanes ,huiles	Eau douce, saumâtre, salée
Cyanophytes	Procaryote	Cyanobactéries, algues bleues	inconnu	<i>Anabaena</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Microcystis</i>	chloro a, allophycocyanines, phycoérythrocyanine	inconnu	Eau douce, salée

Biologie des microalgues

✓ Peuvent être libres ou en colonie



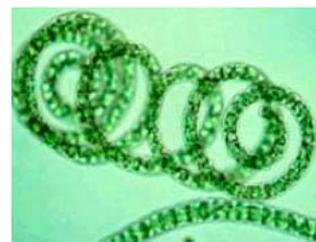
✓ Taille (<math><1\mu\text{-}500\ \mu\text{m}</math>)



Skeletonema sp
10 μm



Dunaliella salina
10 μm x 8 μm



Arthrospira platensis
250-500 μm x 6-11 μm



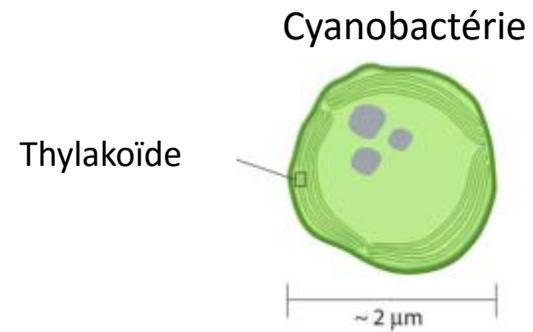
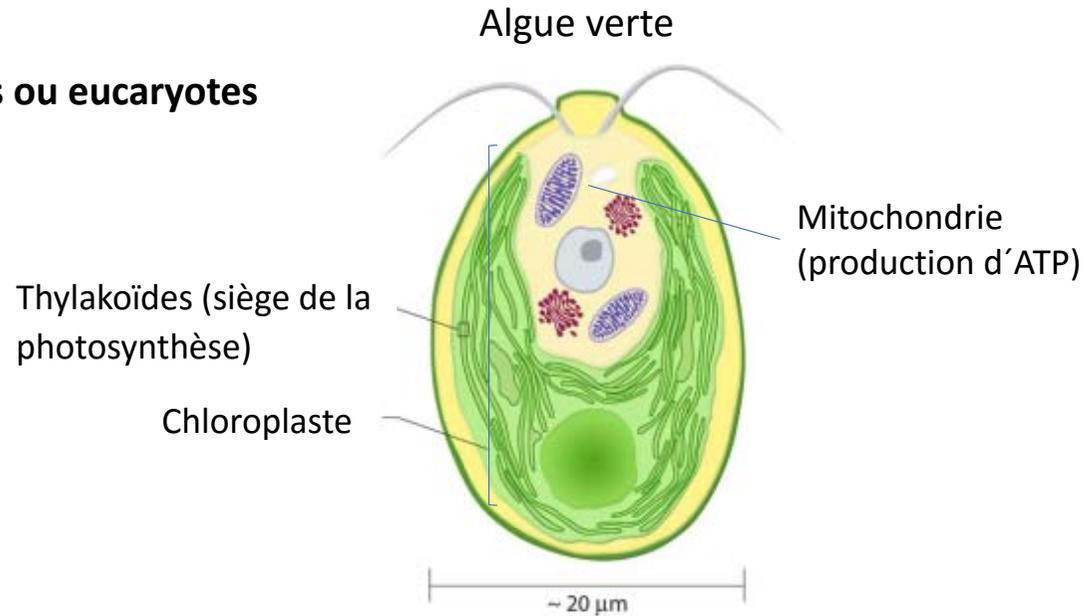
Chlorella vulgaris
5-10 μm



Phaeodactylum tricornutum
18-26 μm x 2-3 μm

Biologie des microalgues

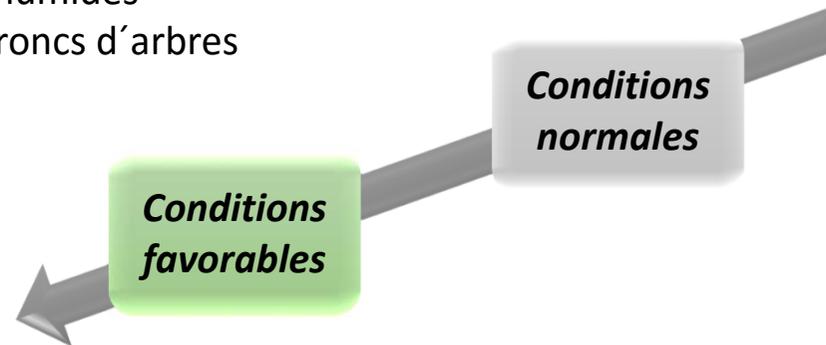
Procaryotes ou eucaryotes



Biologie des microalgues

Milieux de vie

- ✓ Milieux aquatiques (eau douce, saline ou saumâtre)
- ✓ Milieux terrestres humides
- ✓ Roches humides, troncs d'arbres



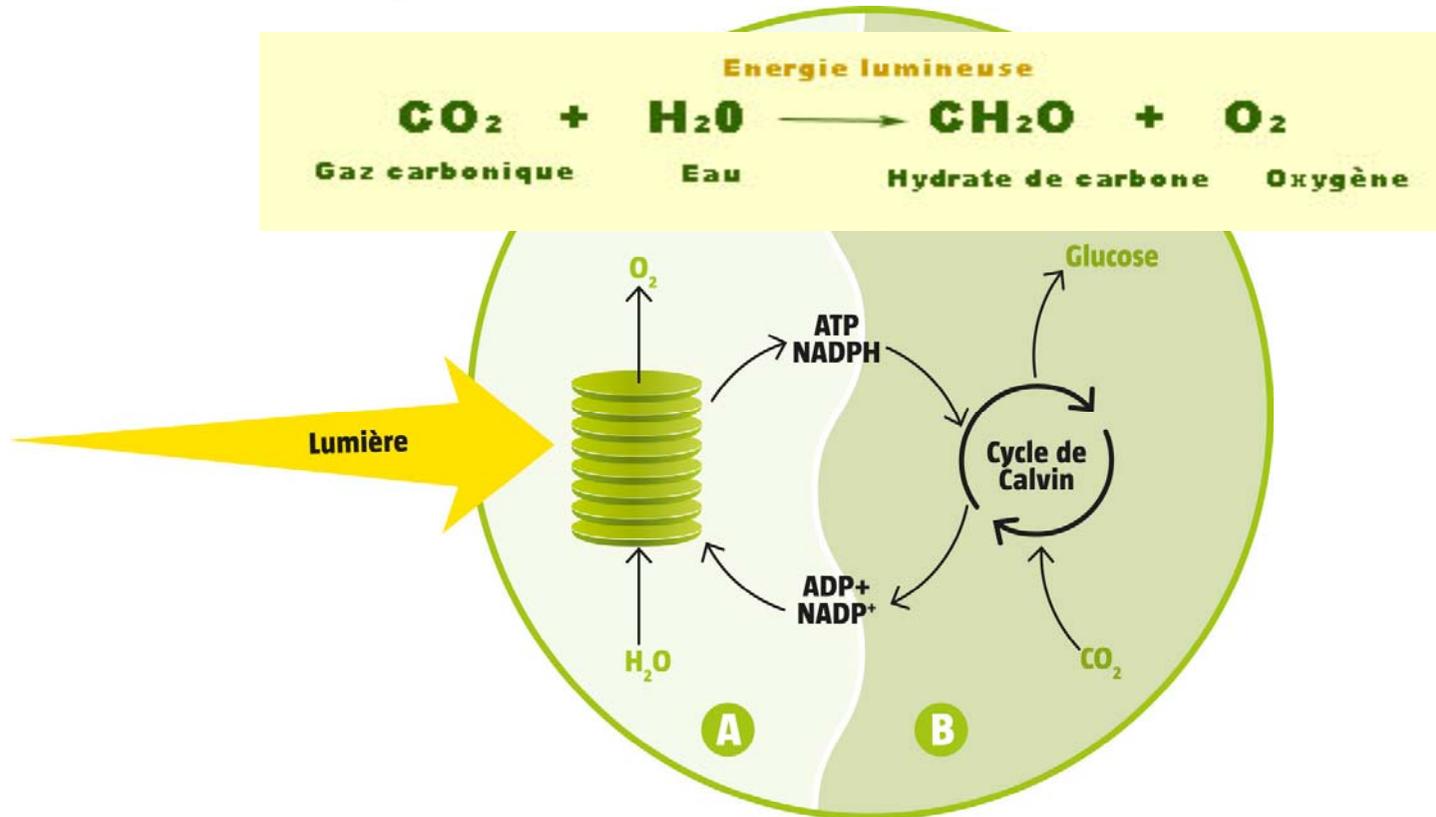
Blooms=prolifération rapide & massive de microalgues suite à des conditions physiques, météorologiques, hydrologiques et environnementales favorables.



Biologie des microalgues

Les microalgues photosynthétiques

Transformation de l'énergie minérale en matière organique = **autotrophie**



Exploitation des microalgues

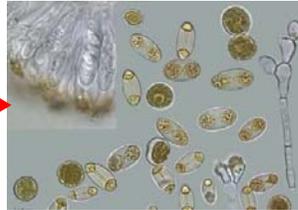




Obtenir des cultures monospécifiques



Milieu naturel: échantillon d'eau (qq ml)



Techniques d'isolement



Culture monoalgale

- **Sur milieu liquide** (microalgues de grande taille ou en chaîne)
- **Sur milieu solide**
- **Isolement par dilution**



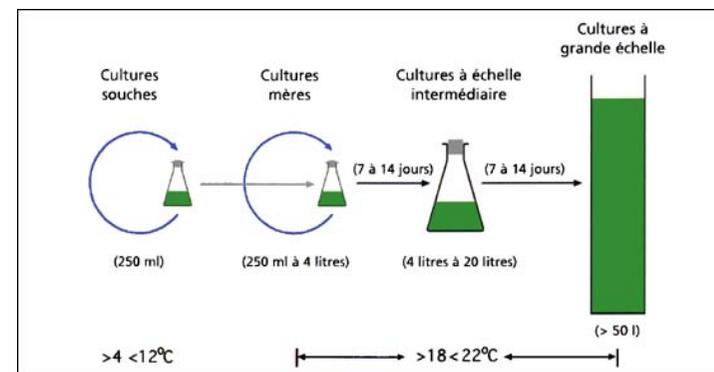
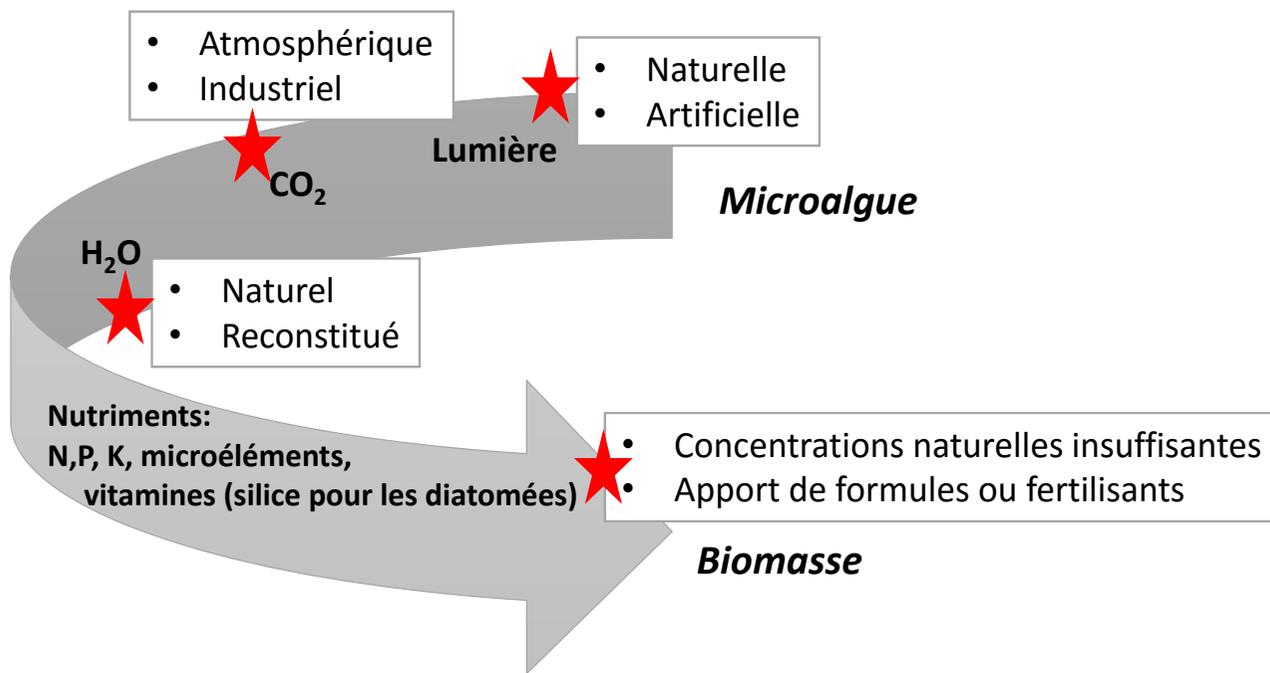
Obtenir des cultures monospécifiques



Culture monoalgale

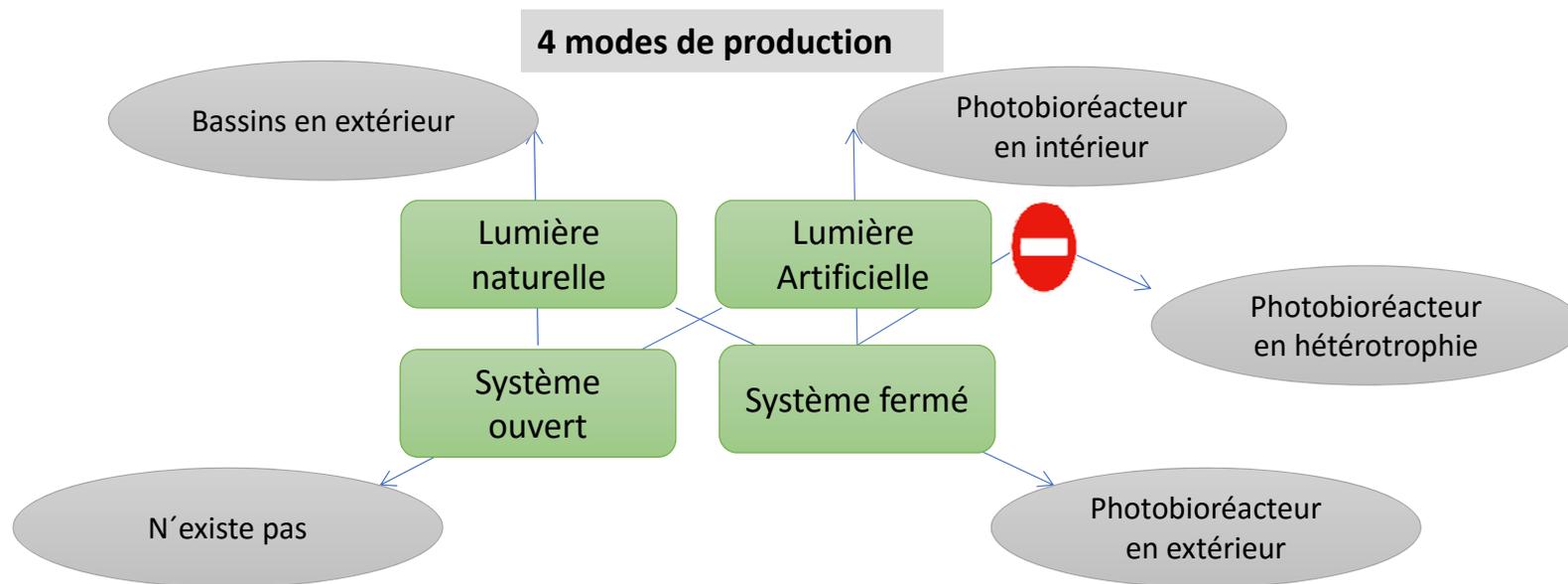


Inoculum (cultures mères)





Les systèmes de production

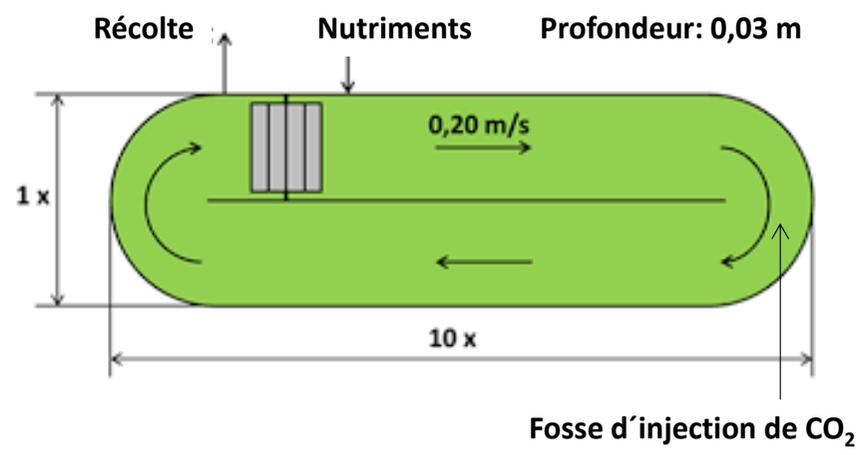




Les systèmes ouverts

- Bassins peu profonds (0.3 -0.5 m)
- Etends naturels, systèmes raceway, etc.
- Circulation du milieu à l'aide d'une agitation mécanique
- Lumière naturelle: exclusif pour **l'autotrophie**
- Les plus utilisés





Isolement

Culture

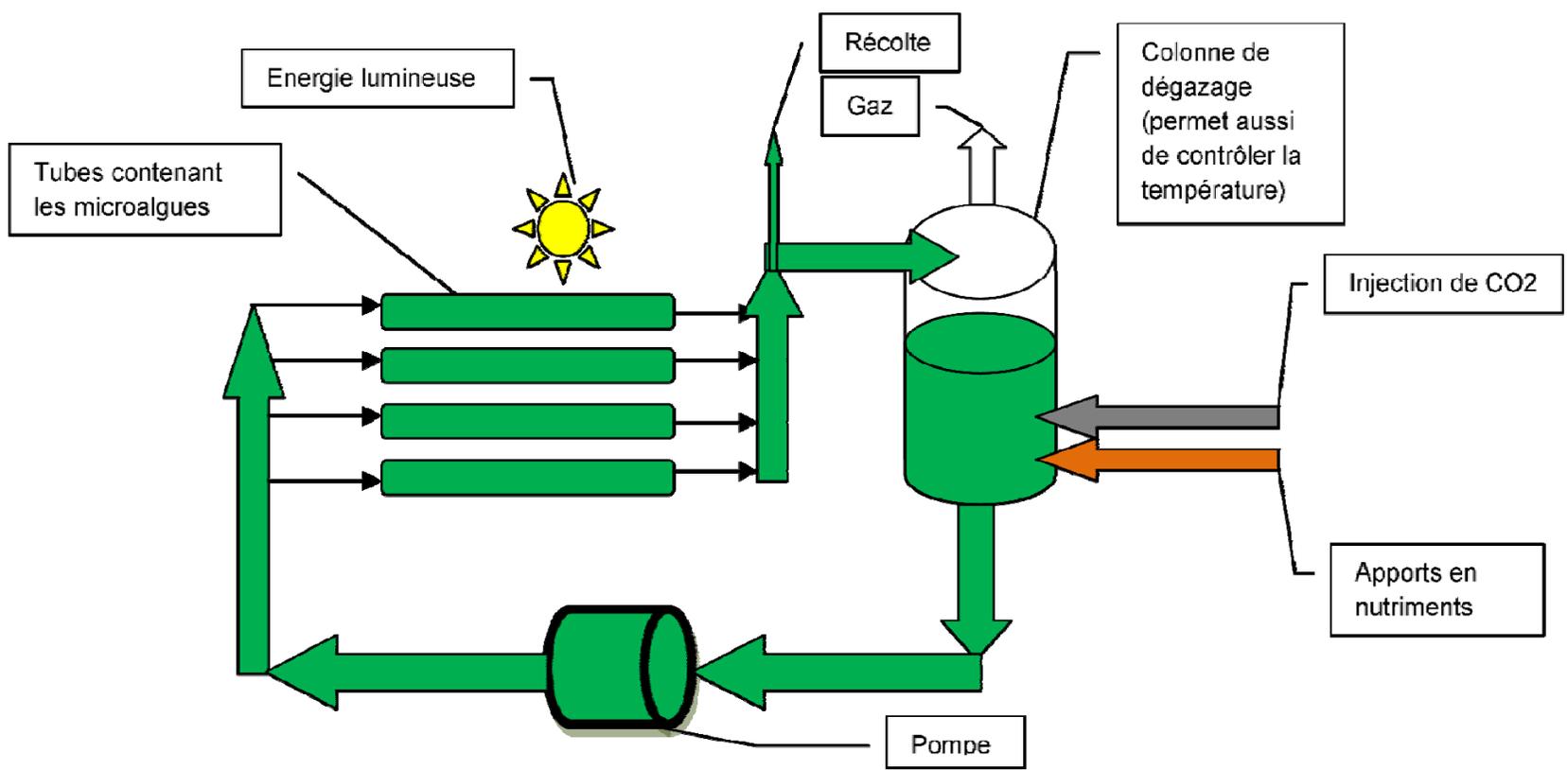
Traitement

Produit

Les systèmes fermés

- Photobioréacteurs
- Contrôle rigoureux des paramètres de culture (lumière, CO₂, nutriments)
- Circulation du milieu de culture généralement par mouvement d'air comprimé
- Lumière naturelle ou artificielle





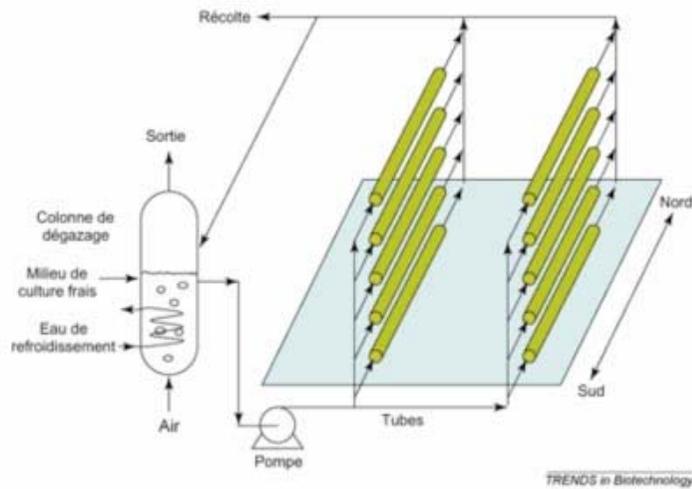
Les PBR plats

- Analogie aux panneau photovoltaïques
- Agencement de deux panneaux parallèles de forme rectangulaire entre lesquels circule une mince couche de culture d'une épaisseur de quelques centimètres (1 à 10 cm),
- Orientables, avec une inclinaison ajustable,
- Ratio surface sur volume important,
- Bonne qualité de transfert gazeux = fort rendement photosynthétique



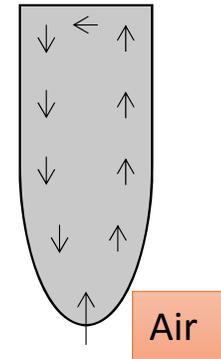
Les PBR tubulaires

- Structure en tubes transparents (verre ou matière plastique) dressés en réseau,
- Organisation horizontale, verticale, inclinée, conique et serpentine,
- Circulation en boucle: passage alternativement dans la tubulure transparente (captage de lumière) et dans une tour de dégazage (désoxygénation) pour éviter une inhibition de la photosynthèse.



Les PBR cylindriques

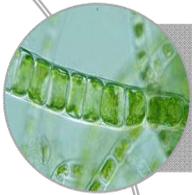
- Colonnes à bulles avec: zone ascendante d'aération et zone descendante sur le principe **airlift**.
- Placés verticalement ou inclinés, taille moyenne: 20 cm de largeur et 2 m de hauteur avec une injection de gaz en bas de colonne.
- Faible ratio surface sur volume: faible surface photosynthétique (un mixage efficace est nécessaire pour optimiser les cycles entre zones éclairées et zones d'ombres)
- Avantage: Concept simple et transferts thermiques et massiques satisfaisants.



