

ÉCOPHYSIOLOGIE DE L'AGAROPHYTE *GRACILARIOPSIS LONGISSIMA* (RHODOPHYCEAE, GRACILARIALES)

Ikkal HRIMILE¹, Aziza MOURADI^{1*}, Laila BENNASSER¹,
Azzeddine ELMIDAOU², Nadia CHIADMI¹ et Thierry GIVERNAUD³

¹Laboratoire de biochimie, biotechnologie et environnement, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, BP. 133, 14 090 Kénitra, Maroc.

²Laboratoire Procédés de séparation, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, BP. 133, 14 090 Kénitra, Maroc.

³STECOF, 5 Lot. Johara, Bir Rami Est, 14 090 Kénitra, Maroc.

(Reçu le 15 Mai 2009, accepté le 27 Septembre 2009)

* Correspondance et tirés à part, e-mail : mouradi14@gmail.com

RÉSUMÉ

L'étude de l'écophysiologie en conditions contrôlées de l'agarophyte *Gracilariopsis longissima* Gmelin (Rhodophycée, Gracilariales) à été réalisée au laboratoire sur des échantillons récoltés sur la lagune de Sidi Moussa située sur les côtes atlantiques à 36Km au Sud d'El Jadida.

La croissance de l'espèce a été étudiée en fonction de la densité algale, de la lumière, de la quantité et la qualité de l'azote, des phosphates, de la salinité et des carbonates.

L'approche expérimentale consiste à évaluer l'effet d'un facteur écologique sur la croissance alors que les autres paramètres sont maintenus constants.

L'étude de l'influence de ces facteurs sur la croissance de *Gracilariopsis longissima* montre que les conditions optimales de sa croissance sous conditions contrôlées sont : une densité algale de 2g. L⁻¹, une intensité lumineuse de 100 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$, un apport en carbonates de 15mM, 0,1mM de phosphore, une concentration de 1mM d'azote sous forme de nitrate d'ammonium ou de nitrate de sodium.

Mots-clés : *Gracilariopsis longissima*, Rhodophyceae, écophysiologie

ABSTRACT

Ecophysiology of agarophyte *Gracilariopsis longissima* (Rhodophyceae, Gracilariales)

The ecophysiological study in controlled conditions of the agarophyte *Gracilaria longissima* Gmelin has been done on seaweed samples collected

from Sidi Moussa lagoon located on Moroccan Atlantic coast 36km south of El Jadida.

The growth in culture of this species has been studied according to the density, light intensity, concentration and source of nitrogen, salinity, concentration in phosphate and carbonates.

The effect of the variation of each factors was tested separately (other factors were maintained constant).

The optimal growth conditions for *Gracilariopsis longissima* are : an algal density of 2g l^{-1} , light intensity of $100\mu\text{mol.m}^{-2}\text{ s}^{-1}$, Carbonate concentration 15mM, Phosphate 0.1mM, Nitrogen 1mM as sodium nitrate or ammonium nitrate

Keywords : *Gracilariopsis longissima*, *Rhodophyceae*, *ecophysiology*

I - INTRODUCTION

Le Maroc est le seul pays africain possédant une industrie développée d'exploitation des algues marines. Il est le troisième producteur mondial d'agar, extrait principalement de *Gelidium sesquipedale*. Cette ressource naturelle montre des signes de surexploitation [1, 2].

Par ailleurs, la demande croissante en matière première de l'industrie des gélifiants au Maroc a provoqué ces dernières années un intérêt important pour d'autres agarophytes tels que les Gracilariales pour pallier à la surexploitation et l'insuffisance des stocks naturels.

Sur la côte atlantique marocaine, les Gracilariales sont largement distribuées, plusieurs travaux taxonomiques, écophysologiques, morphologiques, et biochimiques ont été effectués sur les Gracilariales dans notre laboratoire [3-12] afin de définir les espèces potentiellement exploitables.

Le choix de l'algue rouge *Gracilariopsis longissima* est lié à son abondance sur la façade maritime marocaine et aux bons résultats des tests de culture en milieu naturel.