Quel système choisir, ouvert ou fermé?

	Avantages	Inconvénients
Systemes ouverts	<ul style="list-style-type: none">• Faible coût d'installation• Entretien facile	<ul style="list-style-type: none">• Risque de contamination élevé• Utilisé en conditions extremophiles• Productivité faible• Évaporation
Systemes fermés	<ul style="list-style-type: none">• Contrôle des paramètres de culture• Productivité élevée	<ul style="list-style-type: none">• Investissement élevé• Entretien difficile (stérilisation, nettoyage, etc.)• Photo-inhibition

Quel système choisir, ouvert ou fermé?



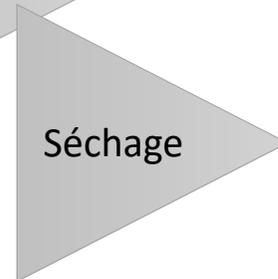
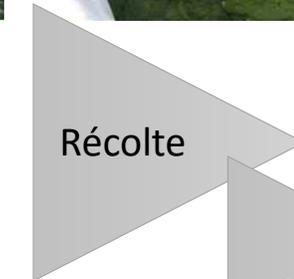
En fonction de la souche (propriétés biologiques)



En fonction de l'application

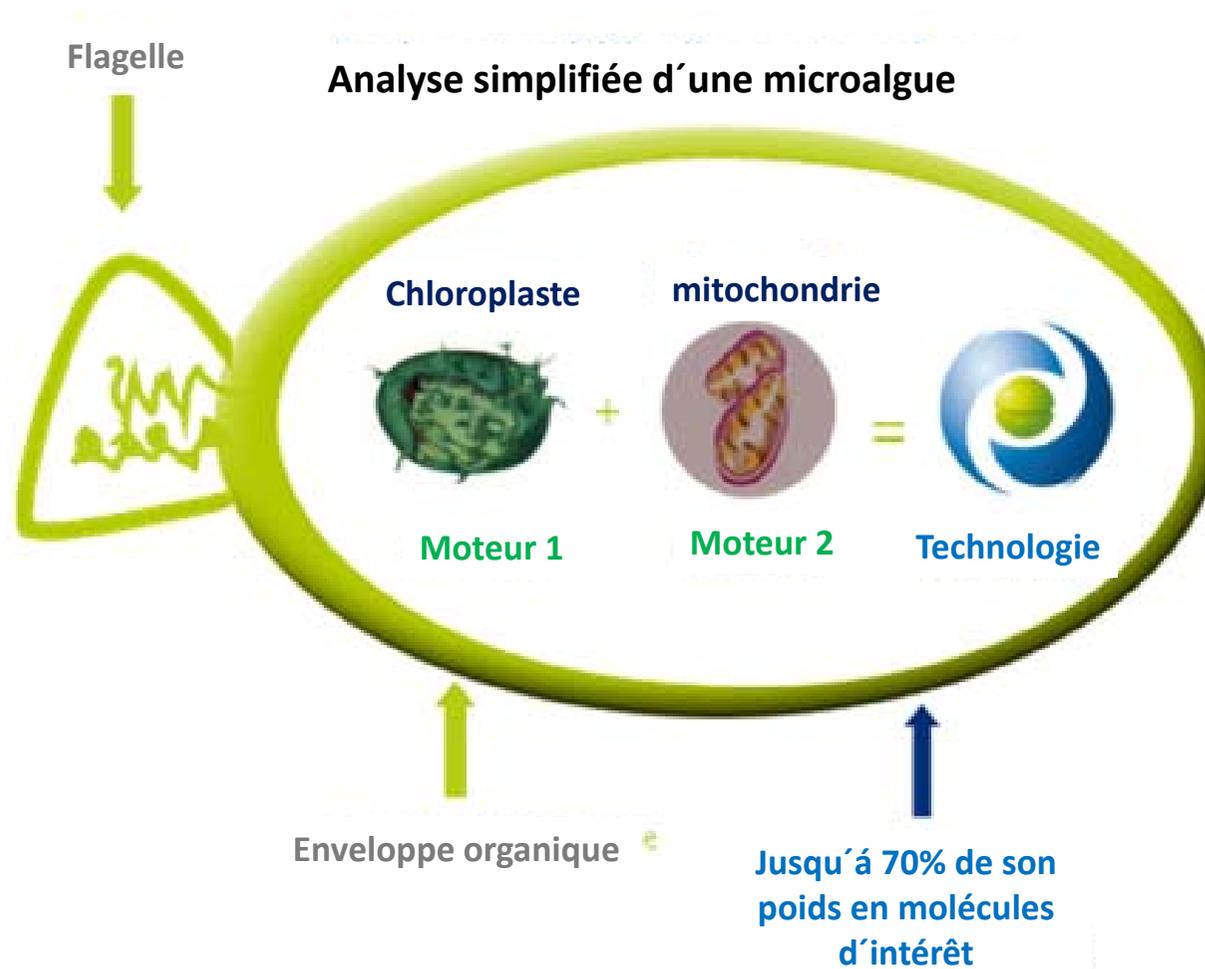


En fonction du climat



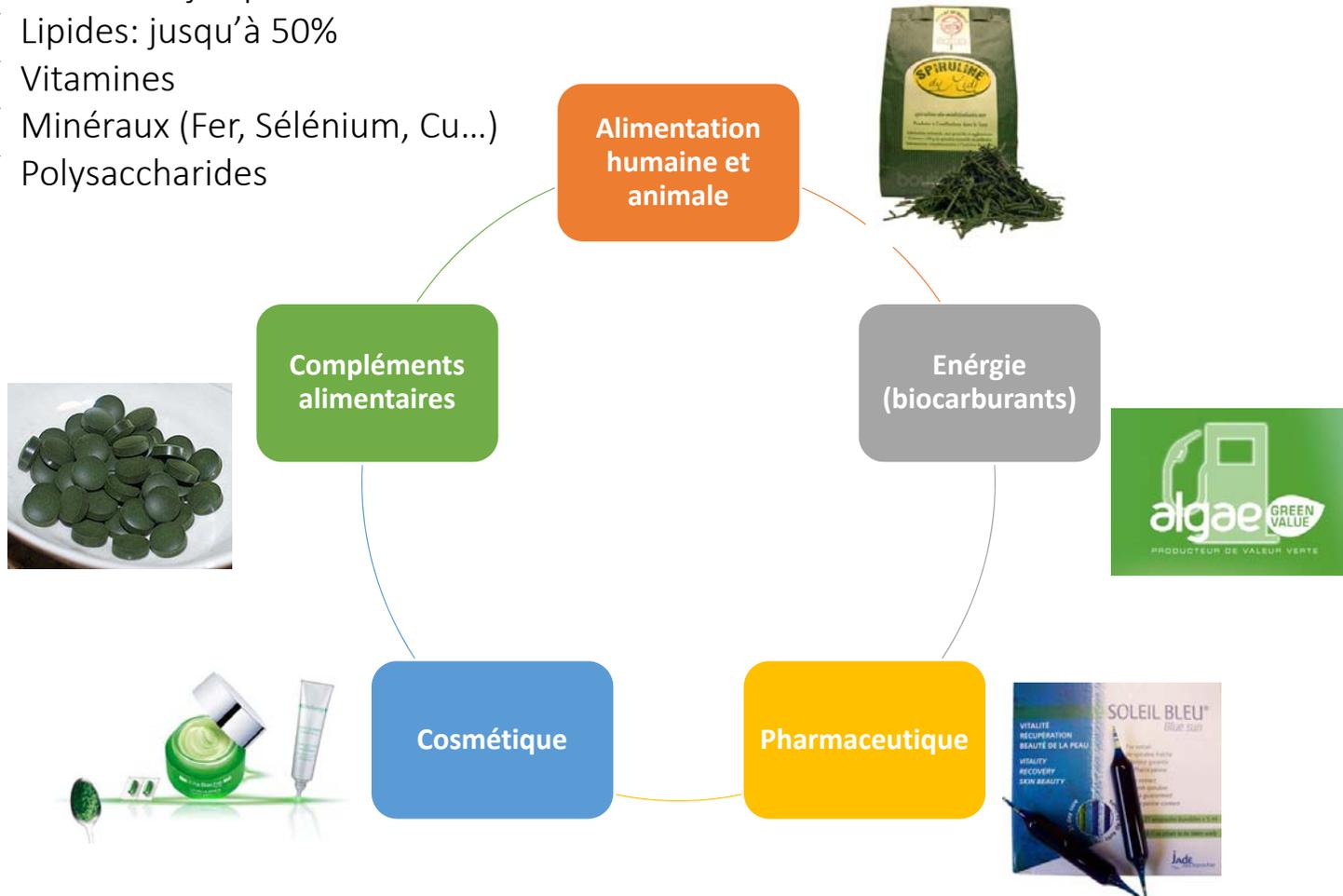
- Selon:
- La souche
 - L'application
 - Le produit ciblé

Applications des microalgues



Applications des microalgues

- ✓ Protéines: jusqu'à 70%
- ✓ Lipides: jusqu'à 50%
- ✓ Vitamines
- ✓ Minéraux (Fer, Sélénium, Cu...)
- ✓ Polysaccharides



Les microalgues pour l'énergie

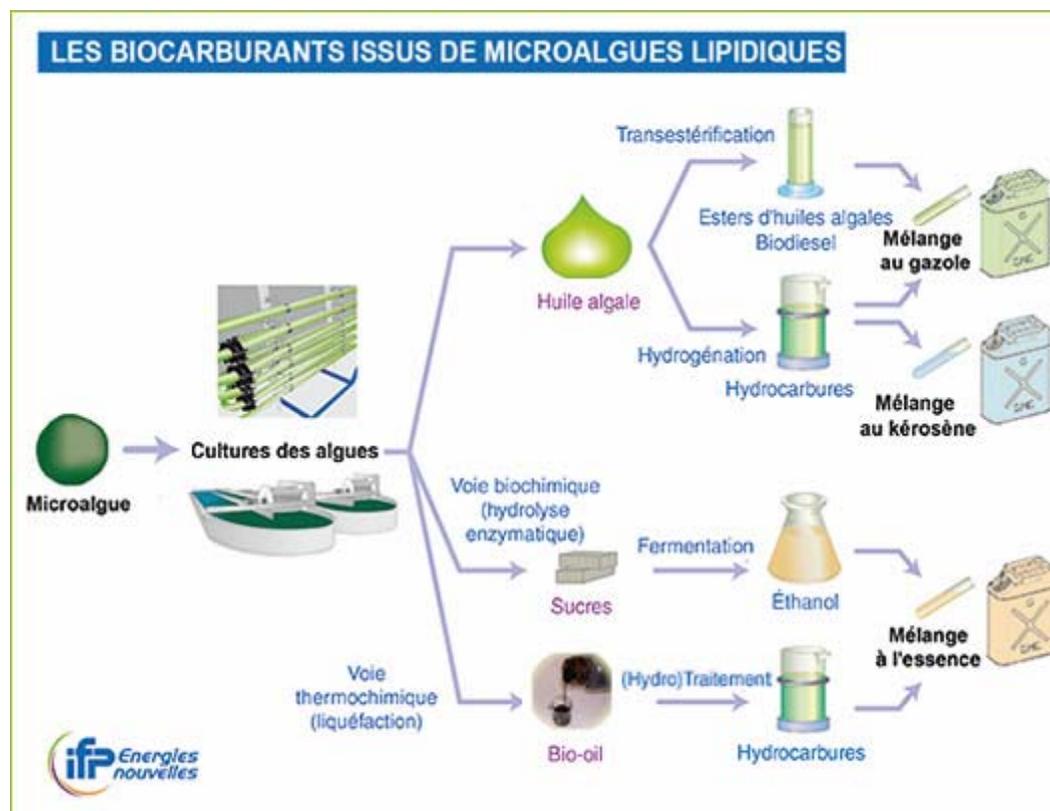
- Alternative aux carburants traditionnels et aux dérivés chimiques biosourcés
- Plusieurs types de biocarburants:

Biocarburants
lipidiques

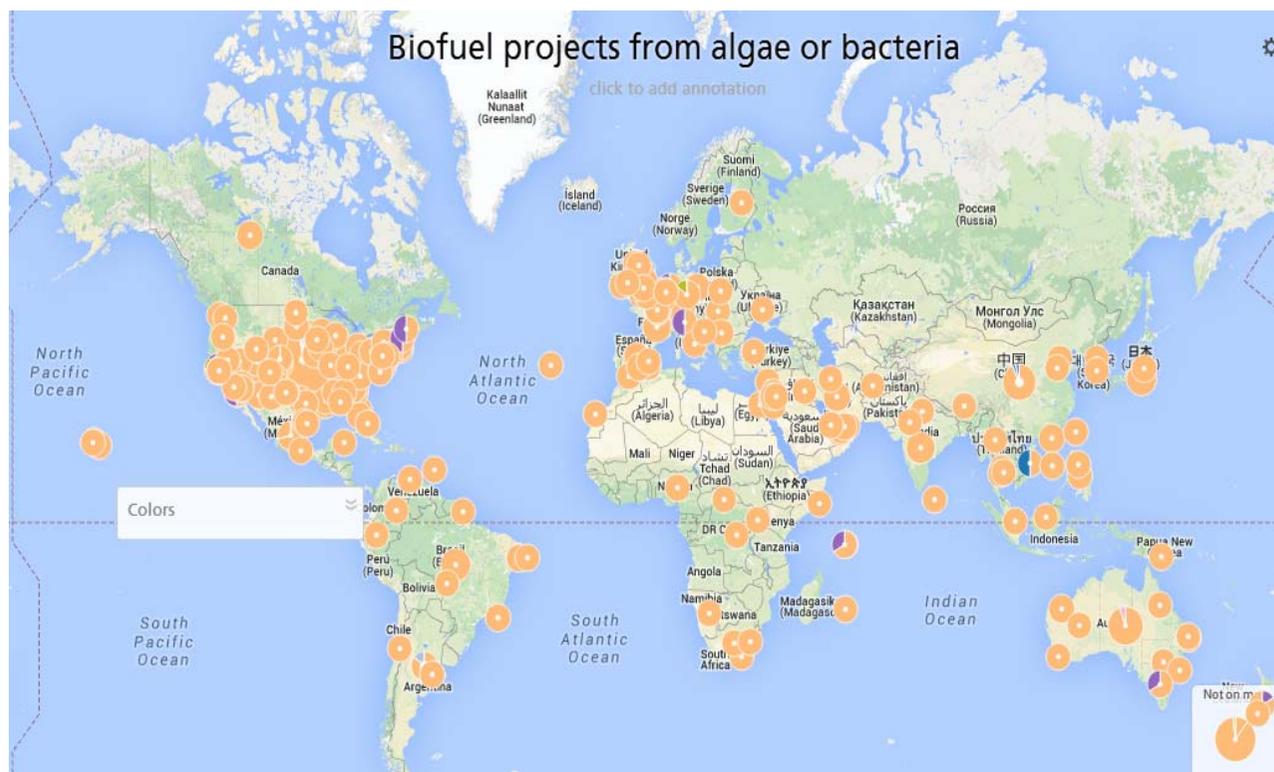
Bioethanol

Biohydrogen

Biogaz



Les microalgues pour l'énergie



Source: Recorded future 2014

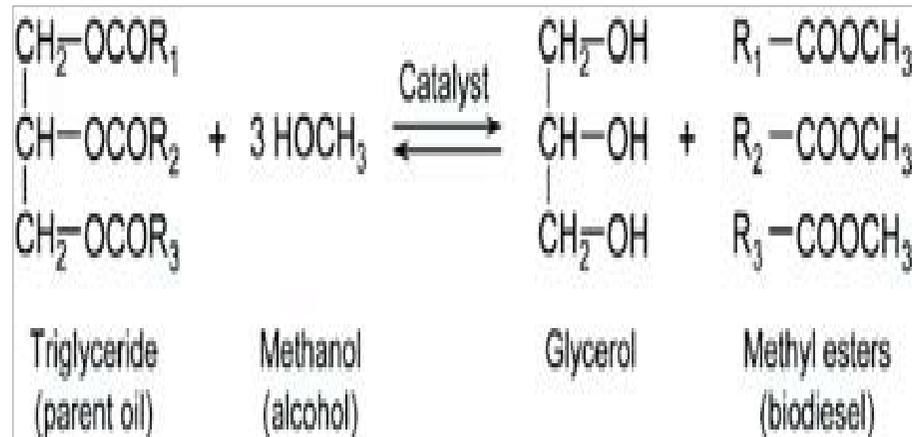
L'application Énergie: biodiesel

Principe

- Des souches riches en lipides
- Extraction des lipides et transformation en biodiesel via transesterification
- Comment?
 - * Les microalgues accumulent des lipides neutres (triglycerides=lipides de réserve)
 - * Les TAGs sont extraits de la cellule et agissent avec un alcool en présence d'une base pour donner des acides gras méthyle ester (**biodiesel**)

Etapas du procédé

1. Choix des souches riches en lipides
2. Choix du milieu et système de culture
3. Production et récolte de la biomasse
4. Extraction des lipides
5. Transformation des lipides en biodiesel



L'application Énergie: biodiesel

Chaîne de production: de la microalgue au biodiesel

Souches

Microalgues=photosynthèse=lipides +transertérification=biodiesel

- Efficacité photosynthétique

- Rendement de la trans
- Qualité du biodiesel

- Connaissances préalables
- Non toxique
- Croissance rapide (taux de croissance)

- Quantité
- Qualité
- Facilité d'extraction

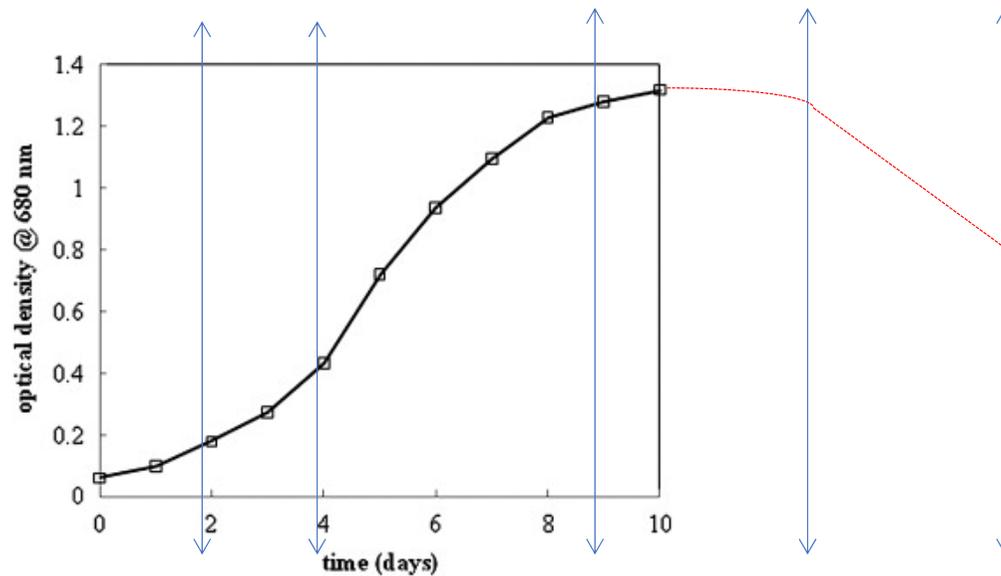
L'application Énergie: biodiesel

I. Sélection des souches

Clef de réussite: bonne sélection des souches

Critère 1: Croissance

- Suivi de la croissance: suivi de la DO, comptage des cellules
- 4 Phases (Bach): phase de latence, démarrage, exponentielle, stationnaire, et déclin



Culture autotrophe de *Nannochlorosis* sp. dans un réacteur 10L. Das *et al.* 2011

L'application Énergie: biodiesel

Meilleure croissance=plus de biomasse

	Taux de croissance maximum (J^{-1})	Temps de doublement (Jour)
<i>Botryococcus braunii</i>	0.2	3.4
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	3.8	0.18
<i>Chlorella vulgaris</i>	1.84	0.37
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	3.5	0.2
<i>Isochrysis galbana</i>	2.0	0.34
<i>Navicula muralis</i>	2.63	0.26
<i>Pleurochrysis carterae</i>	0.65	1.1
<i>Rhodomonas salina</i>	0.6	1.15
<i>Spirulina platensis</i>	0.5	1.38
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	2.48	0.27

Productivité surfacique

- Rendement/surface de culture
- Exprimée en $g/m^2/j$
- Valable pour les systèmes ouverts

Productivité volumétrique

- Rendement/volume de culture
- Exprimée en $g/m^3/j$
- Valable pour tout les systèmes

Table 2
Biomass productivity figures for open pond production systems.

Algae species	X_{max} ($g l^{-1}$)	P_{aerial} ($g m^{-2} day^{-1}$)	P_{volume} ($g l^{-1} day^{-1}$)
<i>Chlorella</i> sp.	10	25	-
N/A	0.14	35	0.117
<i>Spirulina platensis</i>	-	-	0.18
<i>Spirulina platensis</i>	0.47	14	0.05
<i>Haematooccus pluvialis</i>	0.202	15.1	-
<i>Spirulina</i>	1.24	69.16	-
Various	-	19	-
<i>Spirulina platensis</i>	0.9	12.2	0.15
<i>Spirulina platensis</i>	1.6	19.4	0.32
<i>Anabaena</i> sp.	0.23	23.5	0.24
<i>Chlorella</i> sp.	40	23.5	-
<i>Chlorella</i> sp.	40	11.1	-
<i>Chlorella</i> sp.	40	32.2	-
<i>Chlorella</i> sp.	40	18.1	-

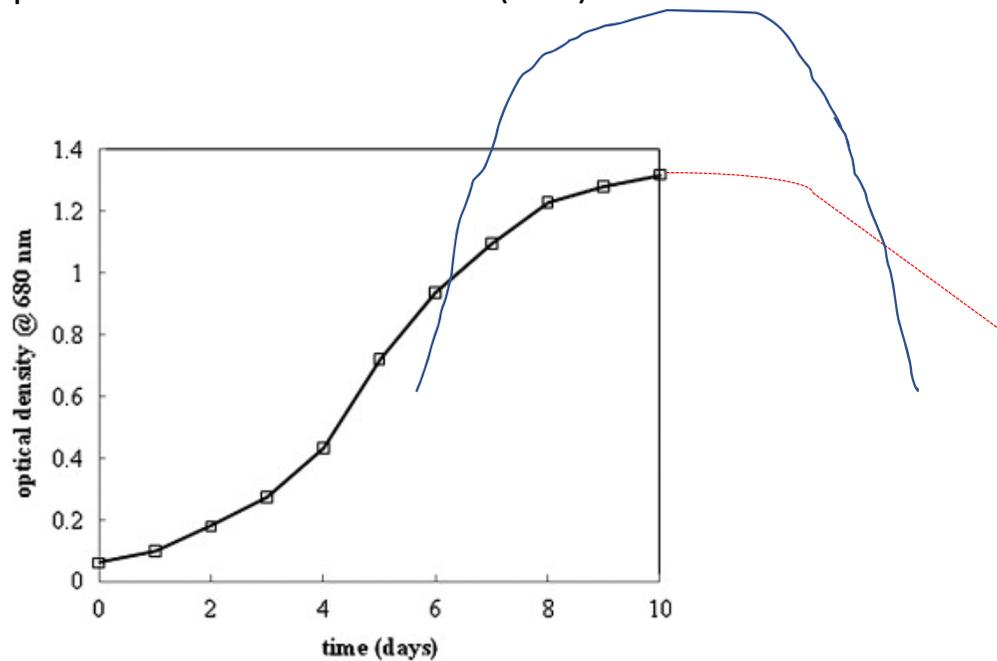
Brennan et Owende 2010

L'application Énergie: biodiesel

Critère 2: Lipides

* *Courbe d'accumulation des lipides*

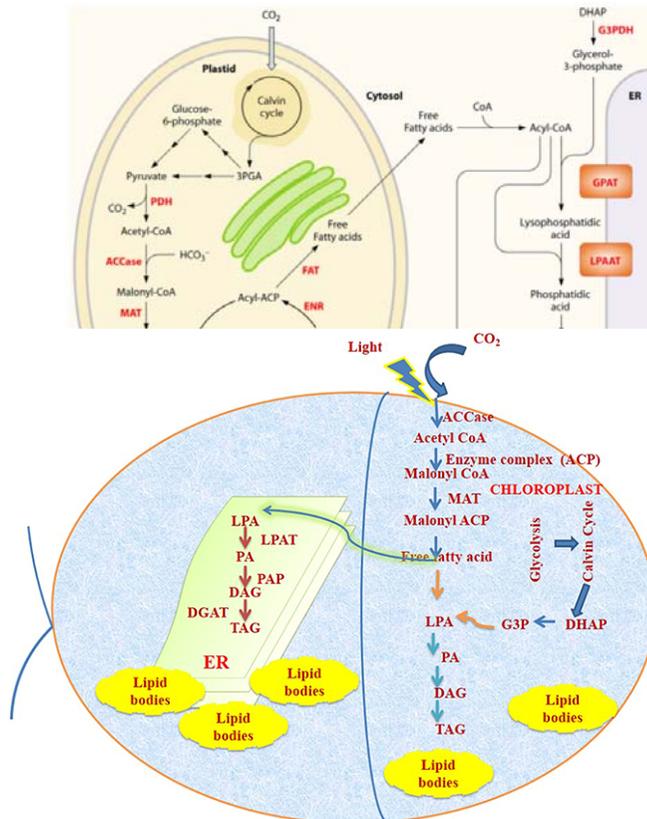
- Deux types de lipides: réserves et de structure
- Biodiesel: lipides neutres ou de réserve (TAG)



Culture autotrophe de *Nannochlorosis* sp. dans un réacteur 10L. Das *et al.* 2011

L'application Énergie: biodiesel

Critère 2: Lipides



Contenu lipidique de certaines microalgues (% poids sec),
Chisti 2007

Contenu lipidique de certaines microalgues (% poids sec)

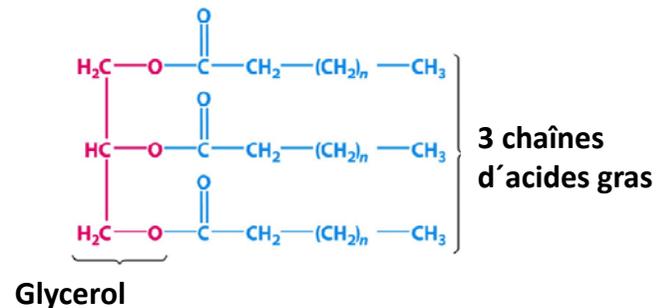
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella sp.</i>	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	20
<i>Nannochloris sp.</i>	20–35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54
<i>Nitzschia sp.</i>	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50–77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15–23

L'application Énergie: biodiesel

Critère 2: Lipides

Pourquoi les microalgues produisent des lipides?