L'objectif de ce travail est de déterminer les conditions optimales de croissance de *Gracilariopsis longissima* en conditions contrôlées pour vérifier son intérêt économique.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Matériel

Gracilariopsis longissima est une agarophyte permanente [13], très commune sur la lagune de Sidi Moussa. Son thalle offre l'aspect d'une touffe constituée chacune par des frondes cylindriques de couleurs rouge sombre, d'une

longueur pouvant atteindre 150cm, portant des rameaux secondaires et tertiaires, également cylindriques (**Figure 1**).

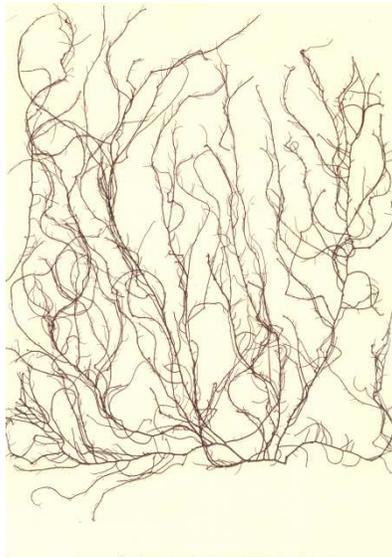


Figure 1 : Thallose de *Gracilariopsis longissima* récolté à Sidi Moussa en mai 2005.

II-2. Présentation du site de récolte

La lagune de Sidi Moussa se situe sur la côte atlantique marocaine ($32^{\circ}52'00''$ N, $8^{\circ}51'05''$ W). Elle est située à 36 Km au Sud d'El Jadida (**Figure 2**).

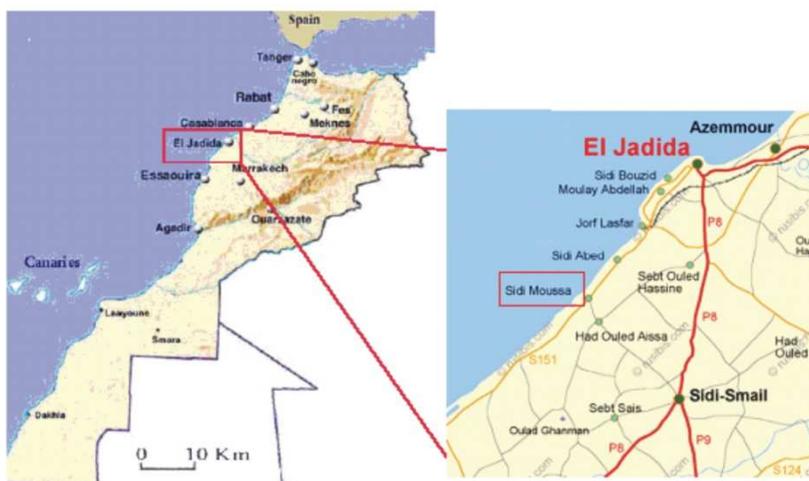


Figure 2 : Localisation géographique de la lagune de Sidi Moussa.

II-3. Méthodes de culture

Au laboratoire, les thalles de *Gracilariopsis longissima* sont triés pour ne garder que les frondes jeunes, non épiphytées et en bon état. Les algues sont ensuite lavées avec de l'eau de mer filtrée et mises en culture dans des conditions standards pendant au moins 2 semaines (eau de mer filtrée salinité 35‰, température 18°C, Intensité lumineuse $200\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$, photopériode 16 : 8 (lumière : obscurité) jusqu'à leur utilisation. Cette préculture permet d'homogénéiser les lots d'algues et d'avoir des thalles dans un état physiologique comparable pour toutes les expérimentations.

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

Le milieu de culture est constitué par de l'eau de mer filtrée (diamètre de pores $0,45\mu\text{m}$), puis enrichi en azote sous forme de NaNO_3 (1mM) et en phosphate sous forme de $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ (0,1mM). Ce milieu est renouvelé une fois par semaine. À chaque renouvellement, les algues sont nettoyées. Après essorage, la masse d'algues est pesée puis ramenée à sa valeur initiale. La croissance est déterminée par l'augmentation de la matière fraîche entre chaque renouvellement du milieu. La croissance est exprimée en % par jour en utilisant la formule de [14] :