- Dans la plupart des organismes, les triacylglycérols constituent la principale forme de réserve en lipides

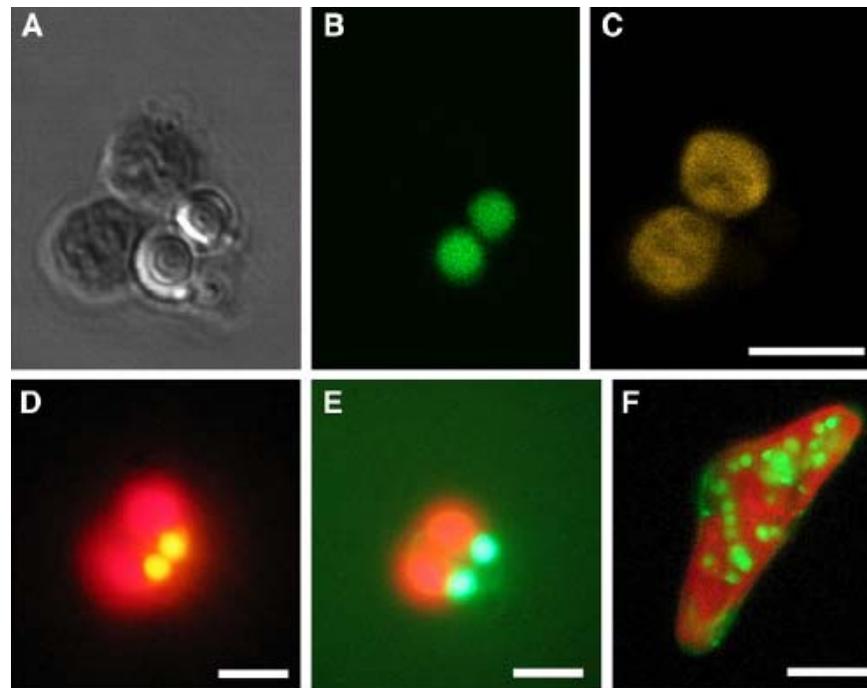


- Ils sont formés de trois acides gras estérifiés à une molécule de glycérol
- Ce sont les constituants majeurs des huiles végétales
- Dans une cellule, c'est la forme de **stockage d'énergie et de matière carbonée la plus compacte**

L'application Énergie: biodiesel

Critère 2: Lipides

- ✓ Réserve
- ✓ Face à un stress



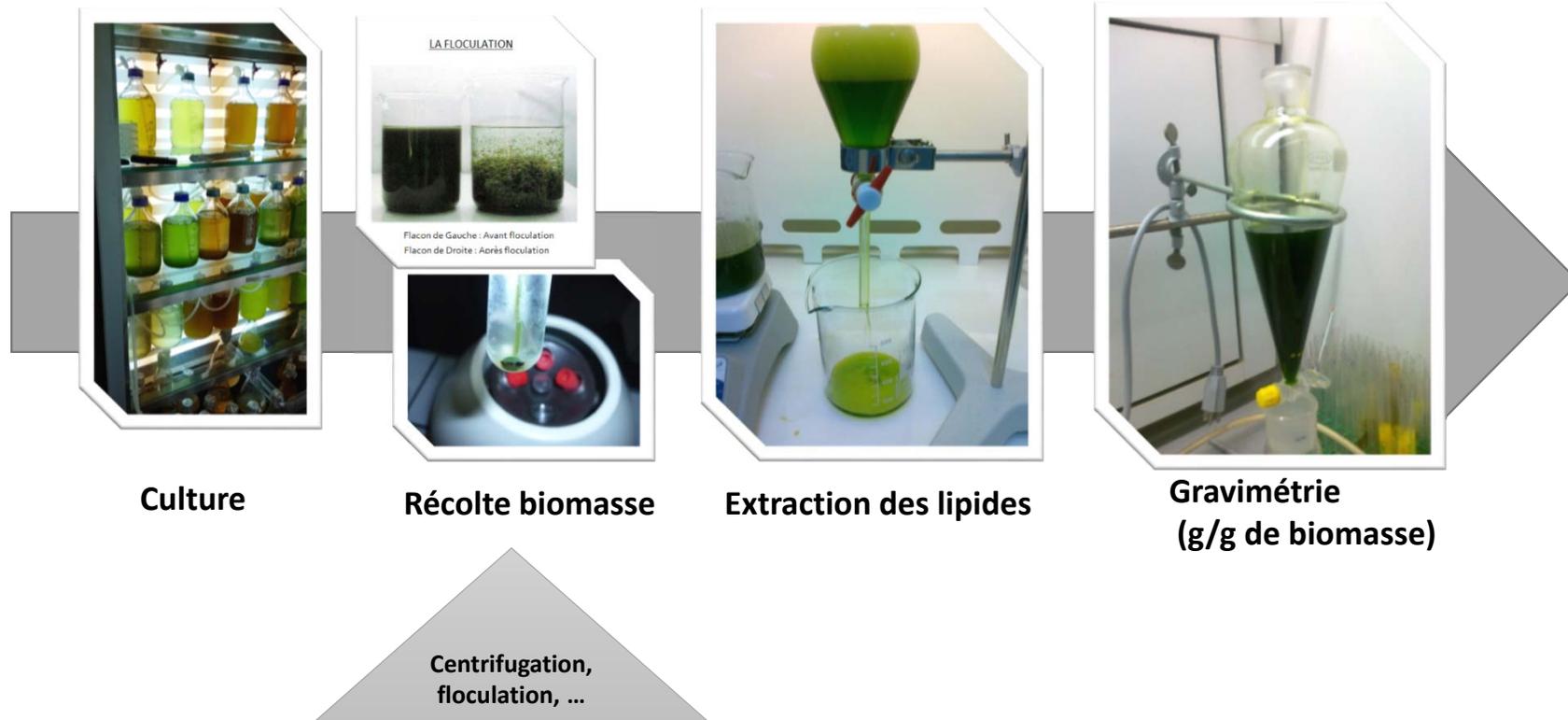
Cellules de la microalgue marine *Chrysochromulina sp.*

L'application Énergie: biodiesel

Critère 2: Lipides

Comment analyser ces lipides?

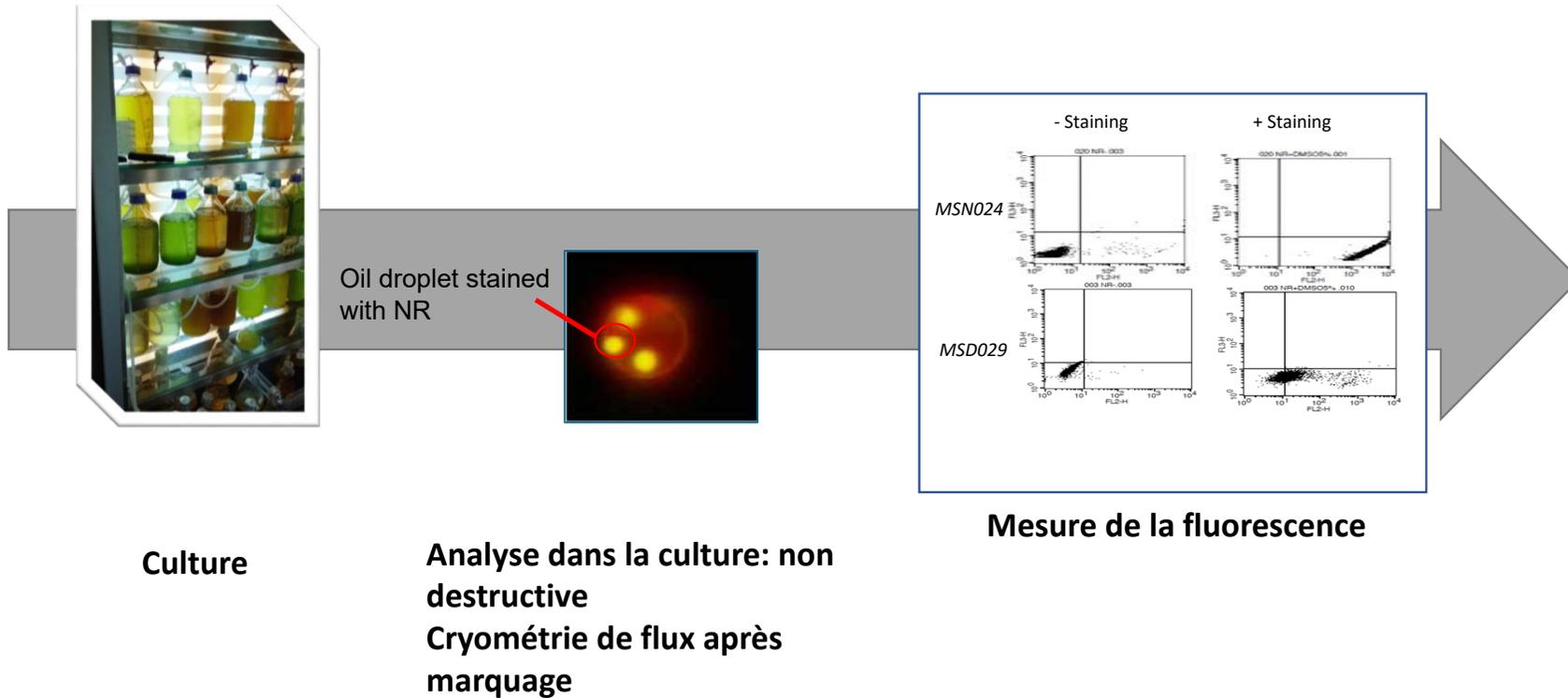
Analyse quantitative:



L'application Énergie: biodiesel

Critère 2: Lipides

Analyse qualitative (estimative):

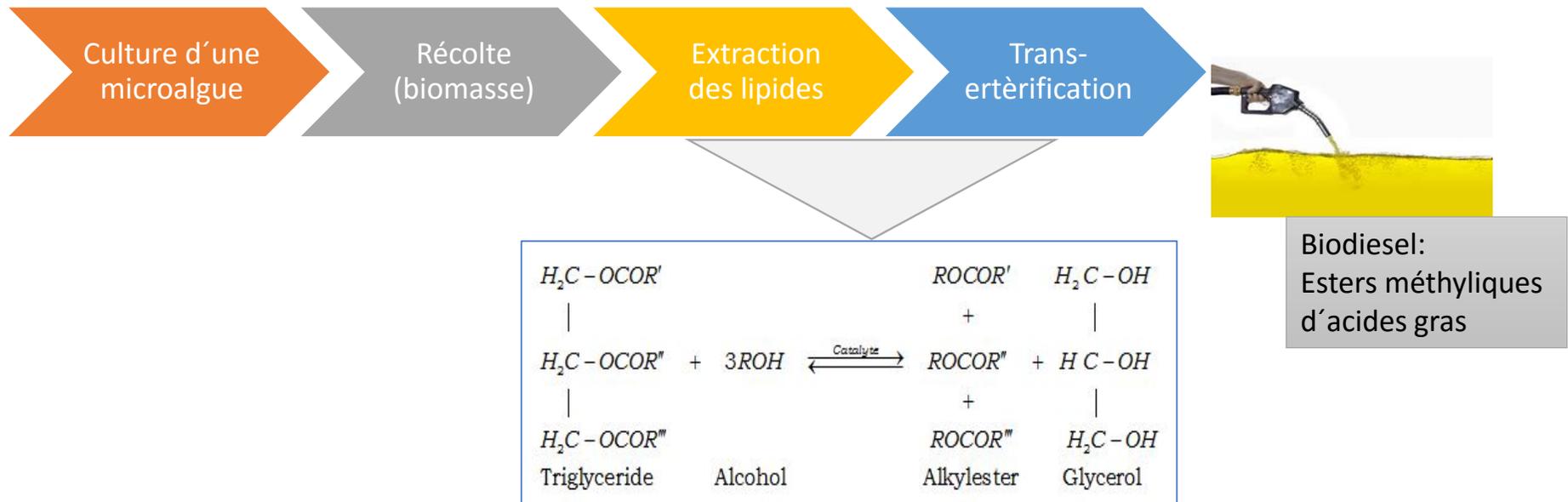


L'application Énergie: biodiesel

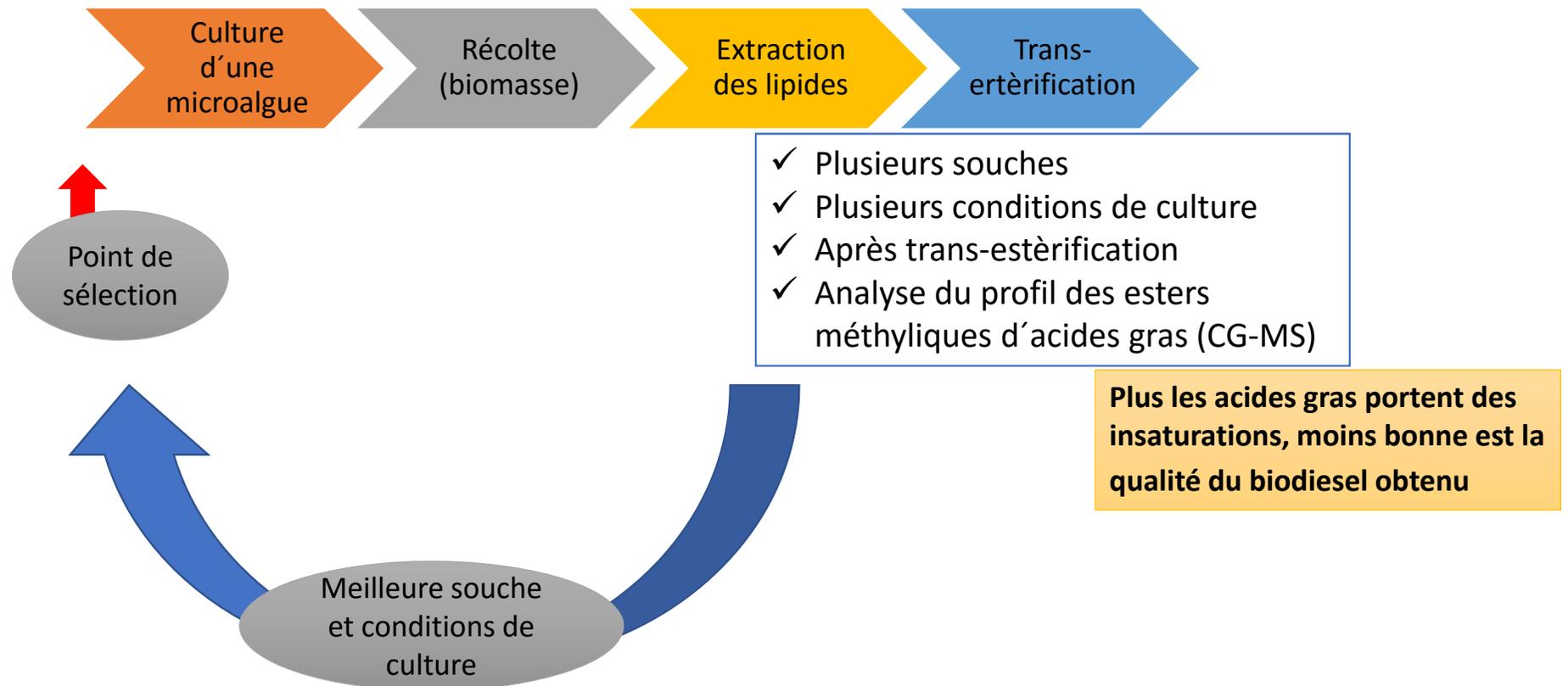
Critère 2: Lipides

* *Qualité des lipides*

- Les microalgues accumulent des lipides entre 15 et 75%
- La souche est le premier facteur déterminant le taux de lipides
- TAG: lipides recherchés pour le biodiesel

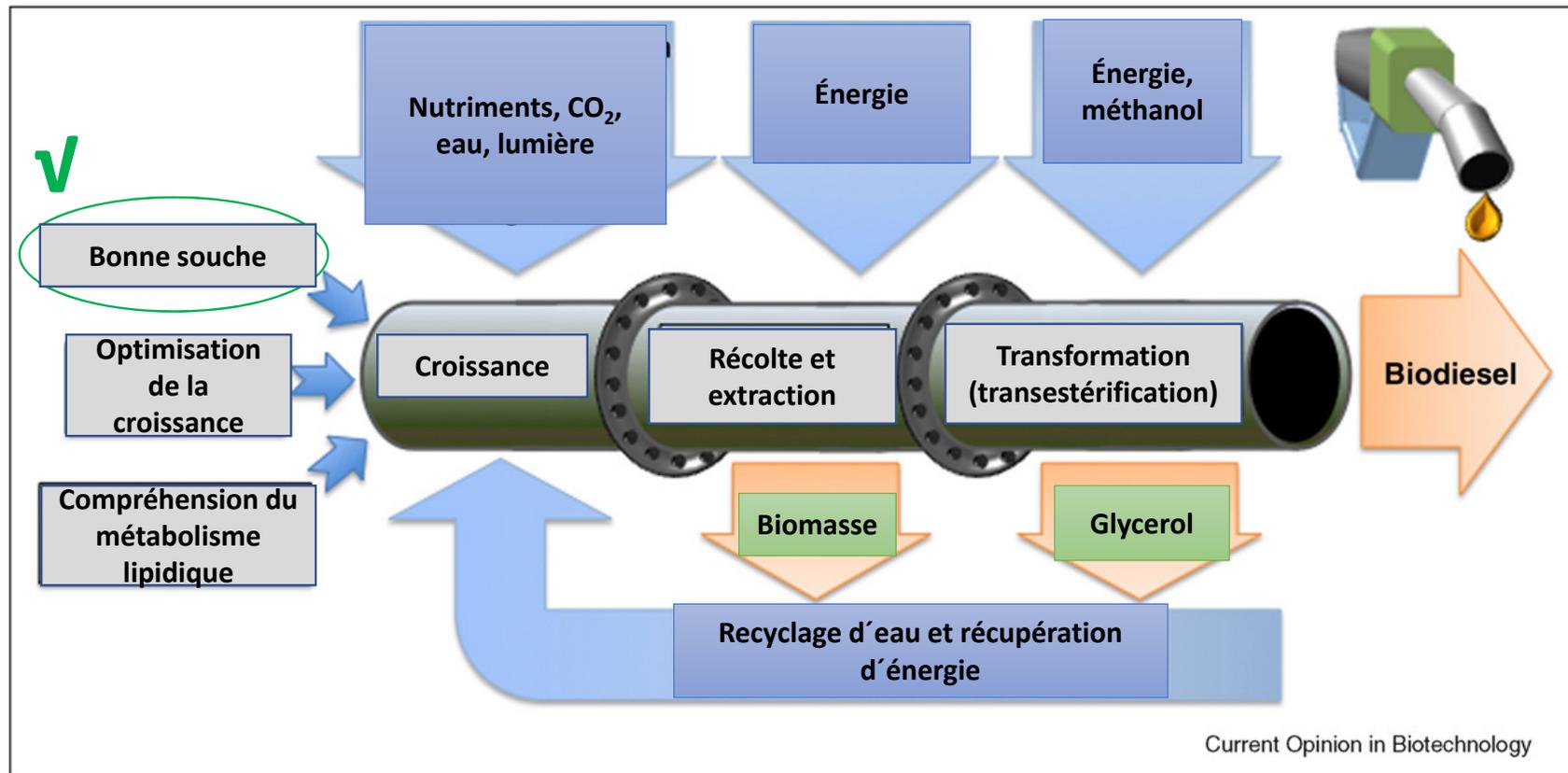


L'application Énergie: biodiesel



L'application Énergie: biodiesel

II. Chaîne de production: de la microalgue au biodiesel

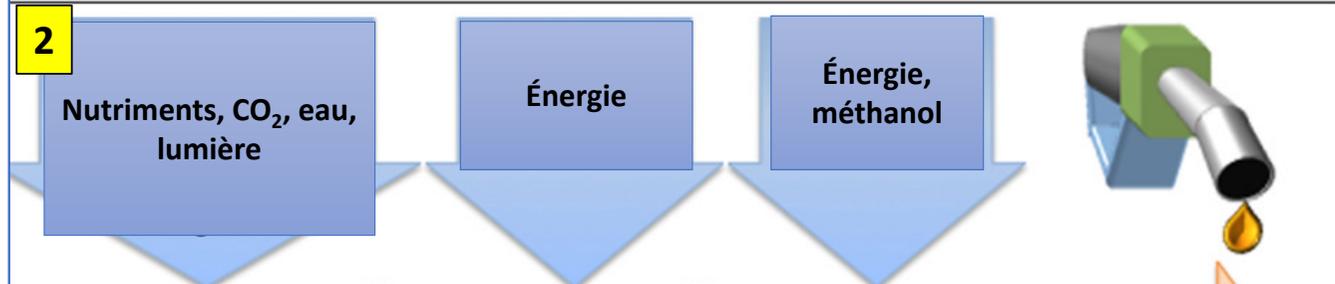


L'application Énergie: biodiesel

II. Chaîne de production: de la microalgue au biodiesel

Lumière:

- Peut être naturelle ou artificielle.
- Primordiale pour les espèces autotrophes