$$V = \frac{100}{(t_1 - t_0)} \times \text{Log} \frac{Pt_1}{Pt_0} \quad (1)$$

V : vitesse de croissance en % par jour

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

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

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

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

- ✓ Densité algale : 5 densités de culture ont été testées (0,5; 1; 1,5 ; 3; 6; et 10g.L⁻¹).
- ✓ Intensité lumineuse : 10 intensités lumineuses ont été étudiées (0; 20; 40; 60; 80; 100; 150; 180; 200 et 220μmol.m⁻².s⁻¹).
- ✓ Salinité : les salinités testées sont 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4 et 4,5 %. Elles sont obtenues à partir de l'eau de mer (dont la concentration habituelle varie entre 3,4 et 3,5 %) ajustées par ajout d'eau distillée ou de NaCl.
- ✓ Concentration en carbonates : les concentrations testées sont 0; 5; 10; 15; 20 et 30mM de bicarbonates (sous forme de NaHCO₃).
- ✓ Concentration en nitrates : les apports complémentaires en nitrates testés sont 0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8 et 10mM. Pour toutes ces concentrations le rapport N/P a été maintenu à 10 par ajustement des apports de phosphate dans le milieu.
- ✓ Nature de la source azotée : le nitrate de sodium (1mM), le chlorure d'ammonium (1mM), le nitrate d'ammonium (0,5mM) et l'urée (0,5mM) ont été testés. Les concentrations des différents sels ont été calculées pour avoir une concentration finale de 1mM d'azote.
- ✓ Concentration en phosphates : différentes concentrations de phosphate sous forme de Na₂HPO₄, 2H₂O (0; 0,02; 0,05; 0,1; 0,13; 0,2; 1 et 1,5mM) ont été utilisées.

III – RÉSULTATS

III-1. Influence de la densité algale sur la croissance

Les résultats illustrés dans la *Figure 3* révèlent que l'espèce présente une vitesse de croissance maximale pour des densités inférieures à 3g L⁻¹ et que le maximum est enregistré à 1,5mg L⁻¹. Les algues se trouvant à des densités de 10g L⁻¹ se décolorent, se nécrosent et finissent par mourir.

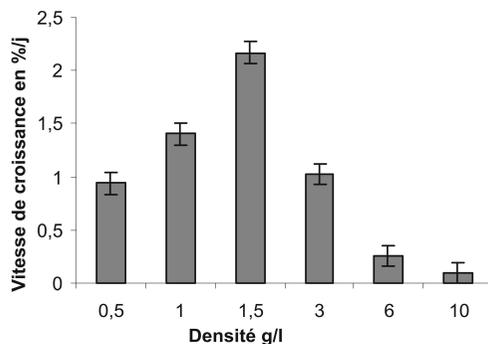


Figure 3 : Évolution de la vitesse de croissance en fonction de la densité algale.

Température $18 \pm 1^\circ\text{C}$; Intensité lumineuse $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en NaNO_3 (0,1mM) et NaH_2PO_4 (0,01mM).

III-2. Intensité lumineuse

L'étude de l'influence de l'intensité lumineuse sur la croissance de *Gracilariopsis longissima* (**Figure 4**) montre que cette espèce tolère une gamme allant de 80 à $180 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ à partir de cette intensité lumineuse la croissance diminue et devient létale à $220 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Les faibles intensités lumineuses entraînent une faible croissance, les thalles conservent leur coloration. A l'obscurité la croissance est nulle et le thalle conserve une bonne consistance.

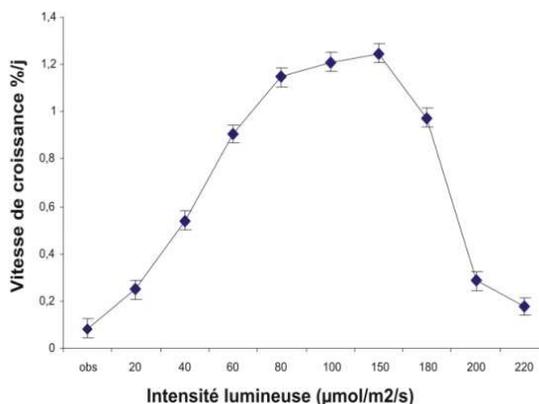


Figure 4 : Influence de l'Intensité lumineuse sur la croissance des fragments de thalle de *G. longissima* en culture.

Température $18 \pm 1^\circ\text{C}$; Intensité lumineuse $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en NaNO_3 (0,1mM) et NaH_2PO_4 (0,01mM).