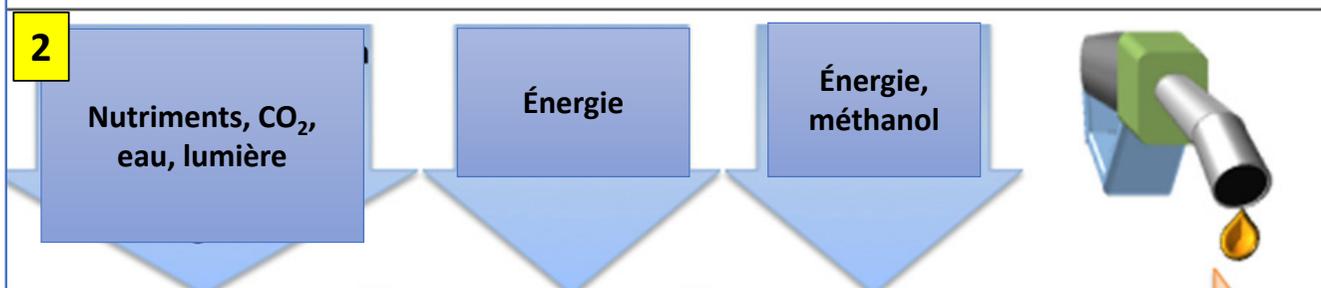
- ✓ Systèmes à éclairage naturel : Plus de lumière=meilleure photosynthèse=meilleur rendement en lipides
- ✓ Systèmes artificiels: NON faisables à l'échelle industrielle



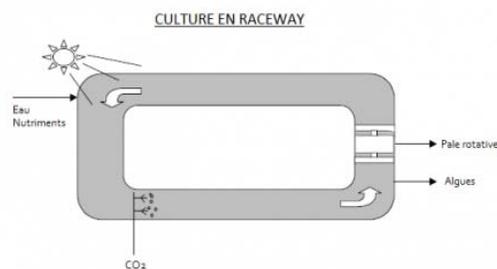
L'application Énergie: biodiesel

II. Chaîne de production: de la microalgue au biodiesel

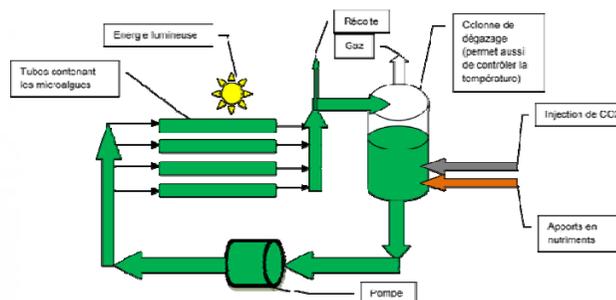
CO₂:
Production de 1 kg
microalgue =
consommation de 2
kg de CO₂



- ✓ Essentiel pour la réaction de photosynthèse: $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Chlorophylle}} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{O}_2$
- ✓ La capacité d'assimilation dépend de la souche
- ✓ Naturel: CO₂ atmosphérique (non suffisant pour une activité industrielle)
- ✓ Artificiel



<http://www.ecologie.com/forum/le-vehicule-a-hydrogene-ou-par-total.html>



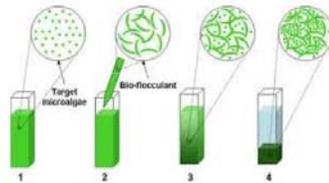
Microalgues pour le
bio-captage de CO₂
industriel

L'application Énergie: biodiesel

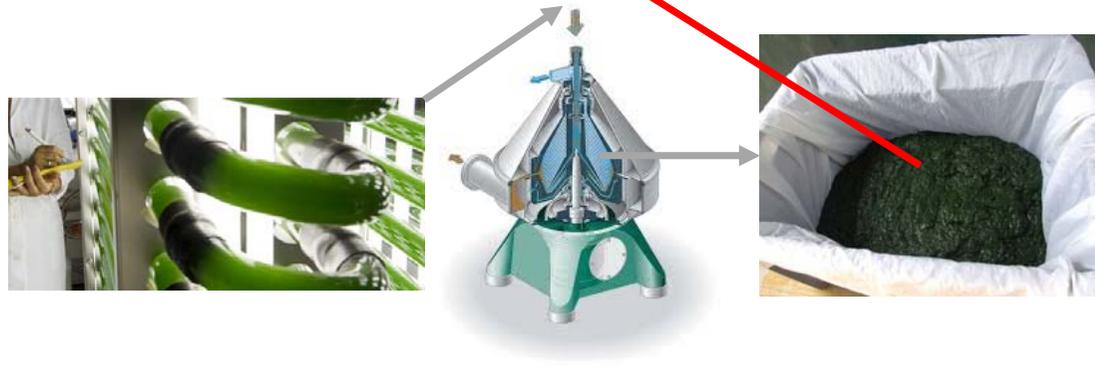
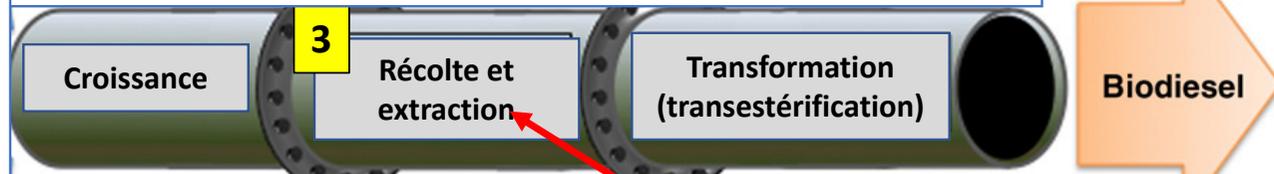
II. Chaîne de production: de la microalgue au biodiesel

➤ Séparation des cellules de microalgues du milieu de croissance

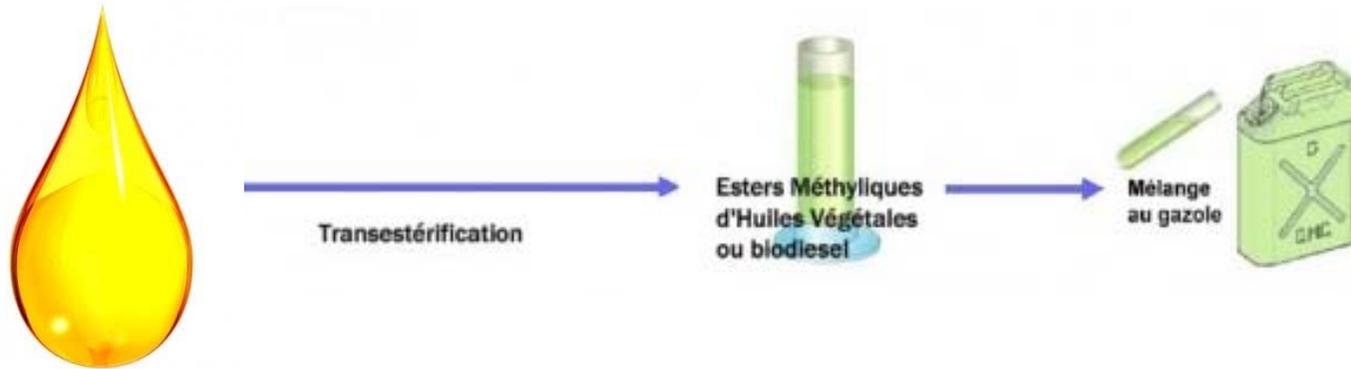
➤ 2 méthodes: floculation et centrifugation



- ✓ Le choix de la technologie: dépend de la souche
- ✓ Propriétés physiques: taille, réponse aux agents floculants
- ✓ Pour le biocarburant: la centrifugation est la plus utilisée
- ✓ 😞 Coût énergétique élevé



L'application Énergie: biodiesel



Le biodiesel algal:

- ✓ Biodegradable
- ✓ Non toxique
- ✓ Ressource renouvelable
- ✓ Utilisé directement dans les moteurs
 - Pur à 100 % (B100) comme carburant de remplacement
 - Mélangé au pétrodiesel dans des concentrations de 2 % (B2), 5 % (B5) et 10 % (B10).

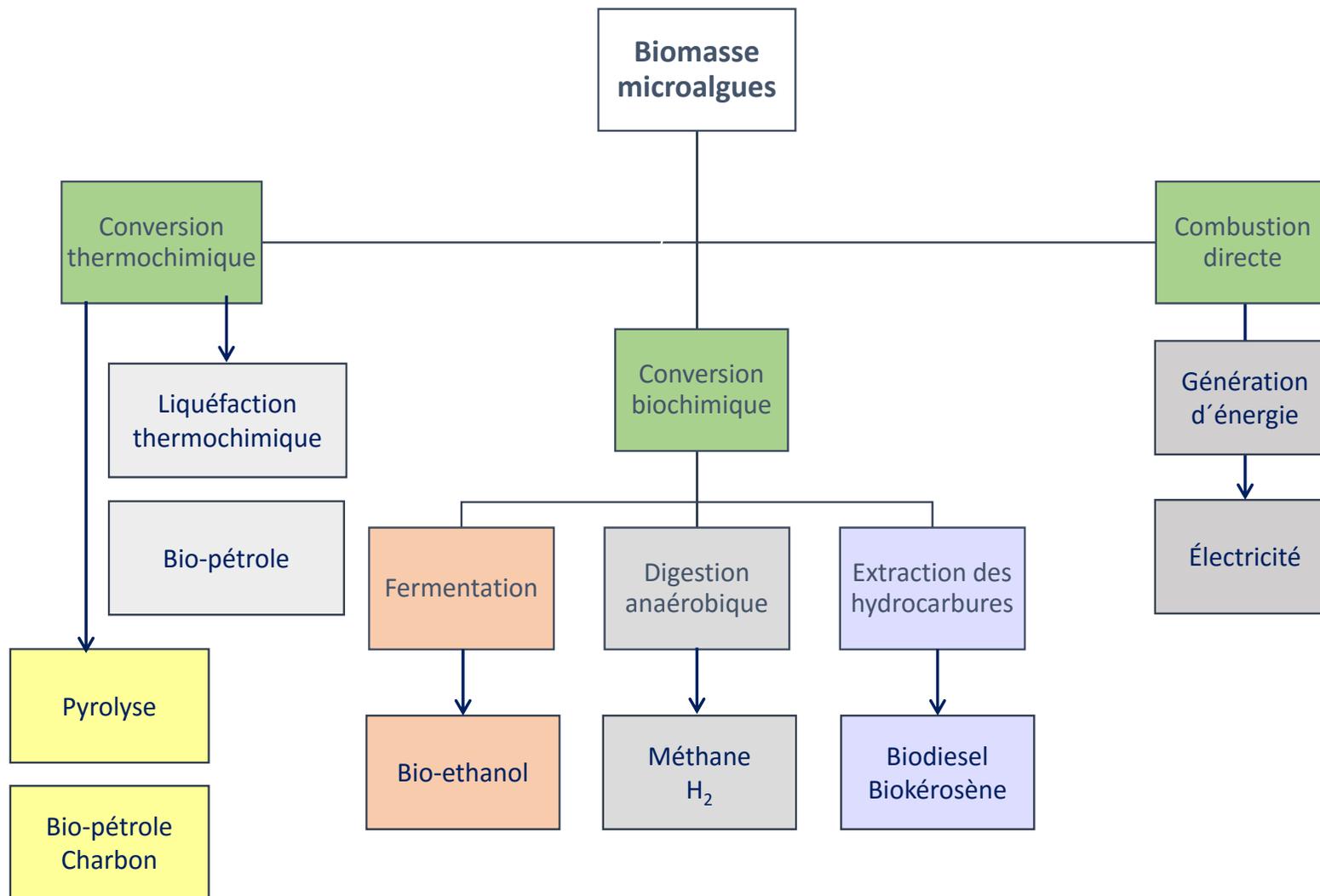
L'application Énergie: biodiesel

Aucune production industrielle...

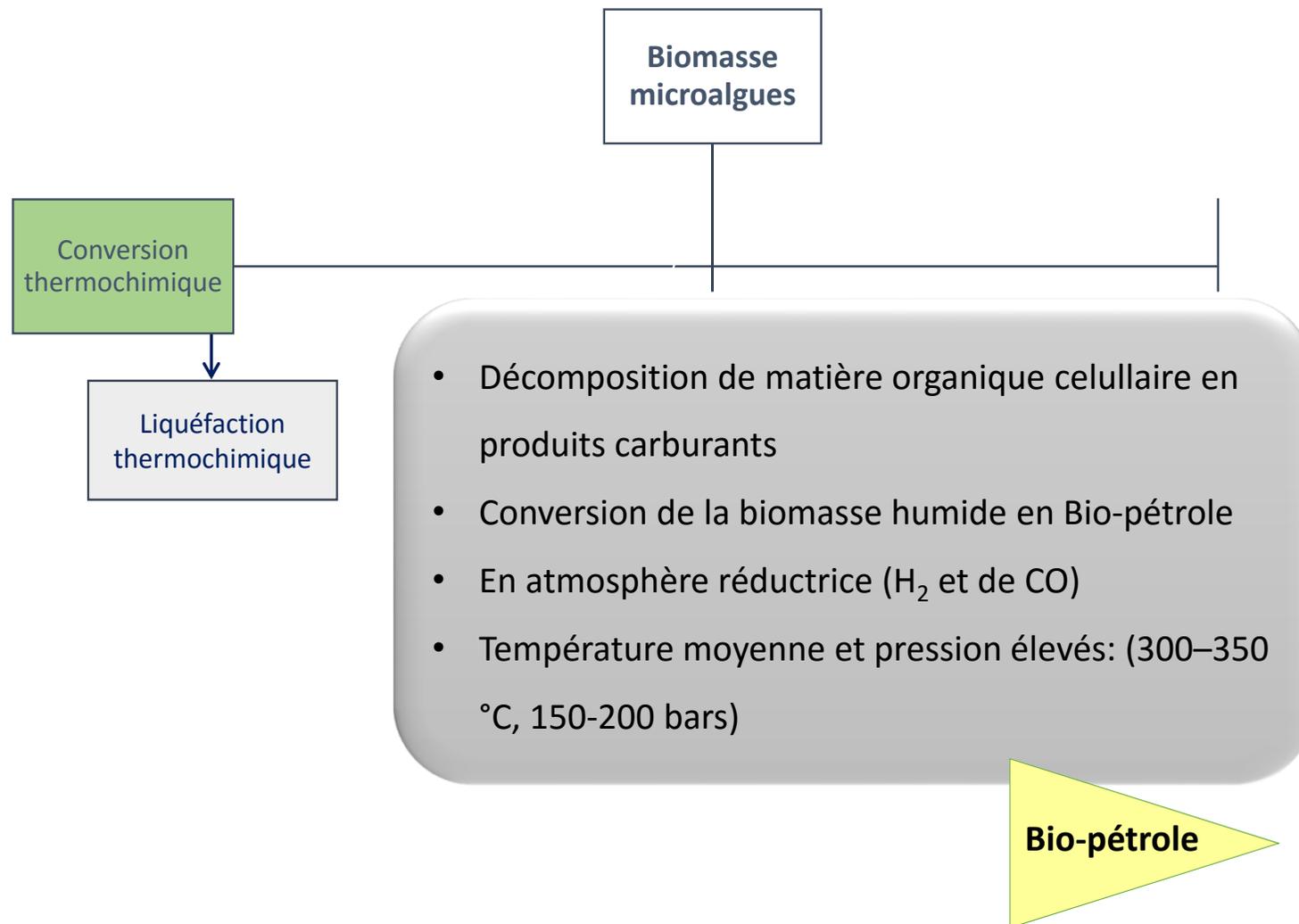


- Baisse du coût du baril
- Coût de production élevé
- Besoin d'augmenter le rendement
- Besoin d'améliorer la technologie de récolte

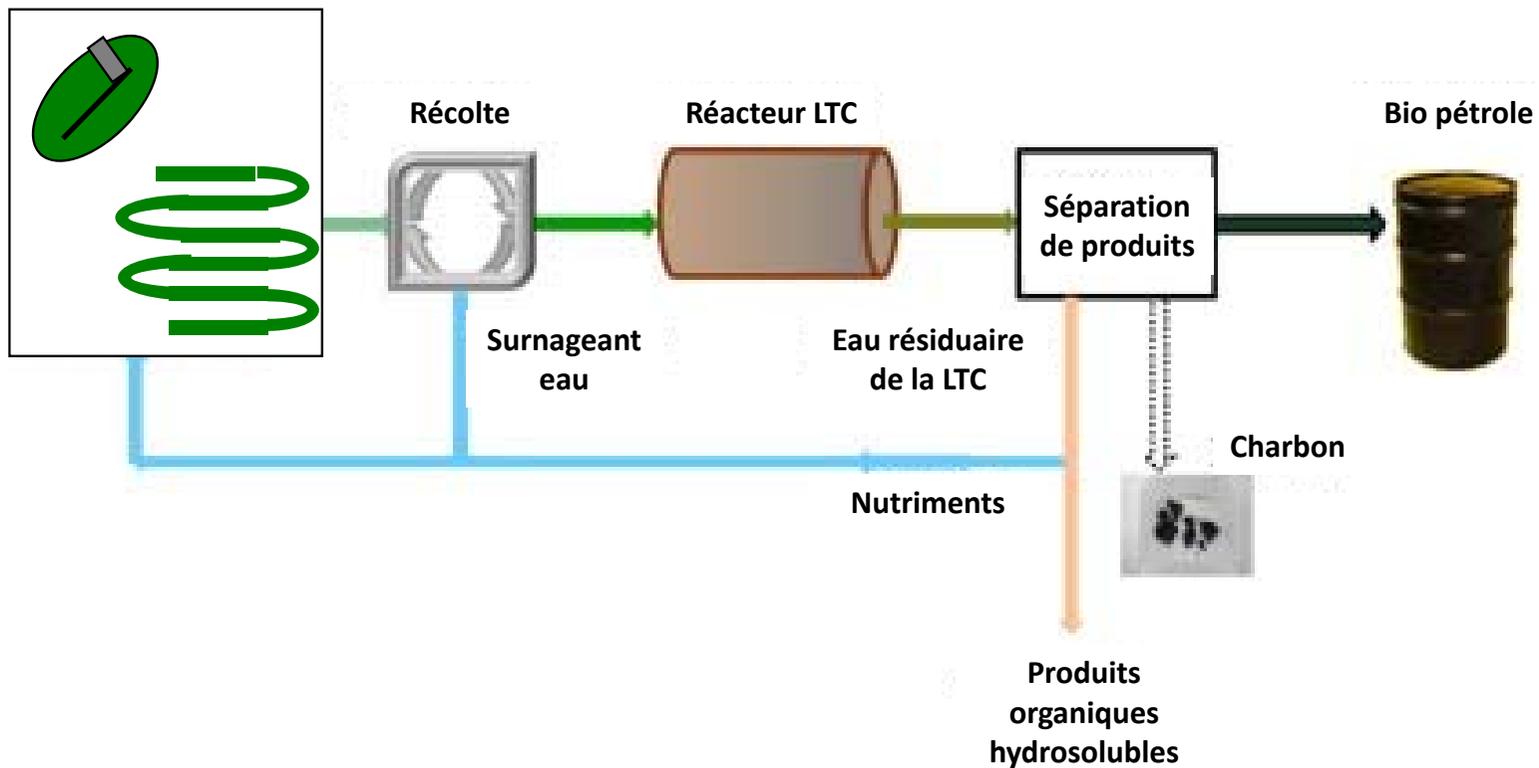
L'application Énergie: Autres biocarburants



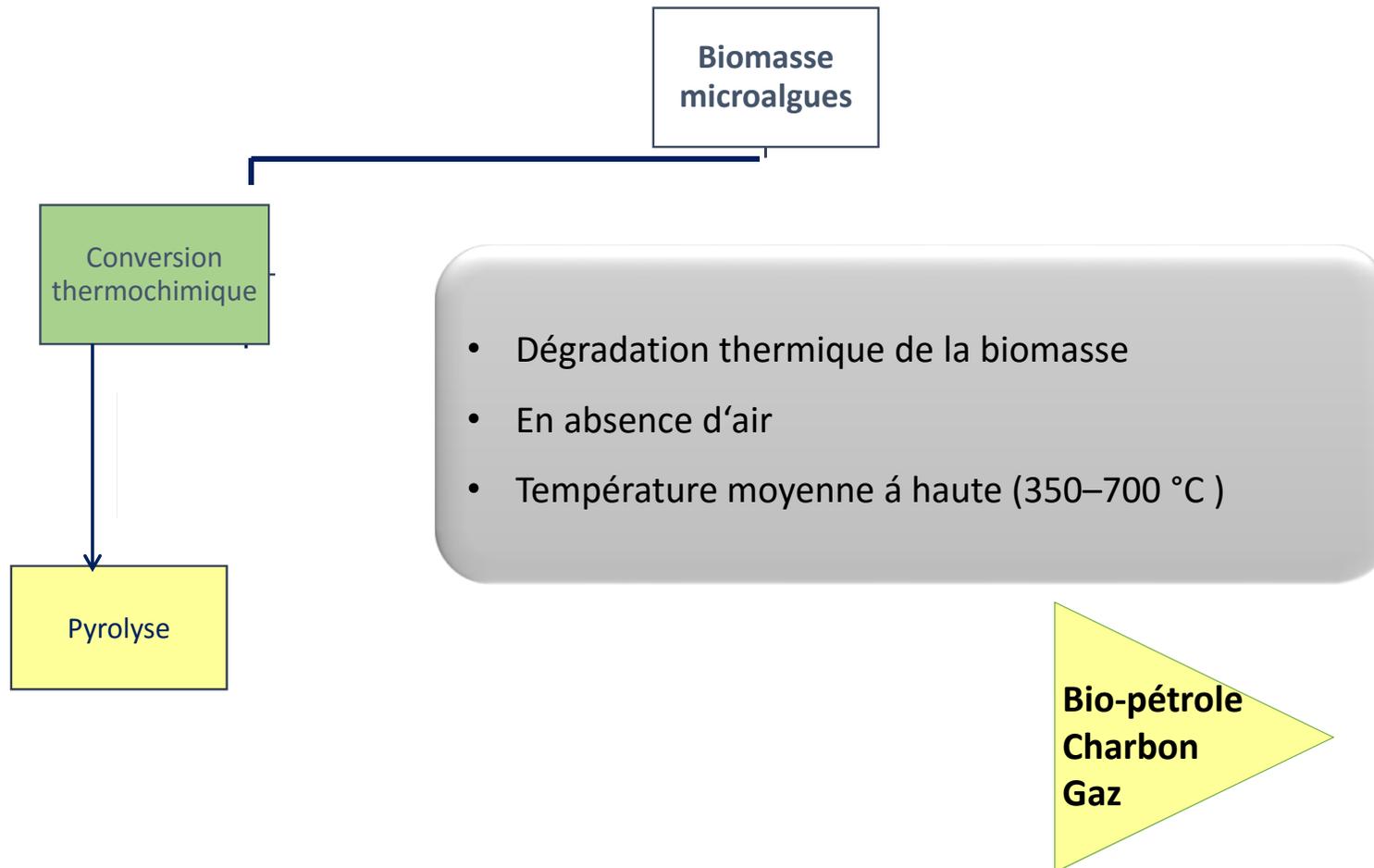
L'application Énergie: Autres biocarburants



L'application Énergie: Autres biocarburants



L'application Énergie: Autres biocarburants



L'application Énergie: Autres biocarburants

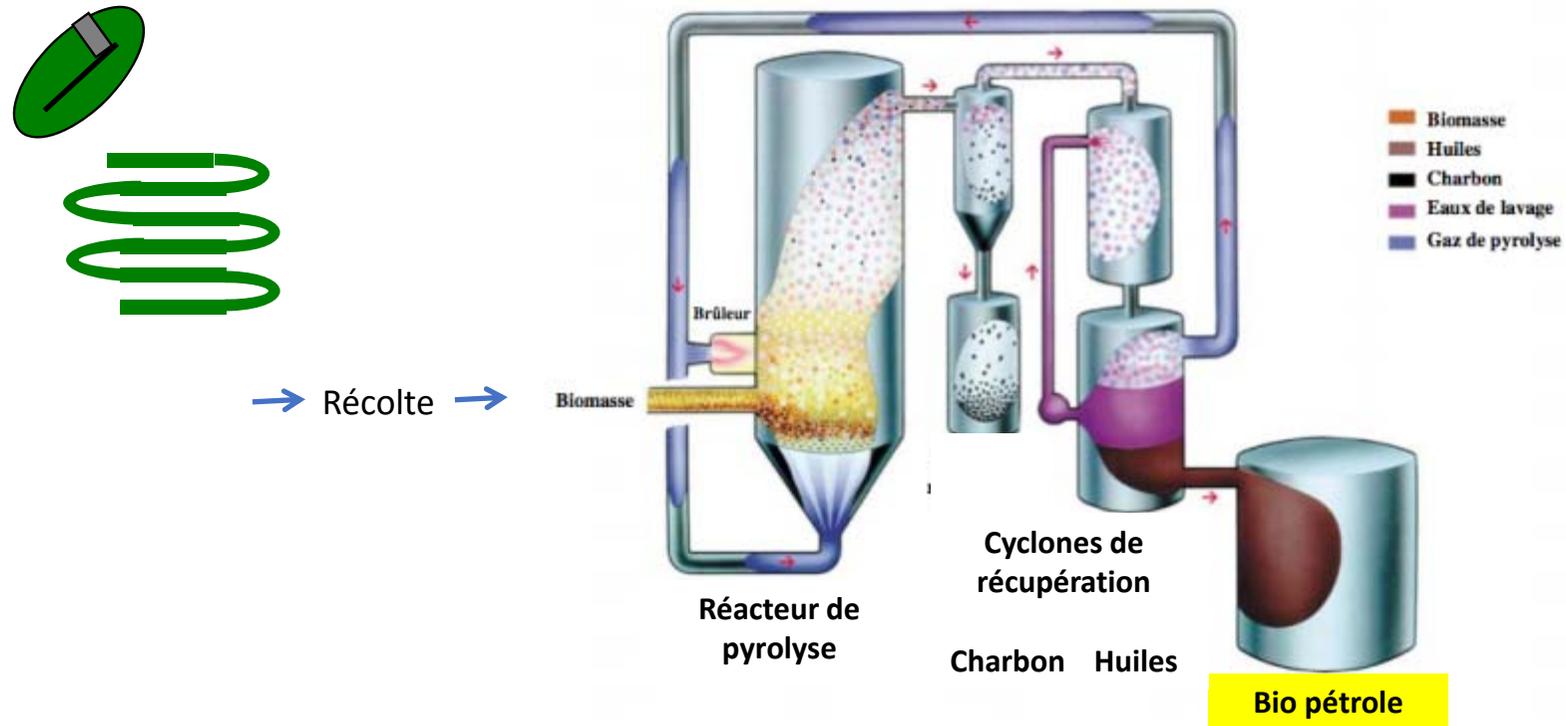
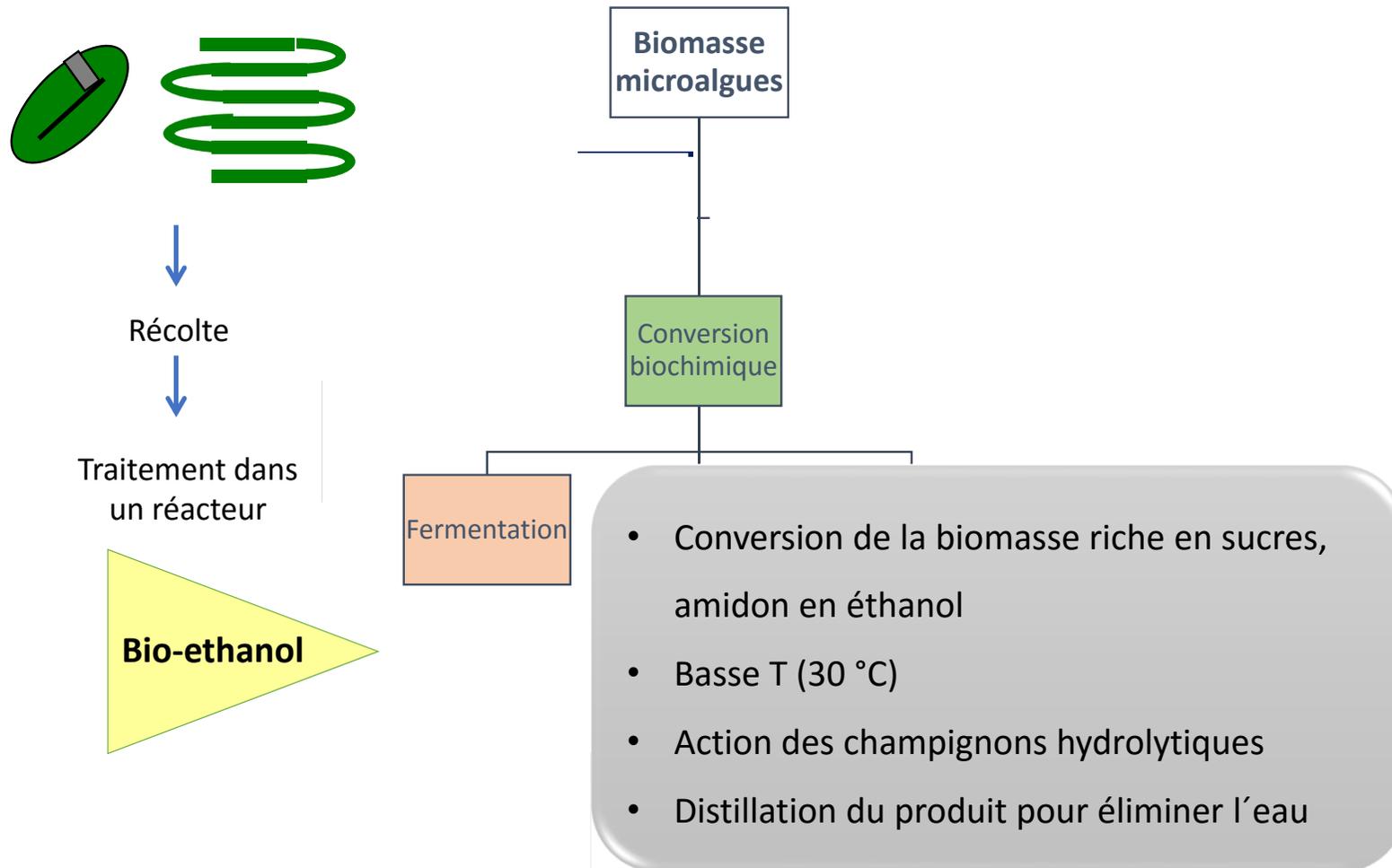
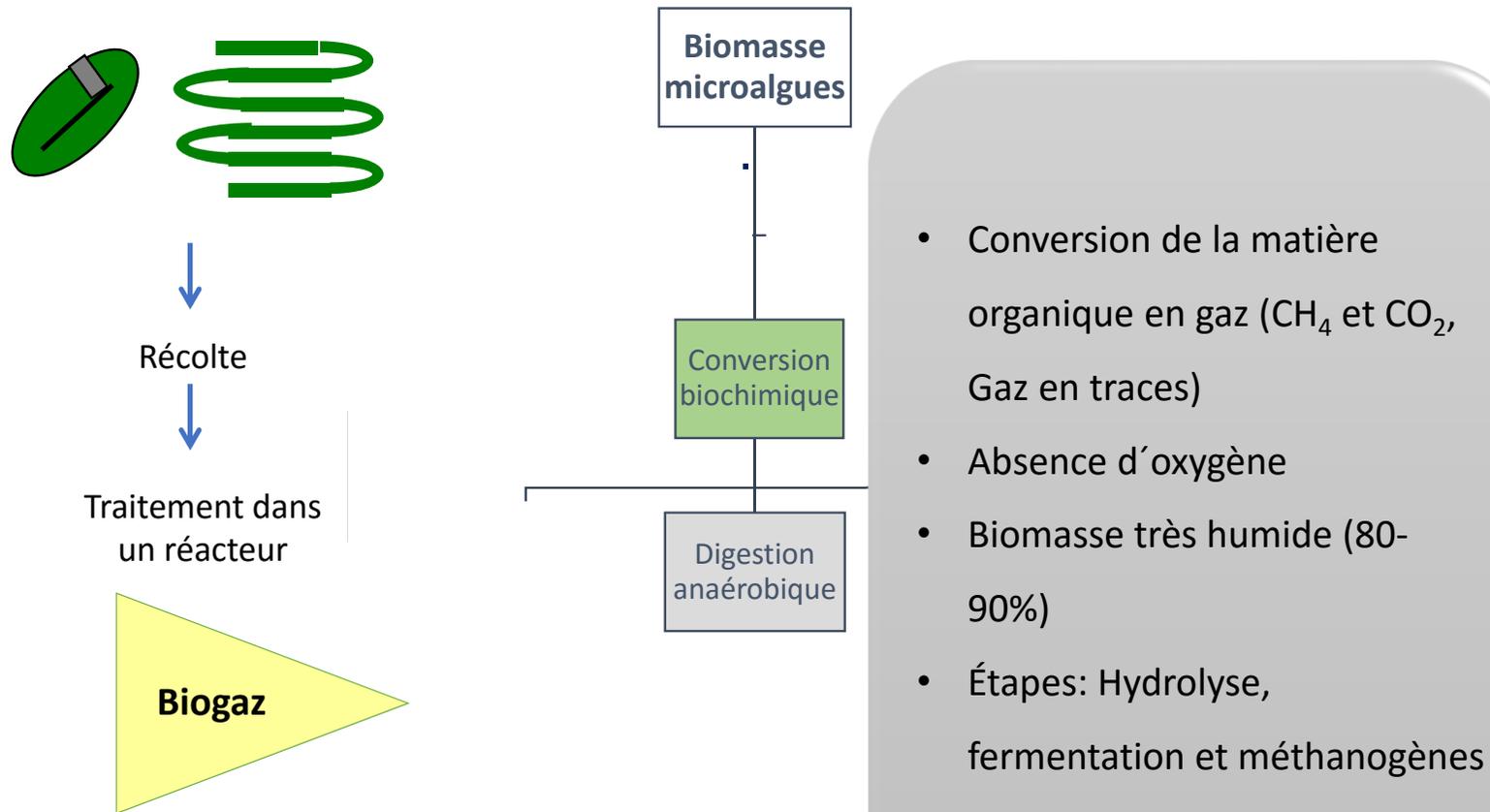


Figure 2 : Principe de la pyrolyse

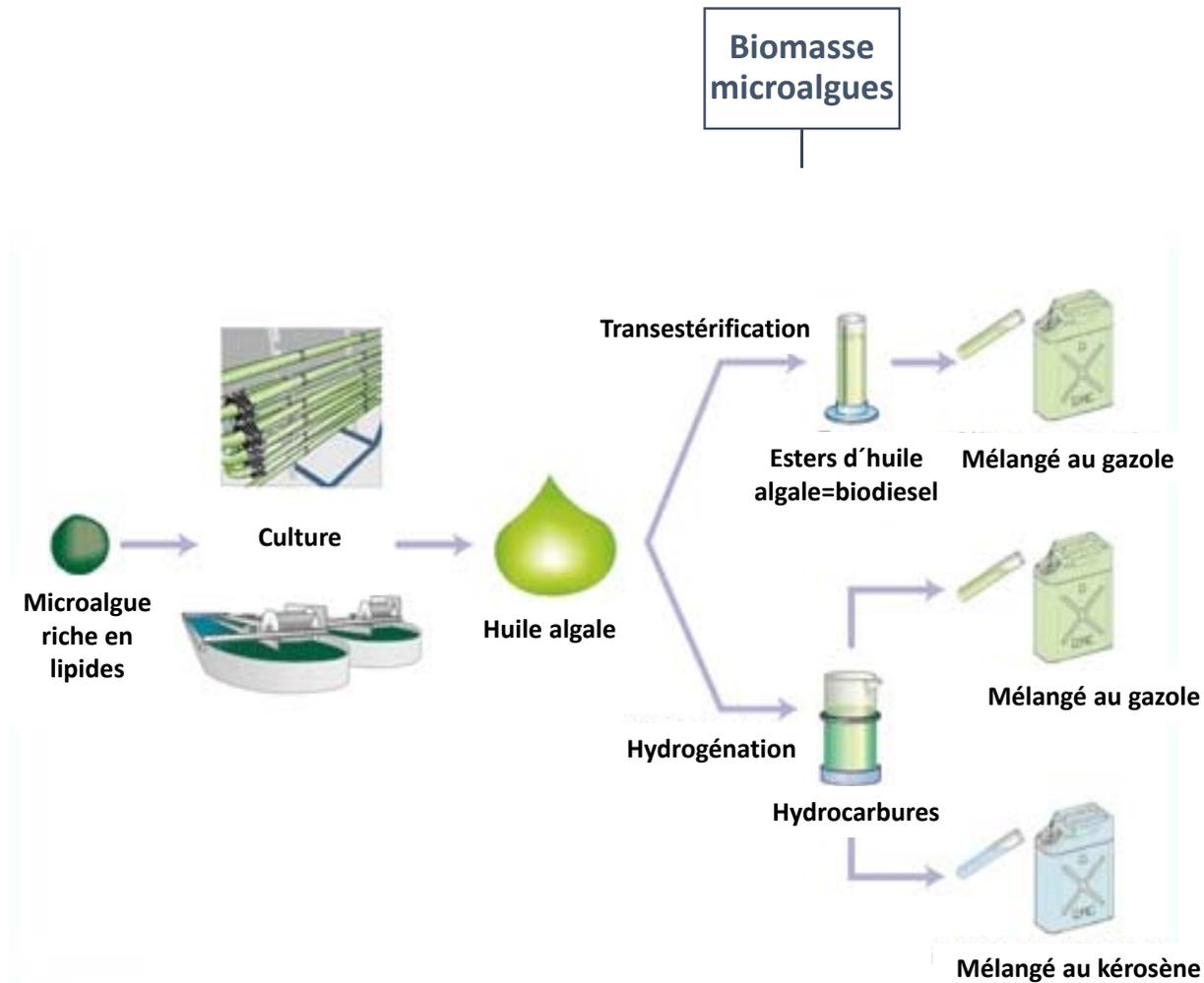
L'application Énergie: Autres biocarburants

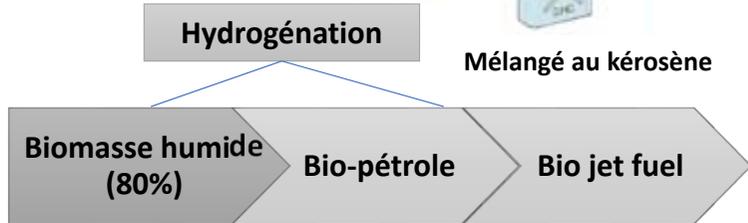
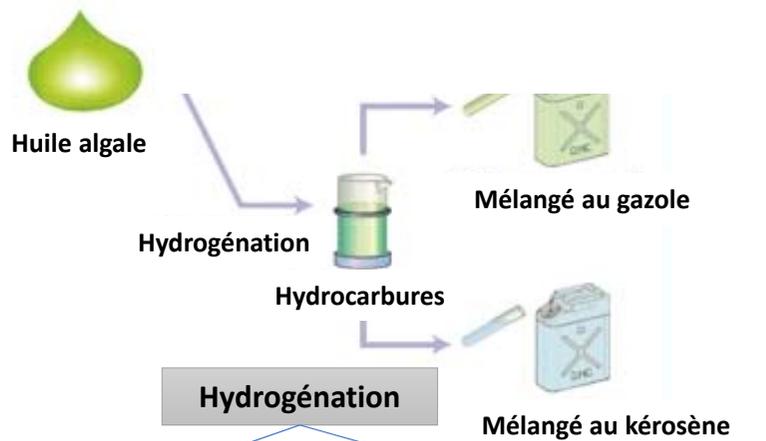


L'application Énergie: Autres biocarburants



L'application Énergie: Autres biocarburants





Liquefaction hydrothermale (250-300 °C , pression élevée: 50-200 bars, t de réaction: 0.2 -1h)

LHT+hydrocraking (350°C , pression de 120 bars en présence d'un catalyseur-Al)

Conversion de matière organique en constituants élémentaires

- Enlever les hétéro-atomes,
- Réduire la viscosité
- Améliorer la stabilité thermique
- Réduire le poids moléculaire





Huile algale



Hydrocracking (hautes température et pression)



Les **Algo**carburants au monde



Bio-pétrole



BFS (Espagne)

- **Cyanobactéries**
- **Souches marines**
- **Captage du CO₂ industriel**
- **Co-production de molécules**

Les **Algo**carburants au monde



Bio-diesel
Biojetfuel



Solazyme (EU)

- **Biodiesel BD**
- **Solajet (jetfuel)**

Les **Algo**carburants au monde



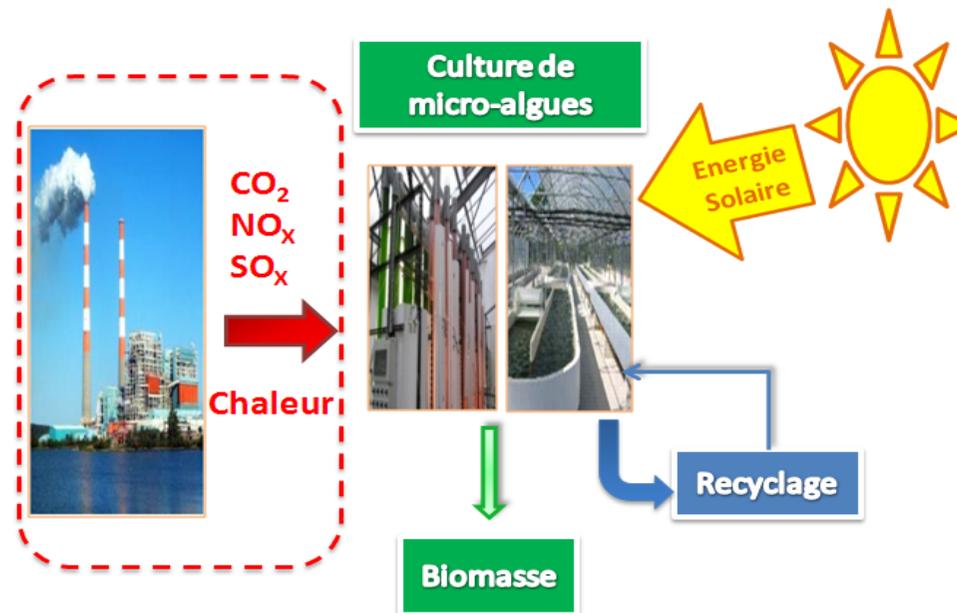
Bio-ethanol



Algenol (Mexique)

Les microalgues pour le captage du CO₂

- Les microalgues vivent de la photosynthèse
- CO₂ élémentaire (atmosphère, carbonates, rejets industriels)
- L'assimilation du CO₂ se fait pendant la phase éclairée
- Efficacité photosynthétique des microalgues ~ 10 X les plantes

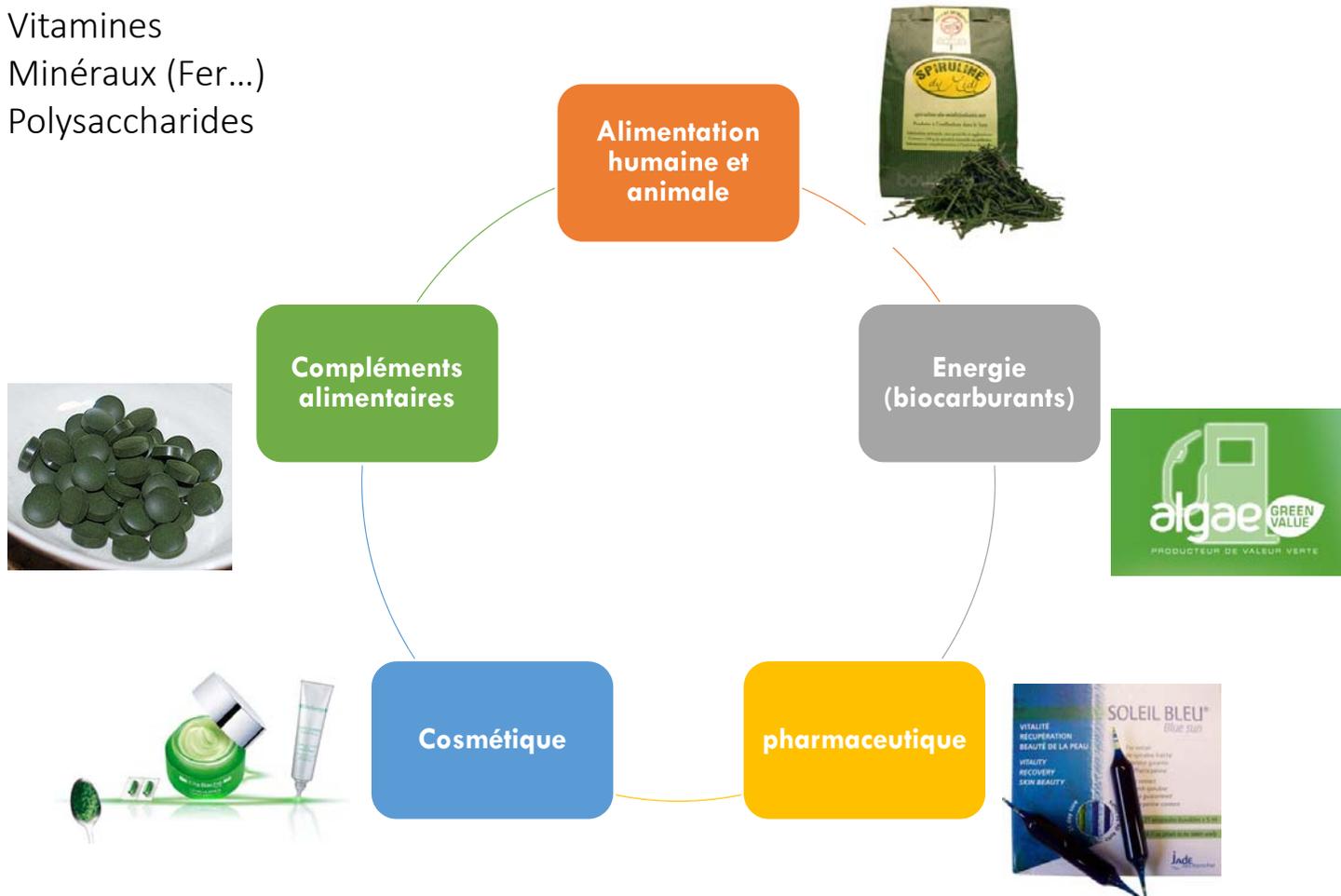


Les microalgues pour le captage du CO₂

- 1 tonne de microalgue consomme 2 tonnes de CO₂
- CO₂ non pure (NOx et SOx)
- **Etape 1**: Sélection des souches : intérêt économique+tolérance NOx et Sox
- Utilisables pour toutes les applications

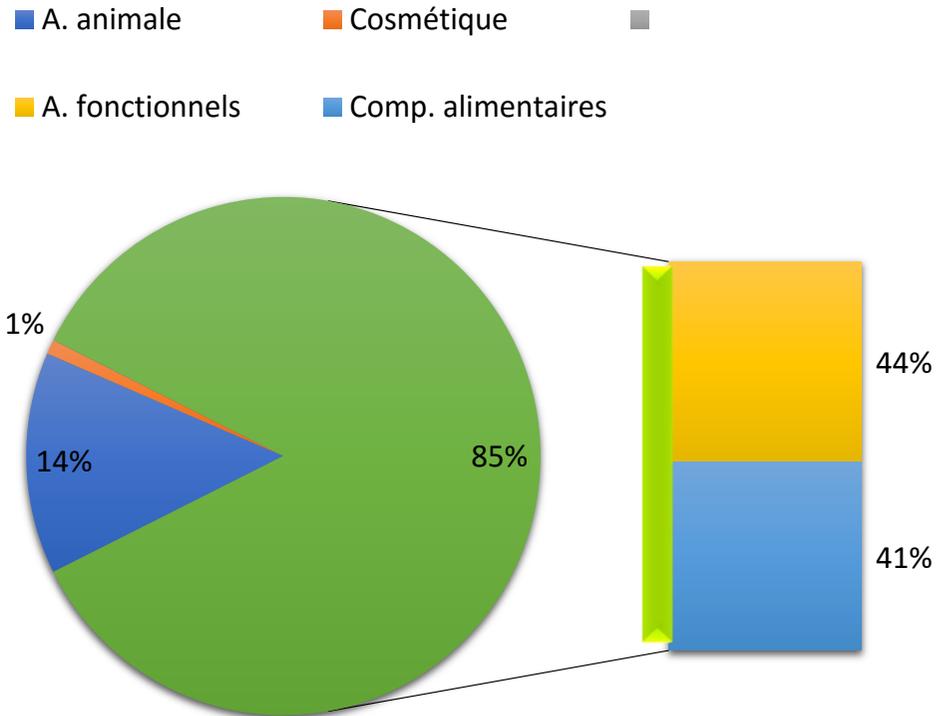
Les applications des microalgues

- ✓ Protéines: jusqu'à 70%
- ✓ Lipides: jusqu'à 50%
- ✓ Vitamines
- ✓ Minéraux (Fer...)
- ✓ Polysaccharides