III-3. Salinité

Les résultats obtenus (**Figure 5**) montrent que l'espèce ne tolère pas les faibles salinités. La croissance augmente ensuite avec la salinité pour devenir optimal à 3,5%. A la salinité de 4,5% les thalles ne survivent plus.

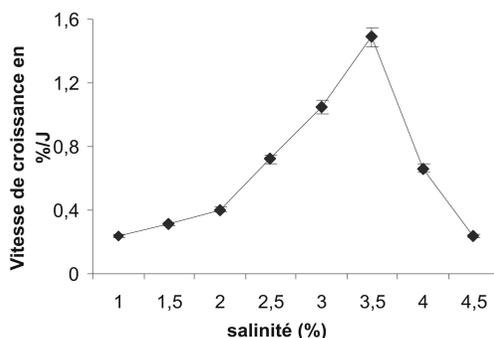


Figure 5 : Influence de la salinité du milieu sur la croissance de fragments de thalles de *G. longissima* en culture.

Température $18\pm 1^{\circ}\text{C}$; Intensité lumineuse $70\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en NaNO_3 (0,1mM) et NaH_2PO_4 (0,01mM).

III-4. Carbonates

La **Figure 6** montre que l'optimum de croissance est atteint lorsque la concentration en NaHCO_3 est de 15mM ; au delà de cette concentration, les bicarbonates agissent défavorablement sur la croissance.

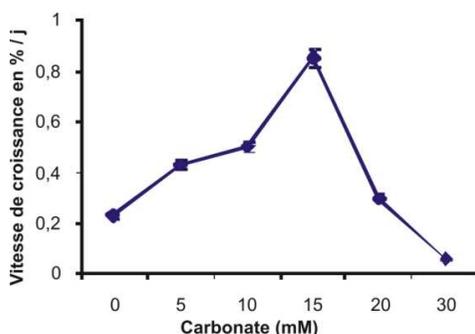


Figure 6 : Influence de la teneur en carbonates du milieu sur la croissance de fragments de thalles de *G. longissima* en culture.

Température $18\pm 1^{\circ}\text{C}$; Intensité lumineuse $70\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en NaNO_3 (0,1mM) et NaH_2PO_4 (0,01mM).

Pour le témoin, la croissance n'est pas significativement différente par rapport à celle obtenue à la concentration de 5mM de HCO_3^- , ceci s'explique par l'agitation de milieu qui favorise la disponibilité des bicarbonates dans le milieu de culture.

III-5. Nitrates

L'analyse des résultats obtenus (**Figure 7**) montre que *Gracilariopsis longissima* peut croître dans un milieu dépourvu de nitrates et conserve un bon état physiologique. A une concentration de 1mM les thalles sont très ramifiés et atteignent une croissance maximale. Au de la de cette concentration la croissance diminue puis se stabilise à des valeurs assez faibles.

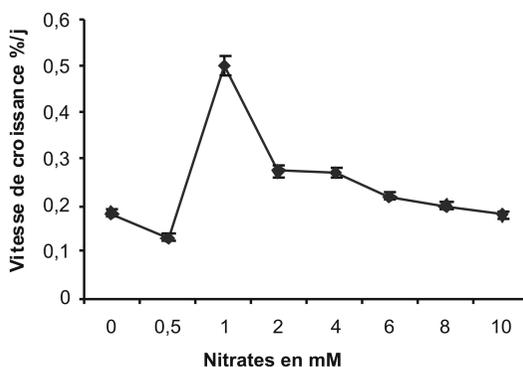


Figure 7 : Influence de la teneur en nitrates du milieu sur la croissance de fragments de thalles de *G. longissima* en culture.

Température $18 \pm 1^\circ\text{C}$; Intensité lumineuse $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et avec un rapport N/P = 10.

III-6. Source d'azote

Les résultats obtenus (**Figure 8**) montrent que l'algue n'absorbe pas de la même manière les différentes formes azotées. L'enrichissement azoté avec les nitrates d'ammonium et les nitrates de sodium semble être favorable à la croissance, tandis que l'azote sous forme d'urée ou de chlorure d'ammonium offre une faible croissance. Bien que le nitrate d'ammonium fournisse une plus grande croissance, nous avons remarqué que la vitesse de croissance diminue avec le temps. On peut conclure que l'azote sous forme de nitrate de sodium est le mieux absorbé par *G. longissima*.