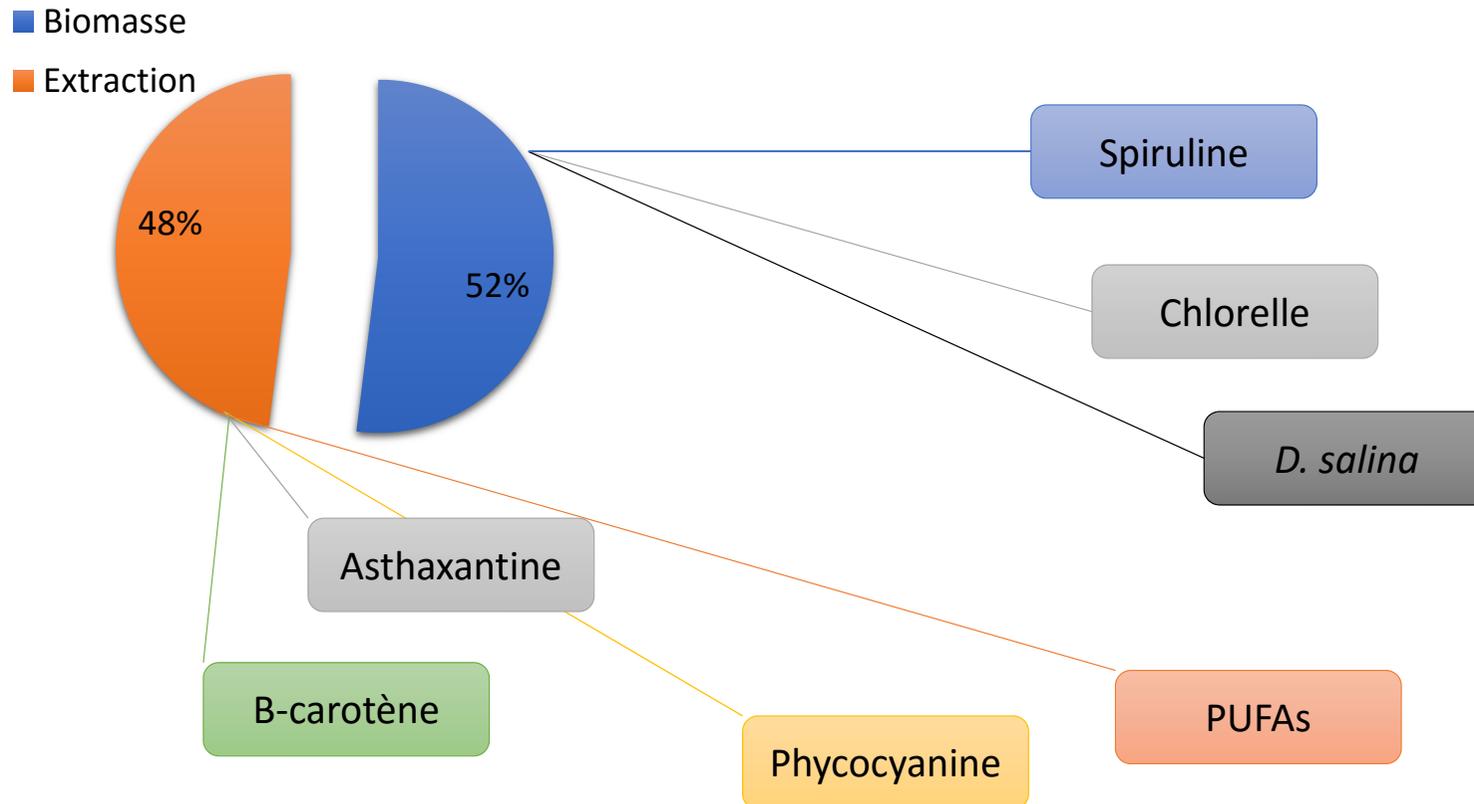
Les applications des microalgues

✓ 10 000 t de biomasse produite chaque année (2015)



Les applications des microalgues

Alimentation humaine



Extraits: Asthaxantine

Caroténoïdes



- ✓ Pigments tetraterpéniques liposolubles naturels
- ✓ Synthétisés par les plantes, algues et microalgues
- ✓ Plus de 700 carotenoides répertoriés
- ✓ Absorbent la lumière **bleu**
- ✓ Deux classes :
 - * Carotènes: betacarotene et lycopène,
 - * Xanthophylles: luteïne, **asthaxantine**, zeaxantine

Extraits: Asthaxantine

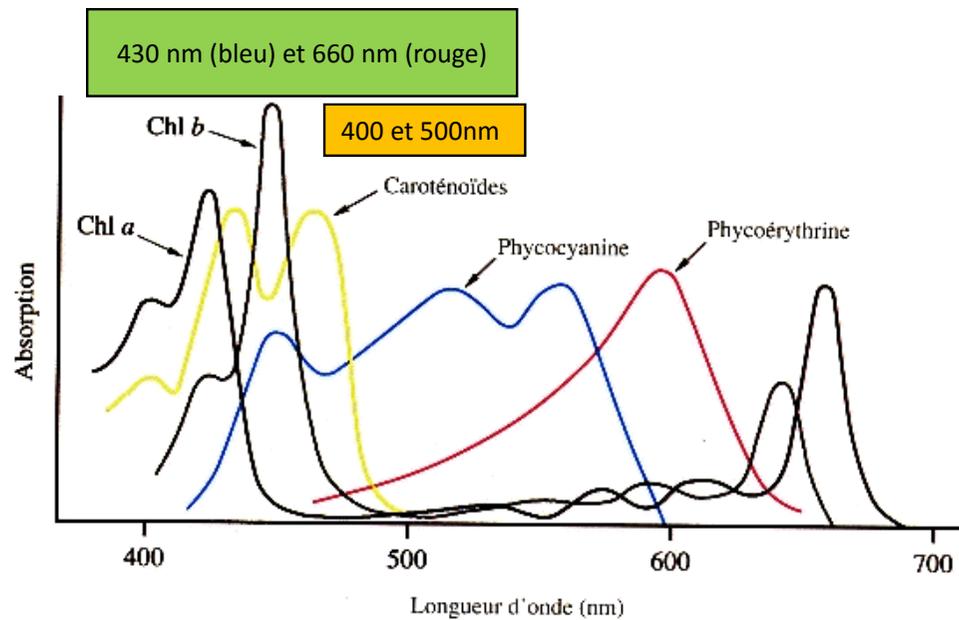
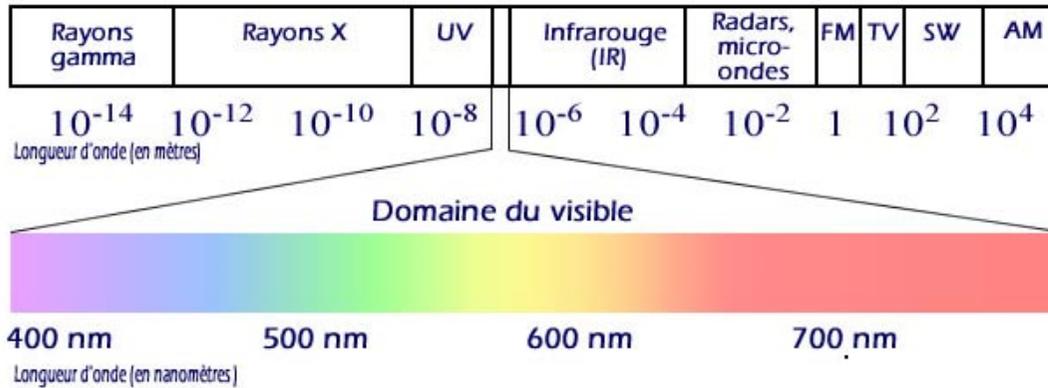


Rôle chez les végétaux

- Pigments accessoires de la photosynthèse
- Collecte la lumière dans les spectres entre violet et rouge et transfert à la chlorophylle

Extraits: Asthaxantine

Les pigments photosynthétiques absorbent la lumière visible



Extraits: Asthaxantine

✓ Prix au Kg: A. chimique= 25 000 / A. naturelle=70 000 DH/Kg

✓ Production d'asthaxantine (2014):

280 tonnes:

95% chimique: uniquement autorisée pour la pigmentation en aquaculture



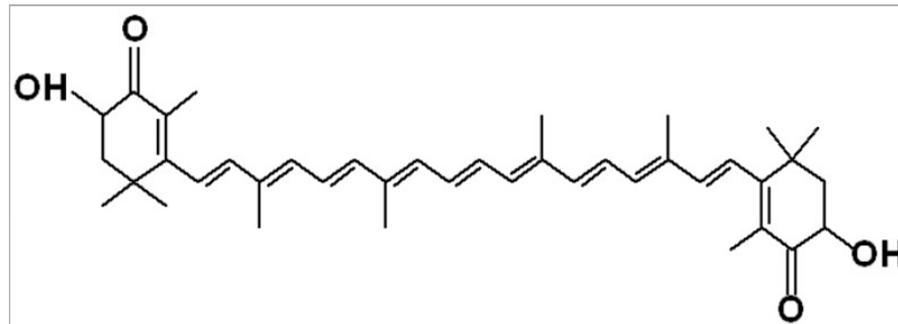
5% naturelle (14 t) et 1% de microalgues(**140 kg**)



Source	% PS
<i>H. pluvialis</i>	3.8
<i>Paracoccus carotinifaciens</i> (bactérie)	2.2
<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> (bactérie)	0.5
<i>Catenella repens</i> (algue)	0.02
<i>Pandalus borealis</i> (crustacé)	0.12

Extraits: Astaxanthine

- ✓ **L'astaxanthine** (dihydroxy-3,3' dioxo-4,4' β -carotène), se présentant sous forme d'un solide violacé
- ✓ Antioxydant **500 fois** plus puissant que la vitamine E
- ✓ Produite essentiellement à partir de *Haematococcus pulvialis* : chlorophycée biflagellée d'eau douce (20 μm de taille) qui accumule l'astaxanthine sous des conditions de stress salin, haute température ou privation de certains nutriments
- ✓ *Haematococcus*: première source d'astaxanthine, productivité de 2 à 25 mg/L/j



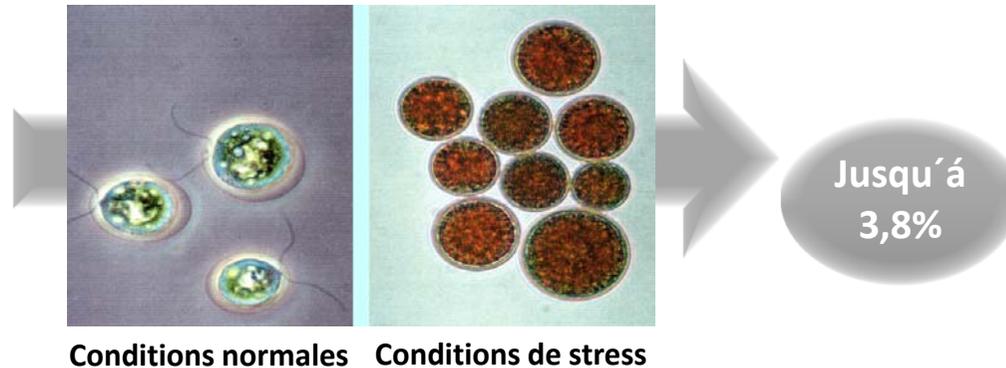
Extraits: Asthaxantine

Production

2 stades:

Stade vert: conditions de croissance optimale

Stade rouge: accumulation d'asthaxantine



Extraits: Asthaxantine

Production

Stade vert: conditions de croissance optimale

- Culture en photo-bioréacteur
- Phase mobile: accumulation de biomasse
- Nutriments disponibles
- Luminosité modérée



Stade rouge: accumulation d'asthaxantine

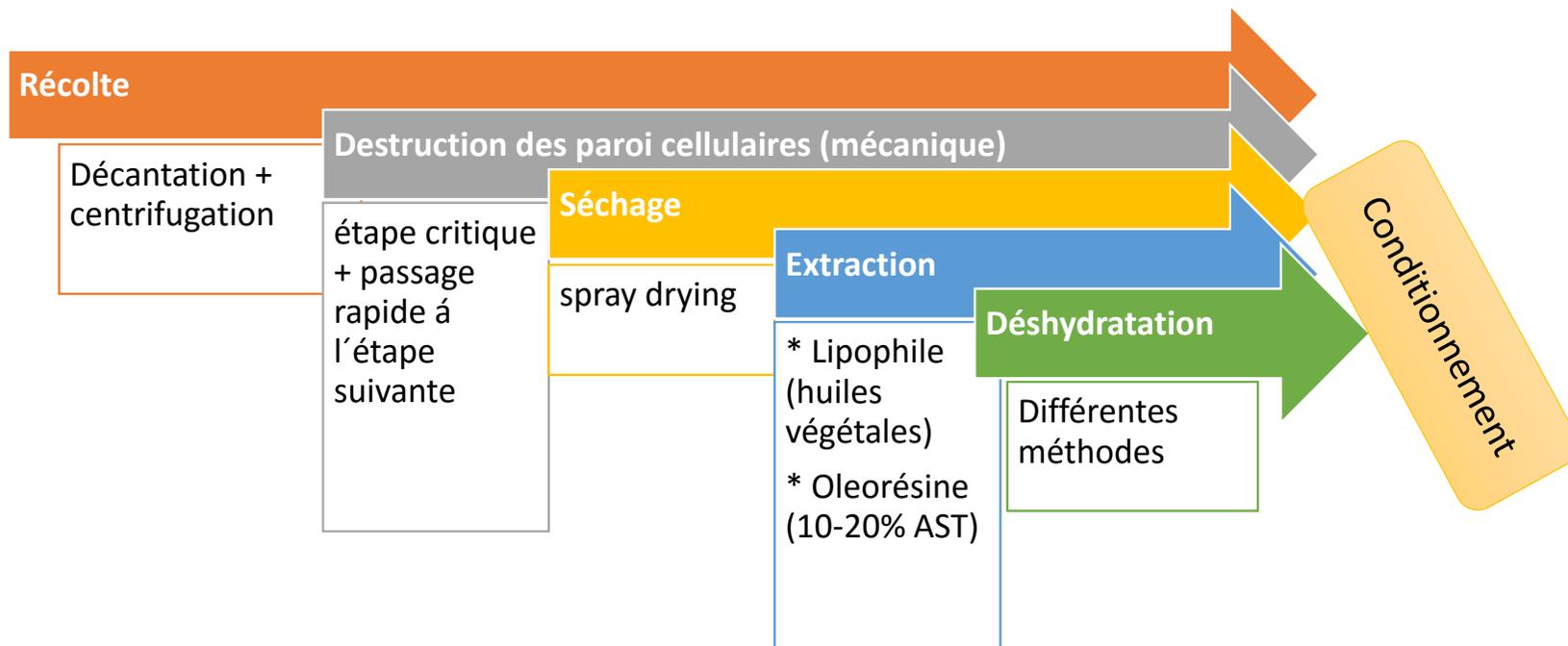
- Changement brutal des conditions de culture
- Perte des flagelles
- Accumulation d'asthaxantine



Extraits: Asthaxantine

Production

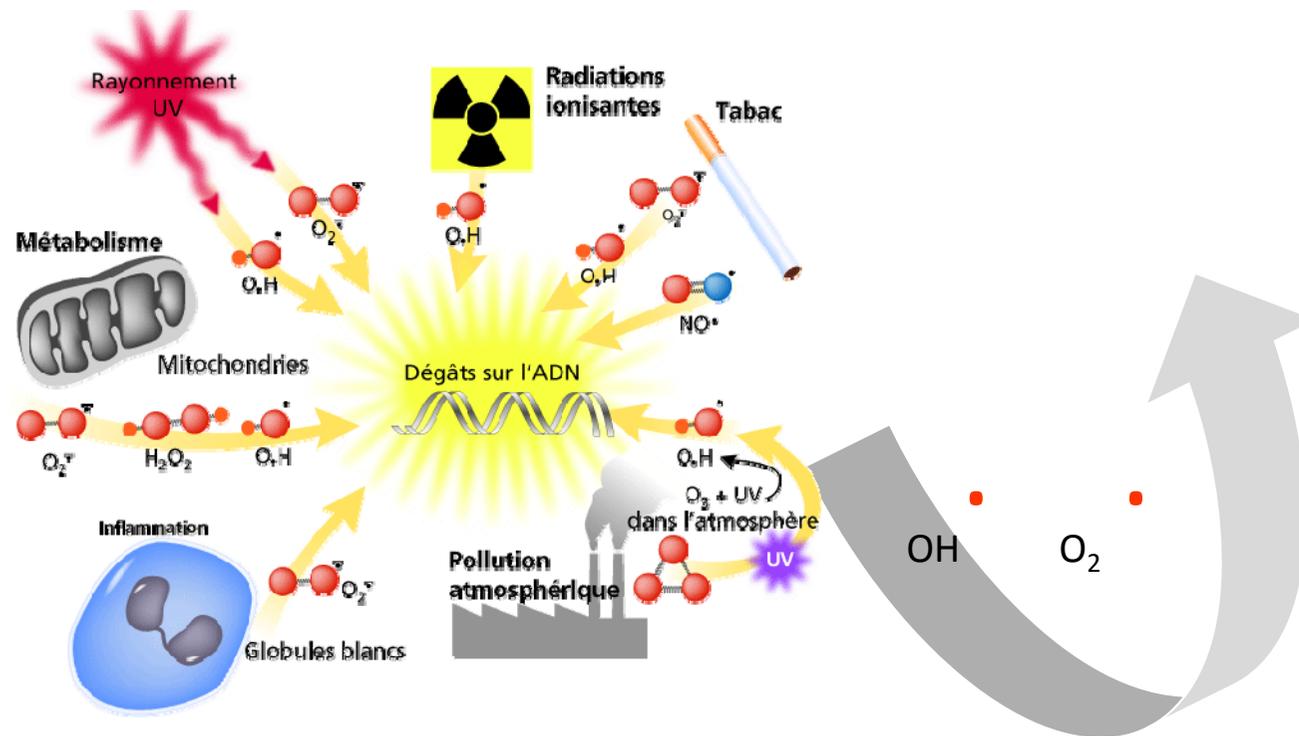
Stade rouge



Extraits: Asthaxantine

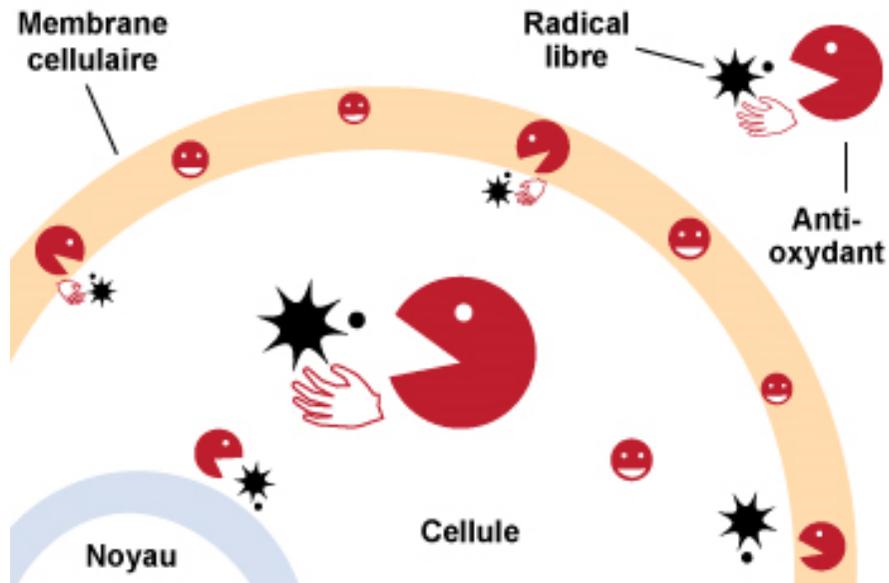
Bénéfices pour la santé

Combat le stress oxydatif (antioxydant fort)



Extraits: Asthaxantine

Bénéfices pour la santé



Extraits: Asthaxantine

Complément alimentaire

- Gélules
- Comprimés

Additifs alimentaires

- Colorants
- Antioxydant (conservateurs) **E161j**

Aliments fonctionnels

- Antioxydant
- Anti-prolifératif
- Anti-inflammatoire

Extraits: Asthaxantine

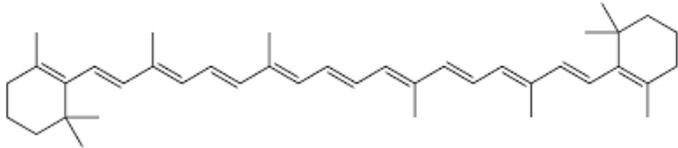
Exemple de production industrielle

Algaetechnologie

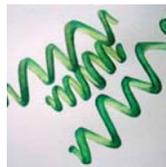
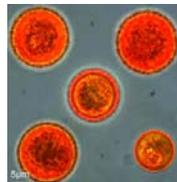
- 300 Km de photobioréacteurs tubulaires sur 4 ha de terrains arides
- Gamme Astapure[®] : liquide, gelules, poudre et granulée



Extraits: β -carotène



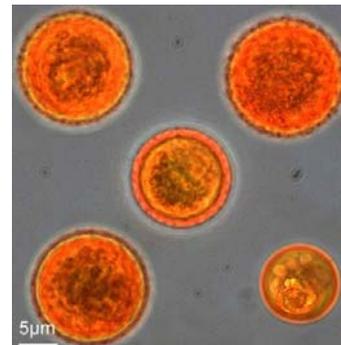
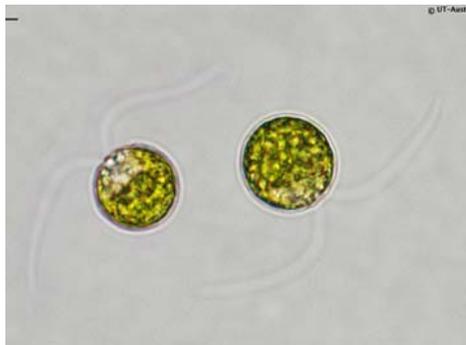
- ✓ La forme de carotène la plus répandue
- ✓ Plantes, algues et microalgues
- ✓ Absorbe les longueurs d'ondes entre 400 et 500nm



Extraits: β -carotène

Production

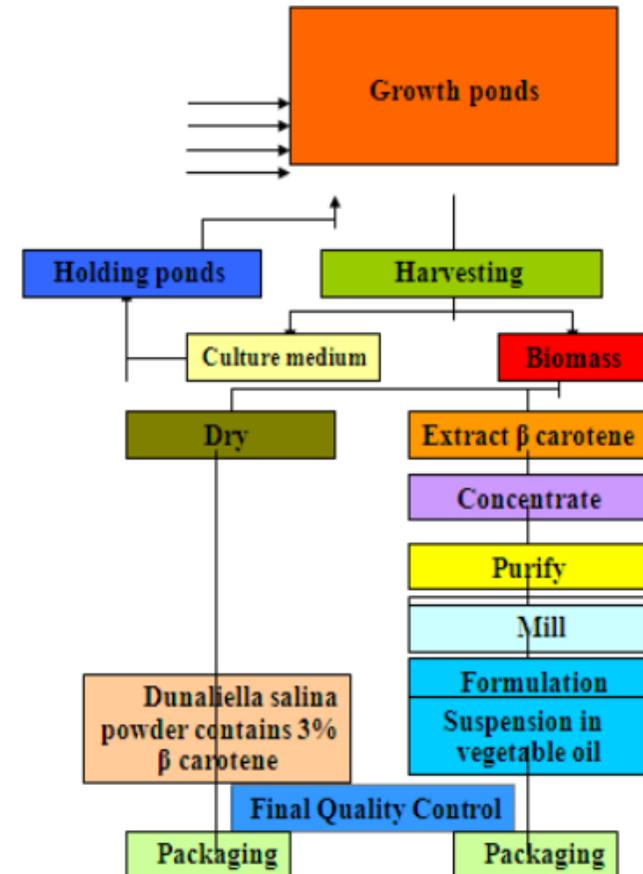
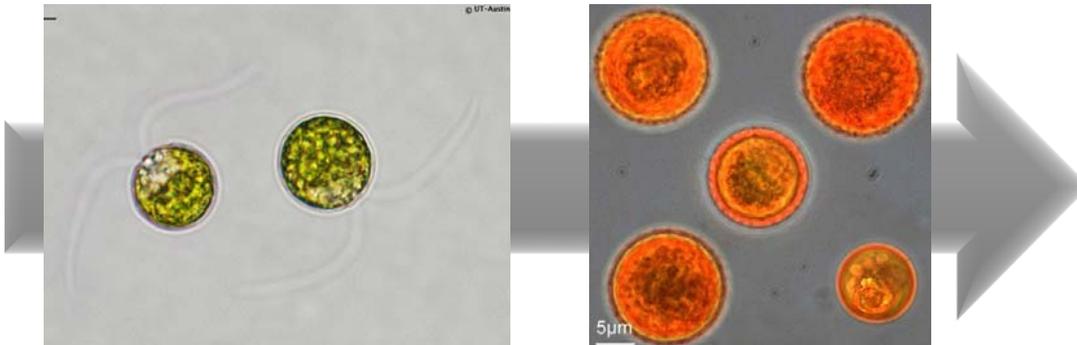
- ✓ *D. salina* est la première source naturelle: 3-14% du PS
- ✓ Microalgue d'eau saline, chlorophycée, biflagellée, halophyte (**2M NaCl**)
- ✓ *D. salina* (2,1 mg/100 g) > spiruline /0,3 mg/100g)
- ✓ 70 t de β -carotène produite en 2010 (*D. salina*)
- ✓ Production en 2 phases



Extraits: β -carotène

Production

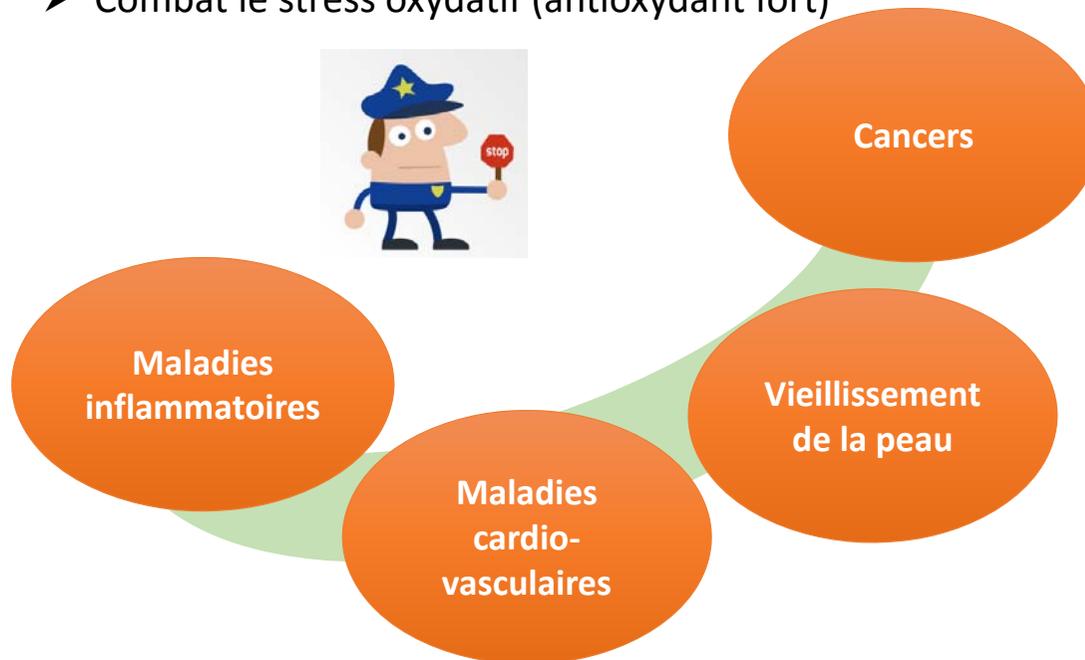
- ✓ Généralement dans des bassins ouverts
- ✓ Phase de croissance optimale
- ✓ Phase de stress (augmentation de la salinité)



Extraits: β -carotène

Bénéfices pour la santé

- Combat le stress oxydatif (antioxydant fort)



- Pro-vitamine A (Precursseur de vit A et rétinol)

Extraits: β -carotène

Complément alimentaire

- Gélules
- Comprimés
- Poudre

Additifs alimentaires

- Colorant
- **E160a (iv)**

Aliments fonctionnels

- Antioxydant
- Anti-prolifératif
- Anti-inflammatoire

Cosmétique

- Régénérateur
- Anti-UV
- Colorant

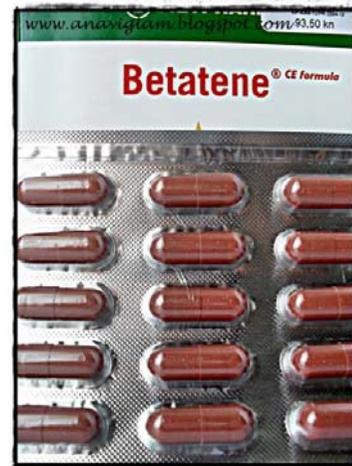


Extraits: β -carotène

Exemple de production industrielle

Cognis

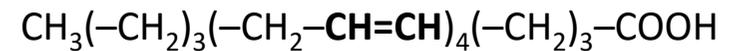
✓ 400 ha de lac salé (Australie)



Extraits: PUFAs

Acides gras poly-insaturés

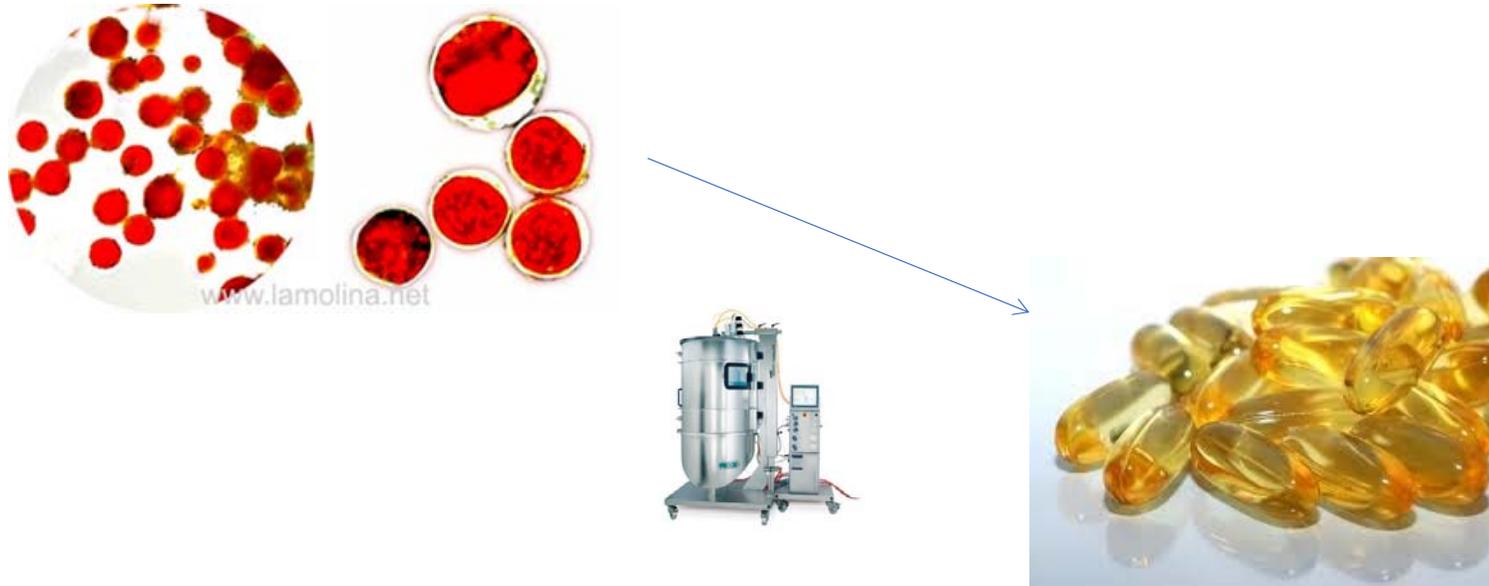
- ✓ Constituants de lipides
- ✓ Les AGPI essentiels: non synthétisés par le corps: **oméga 3** et **Ω 6**
- ✓ Sources: poissons, huiles végétales et algues



PUFA	Structure	Type de microalgues
γ-acide linoléique	18 :3	<i>Spirulina</i>
Acide arachidonique	20 :4	<i>Porphyridium</i>
Ac. eicosopentanoïque (EPA)	20 :5	<i>Nannochloropsis</i> , <i>Phaedactylum</i>
Ac. Docosahexaénoïque (DHA)	22 :6	<i>Cryptocodinium</i> , <i>Schizochytrium</i>

Extraits: PUFAs

- ✓ 3-5% de PUFA commercialisés sont issus de microalgues
- ✓ Les principales microalgues cultivées à l'échelle industrielle pour produire le DHA:
Cryptocodinium et *Schizochytrium*



Extraits: PUFAs

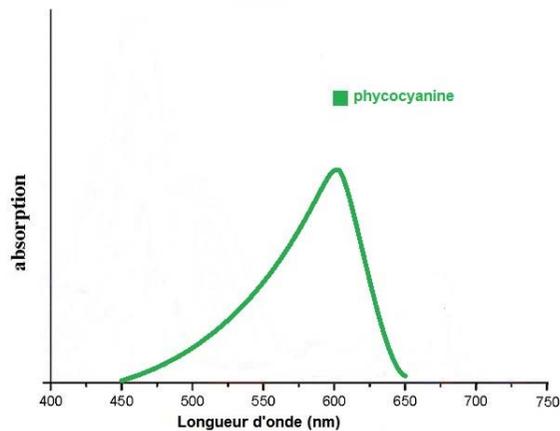
Bénéfices pour la santé

- la construction et le maintien des membranes des cellules, de la peau, des cellules nerveuses et de la rétine,
- la synthèse des hormones et les différents processus enzymatiques,
- Prévention des maladies cardiovasculaires
- le système immunitaire,
- la pression artérielle...

Extraits: phycocyanine

Phycocyanine

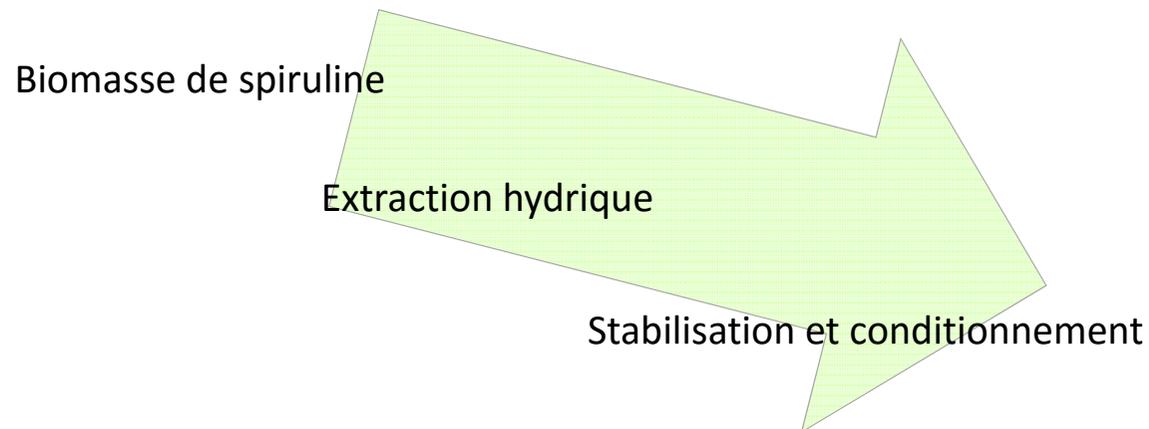
- ✓ Association de protéines (phycobillines) et de pigments
- ✓ Complexes collecteurs de lumière chez les cyanobactéries
- ✓ Pigment bleu (absorbe la lumière orange et rouge)
- ✓ Hydrosoluble



- ✓ Extraite de la spiruline (10-15%)
- ✓ Rôle antioxydant **20 x** plus que la vitC
- ✓ Favorise la croissance des cellules souches, plaquettes, globules blancs et rouges.

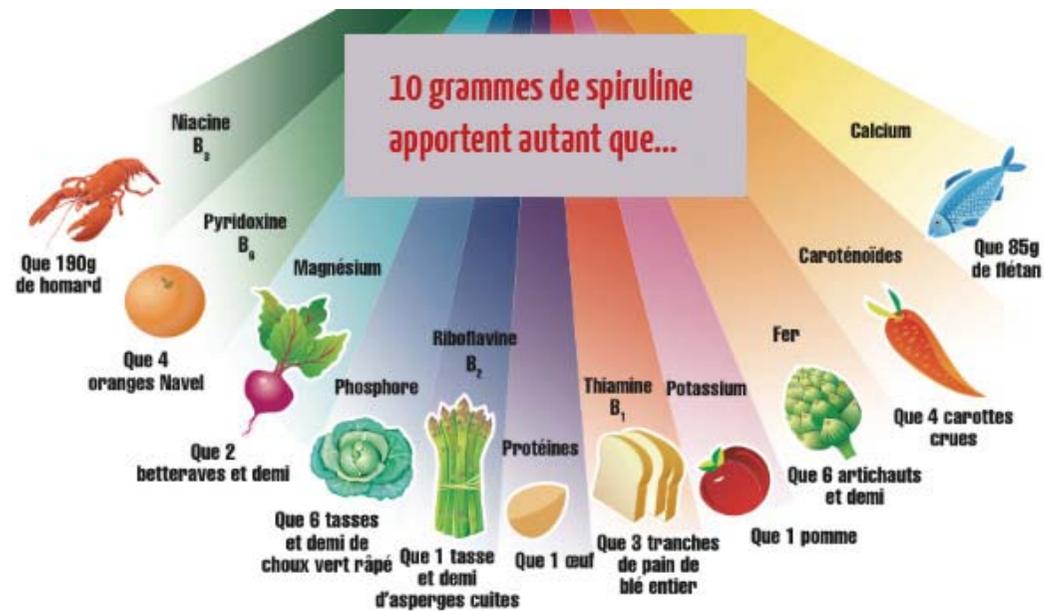
Extraits: phycocyanine

Production de la Phycocyanine

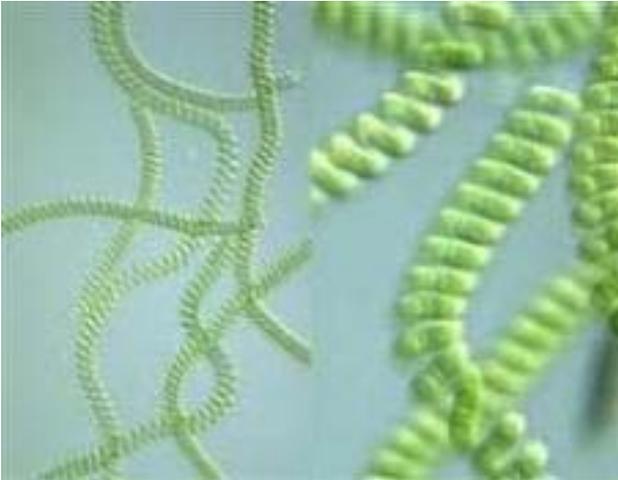


La biomasse: spiruline

- ✓ 10 000 t biomasse sèche chaque année.
- ✓ 7 microalgues cultivées pour des productions industrielles.
- ✓ La spiruline est la microalgue la plus cultivée (80%).
- ✓ Cinq fermes de production de microalgues au Maroc (spiruline).
- ✓ 1 Kg de spiruline coûte 1000-2000 DH.



La biomasse: spiruline



- ✓ Cyanophycée d'eau douce
- ✓ Jusqu'à 500 μm de long
- ✓ Tolère un pH élevé
- ✓ Cultivée exclusivement en bassins ouverts
- ✓ Température de croissance: 35 C
- ✓ Utilisée sous forme de compléments alimentaires



La biomasse: spiruline



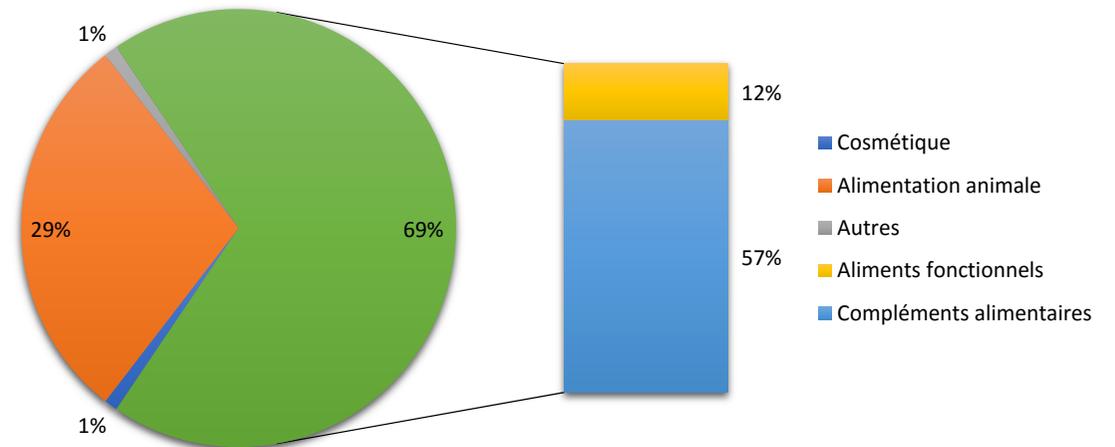
La biomasse: Chlorelle

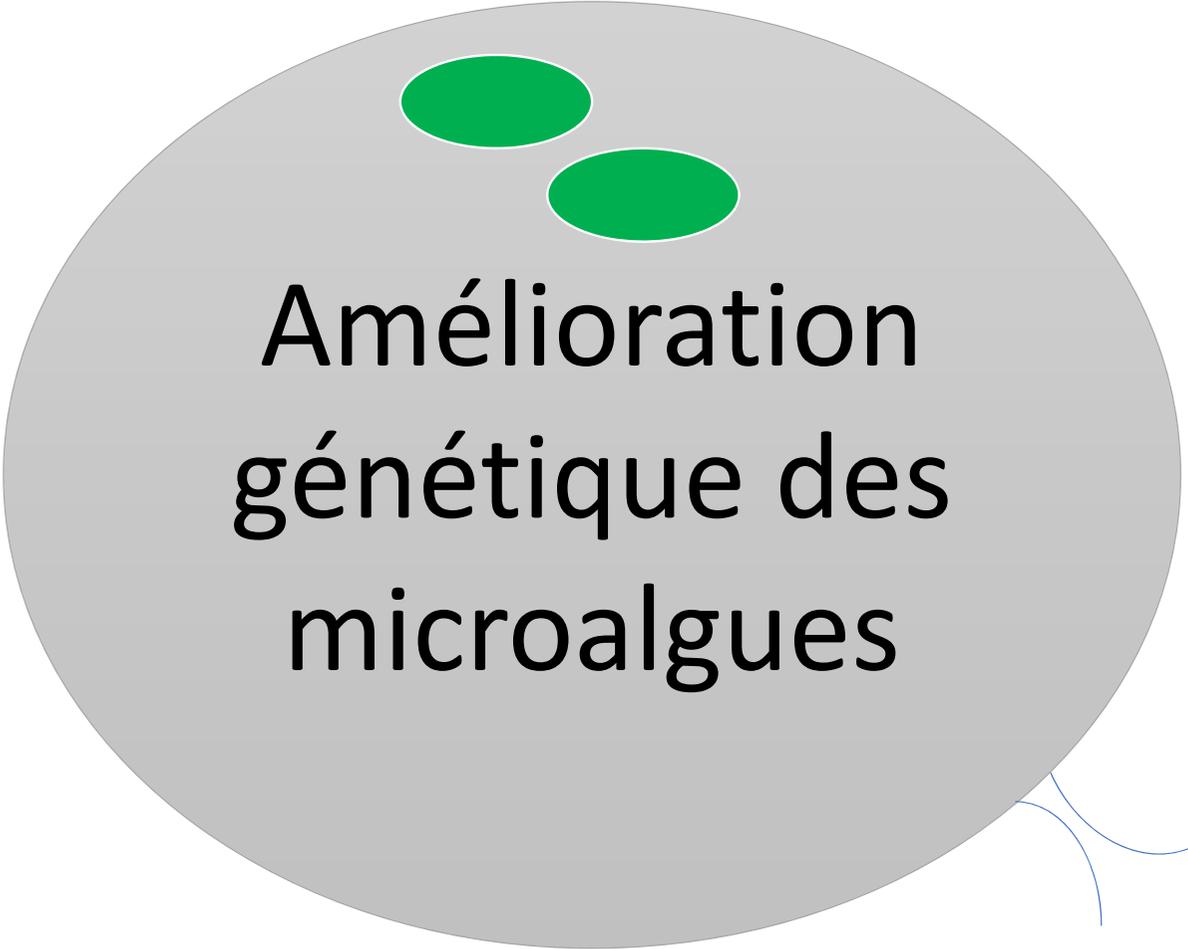
- Souches marines et d'eau douce
- Deuxième microalgue la plus cultivée
- La plus cultivée c'est la forme d'eau douce *C. vulgaris*



La biomasse: Chlorelle

- Cultivée en photobioréacteur
- 4500 t en 2010





Amélioration
génétique des
microalgues

Pourquoi?