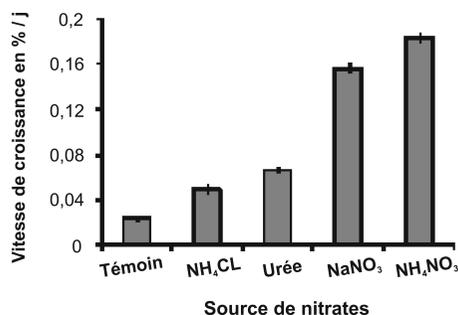


Figure 8 : Influence des différentes formes d'azote sur la croissance de fragments de thalles de *G. longissima* en culture.

Température $18 \pm 1^\circ\text{C}$; Intensité lumineuse $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et avec un rapport N/P = 10. Même concentration en N pour chaque source d'azote: NaNO_3 et NH_4Cl (1mM) et NH_4NO_3 et NH_2CONH_2 (0,5mM); Témoin : eau de mer.

III-7. Phosphates

Les résultats résumés dans la

Figure 9 montrent qu'un apport en phosphates de l'ordre de 0,1mM entraîne une bonne croissance de l'algue. Au delà de cette concentration, le phosphate inhibe la croissance alors que les segments de thalle cultivé dans un milieu dépourvue de phosphore, présente une croissance similaire avec celle cultivés à une concentration de 0,02mM.

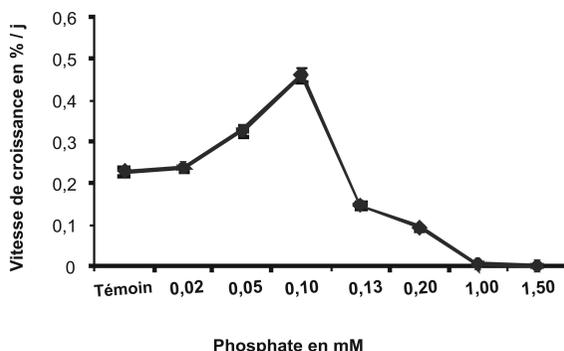


Figure 9 : Influence de la teneur du milieu en phosphates sur la croissance des fragments de thalles de *G. longissima* en culture.

Température $18 \pm 1^\circ\text{C}$; Intensité lumineuse $70 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; Photopériode 16:8; Milieu de culture: eau de mer filtrée renouvelée tous les 7 jours et enrichie en NaNO_3 (0,1mM).

IV - DISCUSSION

La densité algale est un facteur rarement pris en considération dans les cultures au laboratoire alors qu'il est pris en considération dans les fermes aquacoles ou dans les essais de culture en milieu extérieur [15, 16]. Nos expériences montrent que ce facteur a une influence non négligeable sur la croissance de *Gracilariopsis longissima*. Ces résultats concordent avec des nombreux travaux antérieurs [17] sur *Gelidium latifolium*, [18] sur *Gracilaria Gracilis*, [3] sur *Gracilaria multipartita* et ceux de Khlalqa [6] sur *Gracilaria vermiculophylla*. Des résultats similaires sont obtenus par Beer et Levy [19] sur des populations de *Gracilaria* sp. Ces auteurs ont montré que la vitesse de croissance diminue de moitié après quatre semaines en culture contrôlée, lorsqu'après chaque renouvellement du milieu culture, la densité algale n'est pas ramenée à sa valeur initiale. Lapointe [20] en (1981) a montré que la vitesse de croissance augmente parallèlement avec la densité algale jusqu'à une valeur de $(4,8\text{kg}\cdot\text{m}^{-2})$ au-delà de laquelle elle diminue.

La lumière représente l'un des facteurs les plus importants pour la culture des algues [21]. Plusieurs études montrent que l'optimum de croissance des Gracilariales se situe à $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ [7-9, 22, 23]. Nos résultats s'opposent à ceux obtenus sur *Gracilaria lemaneiformis* qui ne tolère pas les fortes intensités lumineuses et particulièrement les UV [24].

La salinité influence indirectement les concentrations en oxygène et en gaz carbonique nécessaires à la vie de l'algue. Aussi, elle intervient dans les processus d'osmorégulation des cellules. Certains mécanismes enzymatiques de l'algue se trouveraient modifiés par le stress salin (déficience en phosphatase et galactosidase [25]).