1. Amélioration de l'efficacité photosynthétique
2. Amélioration directe de la productivité (biomolécules)

Historique

- Première microalgue séquencée
- Espèce modèle

*Chlamydomonas
reinhardtii*

Chlorophycée biflagellée de 10µm
Microalgue d'eau douce



Techniques utilisées

- **Electroporation**
- **Biolistique**
- ***Agrobacterium***
- **Agitation en présence de microbilles en verre nanopoudre de carbure de silicium**

Techniques utilisées

Plus de 30 espèces transformées génétiquement

Espèce	Objectif	Technique
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Améliorer l'expression du gène de la nitrate réductase	Nanopoudre de carbure de silice
<i>Amphidium sp</i>	Introduction du gène de l'hygromycine phosphotransferase	Nanopoudre de carbure de silice
<i>Symbiodinium microadriaticum</i>		Nanopoudre de carbure de silice
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Introduction du gène de résistance à la Zeocine & phleomycine	Biolistique
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Introduction du gène de l'hormone de croissance pour les poissons	Transformtion des protoplastes
<i>Dunaliella salina</i>	Antigen de Surface de l'hépatite B	Eletroporation
<i>Chlorella vulgaris</i>	Introduction du gène de résistance à l'hygromycine	Electroporation
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Phytochrome endogènes	Silenciemment de gène

Techniques utilisées

Plus de 30 espèces transformées génétiquement

Espèce	Objectif	Technique
<i>Euglena gracili</i>	Introduction du gène de résistance à la spectinomycine & streptomycine	Biolistique
<i>Clamydomonas reihardtii</i>	Introduction du gène de la nitrate reductase dans un mutant déficient	Nanopoudre de carbure de silice
<i>Chlorella Kessleri</i>	Introduction du gène de la b-glucosidase	Biolistique
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Augmenter la production d'EPA	mutagenèse
<i>Chlorella sp</i>	Améliorer la croissance	mutagenèse

Amélioration génétique

1. Mutagénèse

Largement étudiée: la plupart des microalgues sont haploïdes (même les mutants récessifs peuvent être produits asexuellement)

La plupart des travaux l'utilisent pour améliorer l'utilité des microalgues

Les agents chimiques (EMS), les plus utilisés
Les agents physiques: rayons gamma, UV, métaux lourds

Amélioration génétique

- Chaque stratégie de mutagenèse = un mode d'action
- Applicabilité: %mutants/%viabilité
- Le choix dépend des propriétés biologiques de la microalgue

Table 1

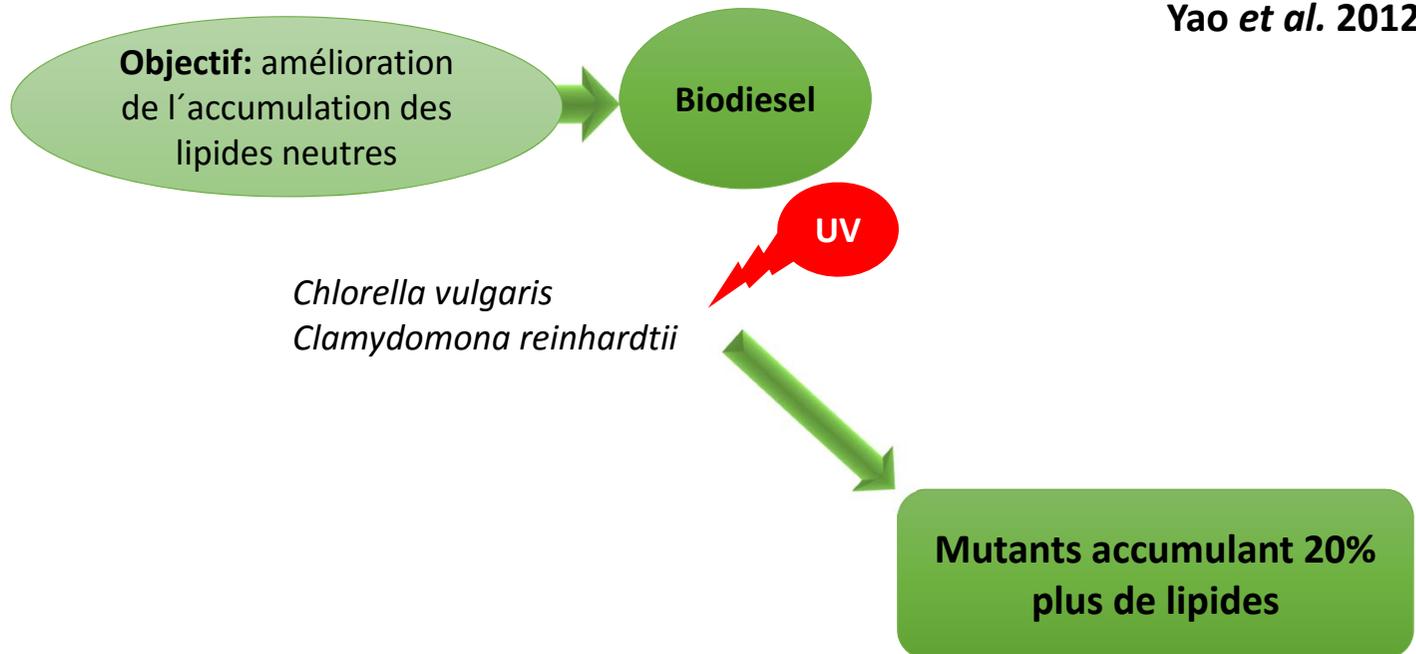
Different mutagens, their mode of action and mutations caused.

Mutagen	Mode of action	Most common mutation caused
EMS, MNNG	Alkylation of DNA base, particularly guanine	Point mutations
UV irradiation	Photochemical reaction leading to cyclobutane ring	Point mutations, deletions
Gamma irradiation	Ionization leading to double stranded break	Deletions
Heavy ion beams	Ionization leading to double stranded break	Chromosome breaks and exchanges
T-DNA, antibiotics resistance gene	DNA fragment insertion	Insertions, deletions

M. Hlavova et al. 2015

Mutagenèse

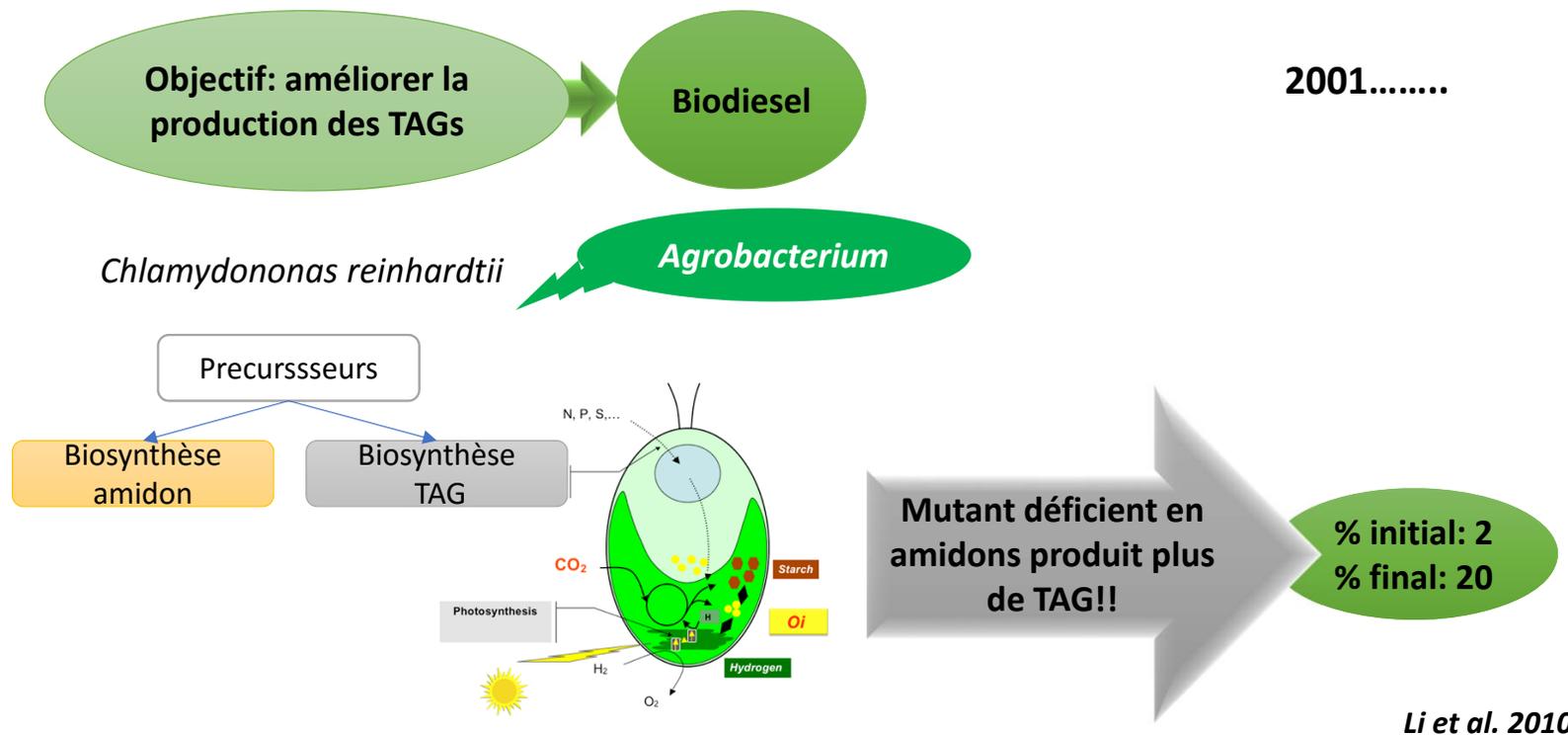
Exemples de microalgues améliorées par mutagenèse



Agrobacterium

Exemples de microalgues transformées avec *Agrobacterium*

- Très commune pour transformer les microalgues
- Comprendre le fonctionnement de certains gènes+amélioration



Agrobacterium

Étapes suivantes (en cours)

Développer des mutants déficients en amidon pour les espèces d'intérêt:

Scenedesmus obliquus (12% lipides)

Chlorella pyrenoidosa (10 % lipides)



Les espèces oléagineuses

Amélioration génétique

- ✓ Seules qq espèces dont on dispose d'information génétique et des outils pour faire de l'amélioration génétique
- ✓ Plusieurs années de génétique inversée (bloquer le gène pour comprendre son fonctionnement)

Table 3

Model organisms amenable to reverse genetics and synthetic biology.

Species	Taxonomic group	Available tools
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Green algae, Chlorophyceae	Genome sequence, genetic transformation, the most developed molecular toolkit, chloroplast gene targeting available, lacks nuclear gene targeting,
<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	Red algae, Cyanidiophyceae	Genome sequence, genetic transformation, developed molecular toolkit, gene targeting available
<i>Nannochloropsis</i> sp.	Heterokonts, Eustigmatophyceae	Genome sequence, genetic transformation, partially developed molecular toolkit, gene targeting available
<i>Ostreococcus tauri</i>	Green algae, Prasinophyceae	Genome sequence, genetic transformation, developed molecular toolkit, gene targeting available
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	Heterokonts, Bacillariophyceae	Genome sequence, genetic transformation, developed molecular toolkit, gene targeting by TALE available
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Heterokonts, Coscinodiscophyceae	Genome sequence, genetic transformation, partially developed molecular toolkit

M. Hlavova et al. 2015

Amélioration génétique

- ✓ Exploitation industrielle des microalgues à démarée dans les années 60
- ✓ Utilisation des wild type

Résultats de productivités à l'échelle industrielle et besoin d'amélioration

1960. Découverte du code génétique

1965. Découverte des enz de restriction

1977. Transfert de gènes /agrobacterium

1983. Développement de la PCR

2000. Séquençage de génome

Amélioration métabolique

✓ Les microalgues sont très sensibles aux conditions environnementales

✓ Conditions favorables



Conditions défavorables



Mécanismes de protection de la cellule



Redirection du métabolisme



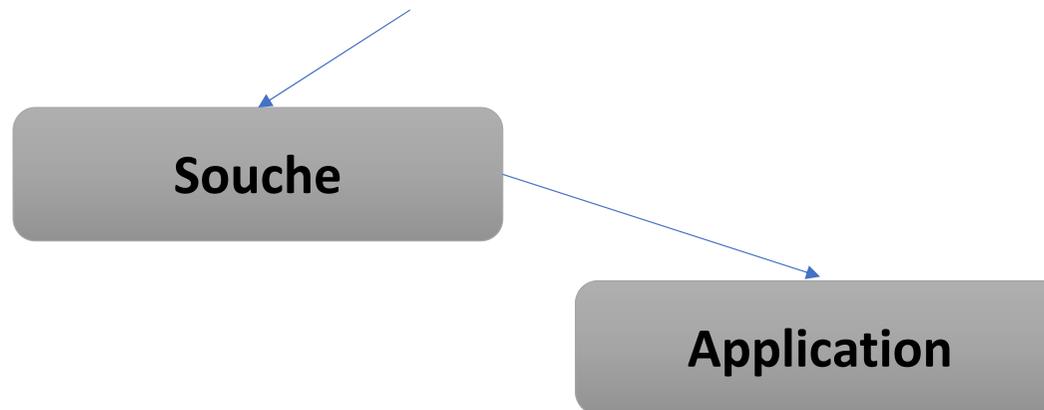
Synthèse de biomolécules (TAG, amidon, etc.)

Amélioration métabolique

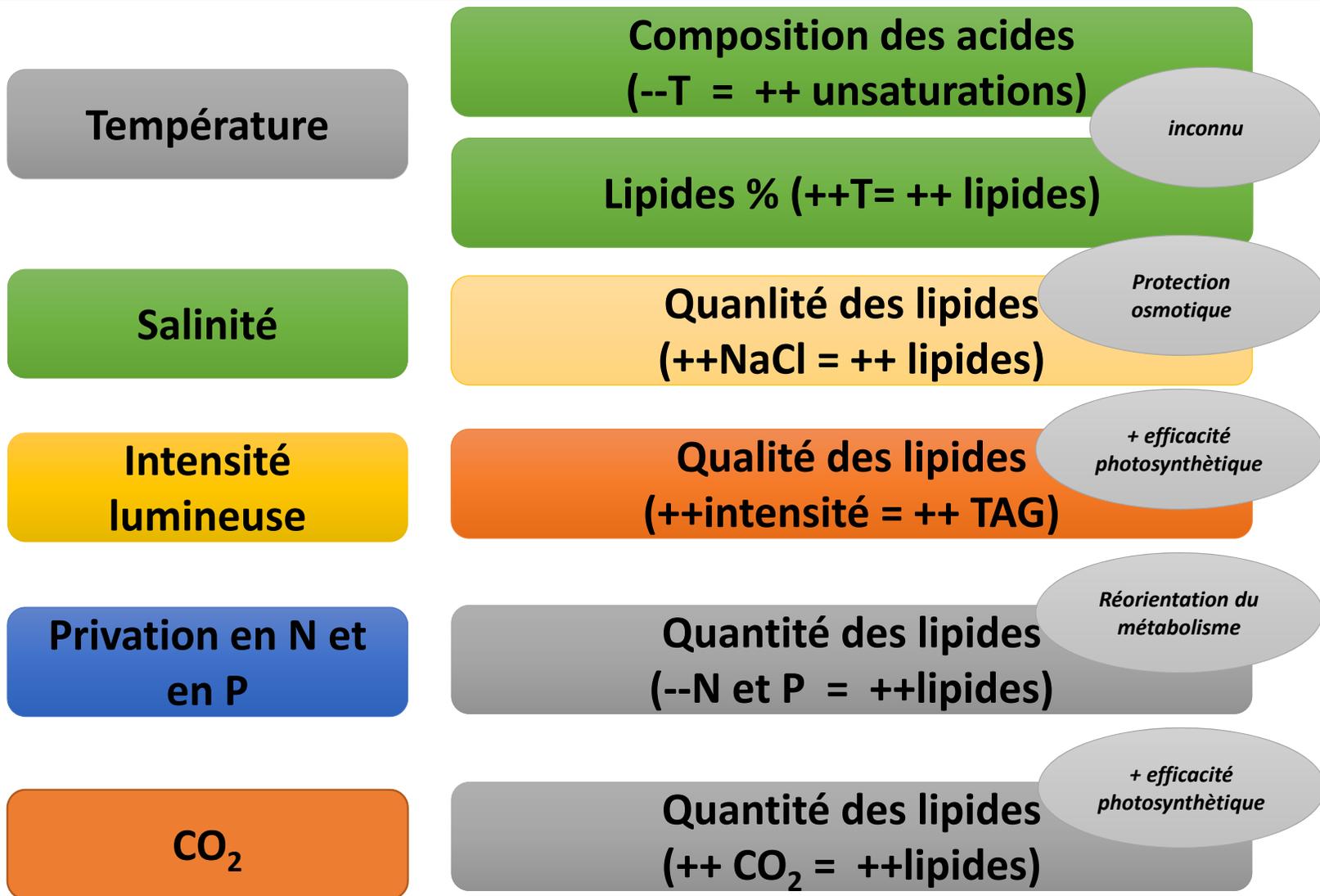
✓ Méthodes utilisées:

- * Stress nutritionnel: privation d'azote, P, ...
- * Stress osmotique: Augmentation NaCl
- * Stress lumineux
- * Autres (CO₂, température, ...)

✓ Choix de la méthode dépend de



Amélioration métabolique



Amélioration métabolique

Température

% des caroténoïdes
(++intensité = ++ caroténoïdes)

*Résistance aux
ROS*

Salinité

% des caroténoïdes
(++intensité = ++ caroténoïdes)

*Résistance aux
ROS*

Intensité
lumineuse

% des caroténoïdes
(++intensité = ++ caroténoïdes)

*Résistance aux
ROS*

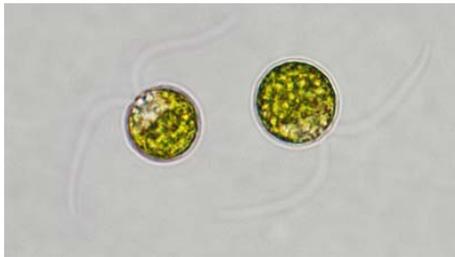
Privation en N, P, K

% des caroténoïdes
(--NPK = ++ caroténoïdes)

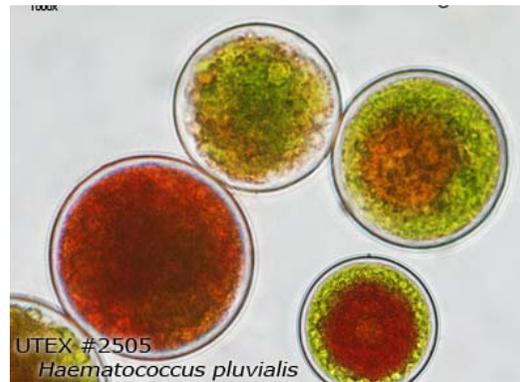
*Réorientation du
métabolisme*

Amélioration métabolique

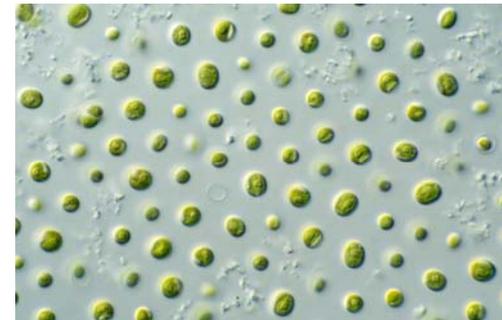
1. *Chlorella protothecoide*
2. *Haematococcus pluvialis*
3. *Dunaliella tertiolecta*
4. *Dunaliella salina*
5. *Nannochloropsis salina*



1. Caroténoïdes, lipides (biodiesel)
2. Asthaxantine
3. Lipides
4. B-carotène
5. PUFA



1. Stress salin
2. Stress salin
3. Stress salin
4. Stress salin
5. Stress nutritionnel



Limites

Métabolisme secondaire



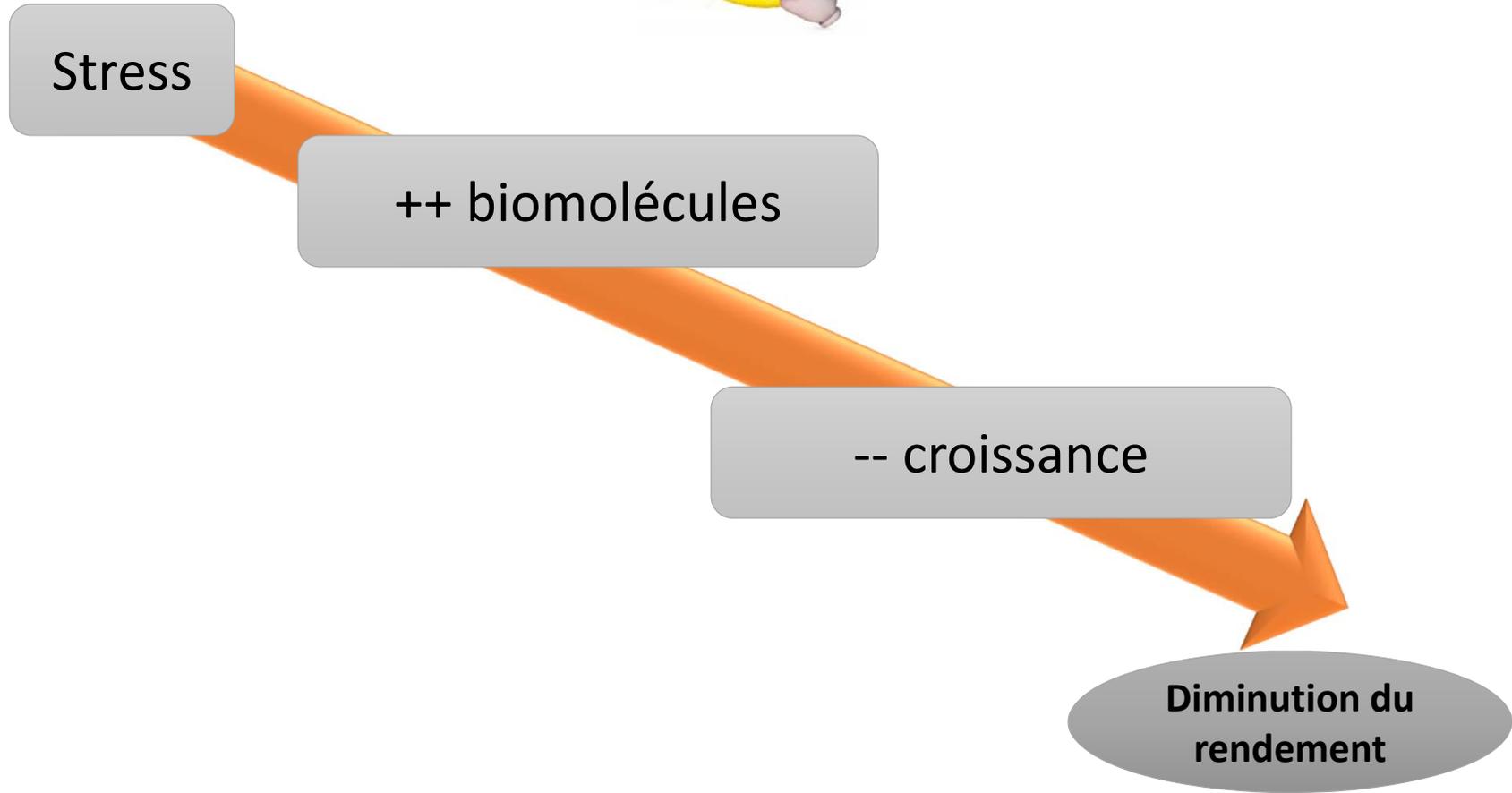
Métabolisme primaire

Stress

++ biomolécules

-- croissance

Diminution du rendement



Solution

1. Métabolisme primaire

++ croissance (normal
ou stimulée)



2. Métabolisme secondaire

Stress

++ biomolécules

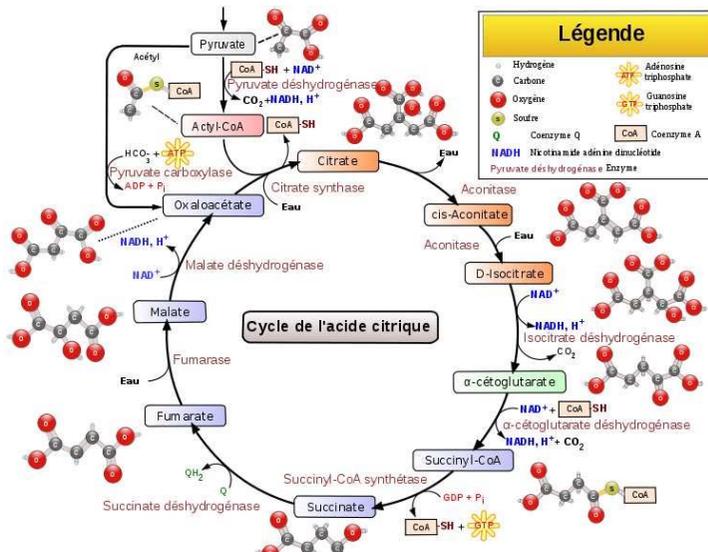
Rendement
amélioré

Amélioration á l'échelle industrielle

Industriels utilisant des microalgues modifiées

- Algenol Biofuels
- Aurora Biofuels
- AXI LLC
- Global Green Solutions

- Amélioration métabolique de cyanobactéries
- Produire de l'éthanol directement
- Expression des enzymes: pyruvate decarboxylase & alcool déshydrogénase: conversion du pyruvate du cycle de Krebs en acétaldéhyde et en éthanol



Amélioration à l'échelle industrielle

Industriels utilisant des microalgues modifiées

- Algenol Biofuels
- Aurora Biofuels
- AXI LLC
- Global Green Solutions
- Kuehnle AgroSystems
- Planktonix Corporation
- Sapphire Energy
- Solazyme
- Synthetic Genomics
- Targeted Growth

Souches transformées (non OGM) ayant une doublé capacité de capter le CO₂ et production améliorée de biodiesel

Souches améliorées pour produire plus de diésel et propriétés physiologiques pour faciliter la récolte

• Souches transgéniques ayant une croissance rapide destinées à la production de biodiesel

Microalgues transgéniques pour l'aquaculture et le production de biocarburant