La tolérance à la salinité a été étudiée chez plusieurs espèces de Gracilaires [26]. En effet, parmi les Gracilariales certaines espèces sont euryhalines [27, 28] et présentent un optimum de croissance pour des salinités voisines de celles de l'eau de mer [9]. Ces résultats corroborent ceux que nous avons observés chez *Gracilariopsis longissima* qui développe une croissance maximale à une salinité de 3,5%.

Le carbone inorganique dissout (DIC) dans l'eau de mer inclut le CO_2 (CO_2 libre, H_2CO_3 , 3HCO^- et 3CO_2^-). Toutes les plantes aquatiques utilisent le CO_2 ou les 3 carbonates pour leur activité photosynthétique [29]. Les concentrations de ces deux formes de carbone varient en fonction de l'activité photosynthétique ou respiratoire, de la température atmosphérique, de la sédimentation et de l'agitation [30].

Généralement, le pH est voisin 8,2. Il est en grande partie maintenu par le système tampon carbonates/bicarbonates dont le rapport est égal à 150 [31].

G. longissima utilise également le HCO_3^- comme source exogène du carbone pour surmonter les limitations de CO_2 [32], cette utilisation est liée aux variations physicochimiques du milieu [33]. Zou et al. [34] indiquent que *Gracilaria lemaneiformis* peut aussi utiliser HCO_3^- .

Nos résultats sur *G. longissima* concordent avec les auteurs précédemment cités. Cette espèce atteint son optimum de croissance à 15mM de HCO_3^- . Ces résultats diffèrent de ceux d'El Gourji [3] qui avait montré que la croissance de *Gracilaria multipartita* s'annule complètement à cette concentration et s'oppose à ceux de Menéndez et al. [35] qui prouvent que *G. verrucosa* a une croissance plus élevée à des concentrations plus faibles en HCO_3^- . L'azote, est également un élément indispensable à la croissance et à la production des algues en mariculture [36].

Des études ont montré que certains algues rouges, telles que les espèces de Gracilariacées croissent mieux dans les conditions où l'apport d'azote est sous forme d'ammonium [15, 37]. Buschmann et al. [38] confirment ces résultats chez *Gigartina skottsbergii* qui présente une meilleure croissance en présence d'ammonium plutôt qu'avec les nitrates. Tandis que chez d'autres espèces, telles *Chondrus crispus* et *Soliera chordalis*, les nitrates sont préférés [39, 40].

Gracilariopsis longissima utilise les deux formes d'azote, de même que *Gracilaria cornea* [41]. Cependant les taux de croissances chez *G. longissima* sont plus importants en milieu enrichi en ammonium, ces résultats concordent avec ceux de *Gracilaria multipartita* [3] mais différent de ceux obtenus de *Gracilaria vermiculophylla* [6] pour laquelle l'ion ammonium serait toxique. Par ailleurs, *Gracilariopsis longissima* assimile aussi l'azote sous forme organique (urée). Cette dernière entraîne une faible croissance chez *Gracilariopsis longissima*, *Gracilaria vermiculophylla* [6] et *Gracilaria multipartita* [9].

La concentration en azote est l'un des facteurs les plus importants pour la croissance. Pour mieux comprendre l'absorption et l'assimilation de l'azote, plusieurs études ont été réalisées notamment, celles de Pickering et al. [42], qui constatent que plus le flux total d'azote est élevé, plus la production des Gracilariacées est importante. Alors que Friedlander et al. et Friedlander [43, 44] précisent que les meilleurs taux de croissance sont obtenus avec des concentrations en azote de l'ordre de 100 à 500 μM . *G. longissima* présente une saturation à 1mM; ce qui diffère de *Gracilaria gracilis* morphe rouge qui présente une croissance importante à 9mM [45], alors que des concentrations en azote supérieures à 4mM, entraînent une inhibition du développement du thalle aussi bien chez *G. longissima* que chez *Gracilaria multipartita* [3, 9].

Ainsi, il a été longtemps montré que l'absorption de l'azote est liée à celle du phosphore. Ces deux nutriments agissent sur la croissance et le métabolisme des algues. Pour une meilleure croissance des algues, le rapport

nitrate/phosphate doit être égal à 10 [46]. En général, le phosphate constitue rapidement un facteur limitant pour la production de la biomasse des algues en milieu extérieur [36]. Pour des concentrations de l'ordre de 1mM ; la croissance de *G. longissima* est complètement inhibée alors que la concentration de 0,1mM s'est révélée convenable. De nombreuses macroalgues peuvent accumuler le phosphore sous forme inorganique ou organique en cas de besoin, il serait donc important de vérifier si *G. longissima* est capable de stocker le phosphate.

V - CONCLUSION

L'optimum de croissance est obtenu pour une densité algale de 1,5g.L⁻¹ sous un éclairage en lumière blanche avec une intensité lumineuse comprise entre 160 et 170 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, des concentrations de 1mM en nitrate d'ammonium, 0,1mM en phosphates et 15 mM en carbonates sous forme de NaHCO₃. La meilleure salinité est celle de l'eau de mer (3,5%).

Les résultats obtenus montrent que l'espèce *Gracilariopsis longissima* possède une tolérance assez large aux principaux facteurs du milieu. Toutefois, contrairement à la majorité des autres gracilaires, elle semble être mieux adaptée aux conditions du littoral qu'à des milieux estuariens et lagunaires comme la plupart des gracilaires, alors qu'elle vit sans problème dans ces milieux lagunaires, ce qui confirme sa forte tolérance aux variations de la salinité.

Il serait intéressant de monter un système de culture qui tient compte des interactions de ces différents facteurs comme cela a été fait pour *Gelidium latifolium* [17].

Remerciements

Ces travaux de recherche entre dans le cadre de la collaboration française AI : MA/01/20 que nous tenons à remercier vivement. Nous remercions également nos partenaires français qui nous en aidé à travailler dans de bonnes conditions, ainsi que la Setexam.

RÉFÉRENCES

- [1] - Th. GIVERNAUD, A. MOURADI, A. HASSANI, R. AKALLAL, and J. RIYABI. Design of a new technique for reseeding of over harvested bed of *Gelidium sesquipedale* (Turn.) Thuret (Rhodophyta, Gelidiales) in Morocco. Proceeding of the 17th international seaweed symposium; Cap town. Eds. A.R.O. Chapman? R.J. Anderson, V. Vreeland & T.R. Davison, Oxford University press. (2003) 123-130.

- [2] - Th.GIVERNAUD, N. SQALI, O. BARBAROUx, O. ORBI, Y. SEMAOUI, N. REZZOUM, R. KASS, and A. MOURADI. Mapping and Biomass estimation for harvested population of *Gelidium sesquipedale* (Turn.) Thuret (Rhodophyta, Gelidiales) along the atlantic coast of Morocco, *Phycologia*. 44 (1) (2005) 66-71.
- [3] - A. El GOURJI. Etude de la croissance et de la biochimie de l'agarophytes *Gracilaria multipartita* (Rhodophyceae, Gracilariales). Thèse de Doctorat, Université Ibn Tofail, Kénitra-Maroc. (1999) 190 .
- [4] - A. El GOURJI, A. MOURADI, Th. GIVERNAUD and R. KARIM. Etude écophysio-logique de l'agarophyte *Gracilaria multipartita* (Rhodophytes, Gracilariales). Proceedings on the First International Conference on Biodiversity and Natural Resources Preservation ; Al Akhawayn Ifrane, (1999) 294-299.
- [5] - Th.GIVERNAUD, A. MOURADI, M. SERGENT, M. PELLEGRINI, R. Phan Tan LUU and J. COSSON. Effects of ecological factors on the growth of the agarophyte *Gelidium latifolium* (Greville) Thuret et Bornet. Proceedings on the first international conference on biodiversity and natural resources preservation Al Akhawayn Ifrane, Maroc. (1999) 315-319.
- [6] - A. KHLALQA. Contribution à l'étude écophysio-logique et biochimique de l'agarophyte *Gracilaria vermicophylla*. DESS Université Ibn Tofail, Kénitra, Kénitra-Maroc. (2004) 110
- [7] - I. HRIMILE. Etude préliminaire de l'écophysio-logie et de la biochimie de *Gracilariopsis longissima*. DESS Université Ibn Tofail, Kénitra, Kénitra-Maroc. (2006) 121.
- [8] - S. El BACHA, A. MOURADI, A. El GOURJI, B. BENAZZOUZ et T. GIVERNAUD. Cycle biologique de l'agarophyte *Gracilaria multipartita* (Clemente) Harvey (Rhodophyceae, Gracilariales) sur la côte atlantique marocaine. *Actes Inst. Agron. Vet. Maroc* 24 (1-2) (2004^a) 23-34.
- [9] - S. El BACHA., A. El GOURJI, Th. GIVERNAUD, Y. LEMOINE et A. MOURADI. Etude écophysio-logique de l'agarophyte *Gracilaria multipartita* (clemente) harvey (gracilari-ale, rhodophyce-). *Actes Inst. Agron. Vet. Maroc* 24 (3-4) (2004^b) 95-103.
- [10] - S. El BACHA. Biologie, Ecophysio-logie et Biochimie de deux agarophytes de la côte Atlantique Marocaine. Doctorat Es Science, Université Ibn Tofail, Kénitra-Maroc. (2006) 139.
- [11] - Th. GIVERNAUD & A. MOURADI. World Seaweeds Resources, an authoritative reference system: Seaweeds Resources of Morocco. In A.T. Critchley & M. Ohno (Eds) Seaweed resources of the world, DVD. ETI information system Ltd, Japan. (2006) 33.

- [12] - M. L. GUILLEMIN, S. Ait AKKI, T. GIVERNAUD, A. MOURADI, M. VALERO and C. DESTOMBE. Molecular characterisation and development of rapid molecular methods to identify species of Gracilariaceae from the Atlantic coast of Morocco. *Aquatic Botany*. 89 (3) (2008) 324-330.
- [13] - M. SETEENTOF, L.M. IRVINE and W.F. FARNHAM. Two terete species of Gracilaria and Gracilariopsis (Gracilariales, Rhodophyta) in Britain. *Phycologia*. 34 (2) (1995) 113-127.
- [14] - M. U. PATWARY and J. P. VAN DER MEER. Growth experiments of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). *Phycologia*. 23 (1984) 21-27.
- [15] - A. H. BUSCHMANN, O. A. MORA, P. GÓMEZ, M. BFTTGER, S. BUITANO, C. RETAMALES, P. A. VERGARA and A. GUTIERREZ. *Gracilaria chilensis* outdoor tank cultivation in Chile: use of land-based salmon culture effluents. *Aquac. Eng.* 13 (1994) 283-300.
- [16] - R. PEREZ. Les algues qui nous entourent conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation, culture, aquaculture. IFREMER. Nantes- France (1997) 272.
- [17] - A. MOURADI. Recherches biologiques et biochimiques pour la production d'agarose chez *Gelidium latifolium* Thèse Doctorat Es Sciences, Univ.de Caen - France. (1992) 351.
- [18] - F. J. MOLLOY and J. J. BOLTON. The effect of season and depth on the growth of *Gracilaria gracilis* at Lüderitz, Namibia. *Bot. Mar.* 39 (1996) 407-413.
- [19] - S. BEER and I. LEVEY. Effects of the photon fluence rate and light spectrum composition on growth, photosynthesis and pigment relations in *Gracilaria sp.* *J. Phycol.* 19 (1983) 516-522.
- [20] - B. E. LAPOINTE. The effect of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *angustissima* (Gigartinales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 17 (1981) 90-99.
- [21] - J. McLachlan. General principles of on shore cultivation of seaweeds. Effects of light on production. *Hydrobiologia*, 221 (1991) 125-135.
- [22] - N. S. YOKOYA, H., KAKITA, H. OBIKA and T. KITAMURA. Effects of environmental factors and plant growth regulators on growth of the red alga *Gracilaria vemiculophylla* from Shikoku island, Japan *Hydrobiologia*, 398/389 (1999) 339-374.
- [23] - S. E. MARINHO. Ecologie, physiologie et production d'agar de deux Rhodophycées : *Gracilaria bursa-pastoris* et *Gracilaria gracilis* (Etang de Thau, Hérault - France). Thèse Doctorat, Université de Montpellier 2, Montpellier, France (1997) 142 .

- [24] - J. XU and G. KUNSHAN. Growth, pigments, UV-absorbing compounds and agar yield of the economic red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) grown at different depths in the coastal waters of the South China Sea. Growth, pigments, UV-absorbing compounds and agar yield of the economic red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) grown at different depths in the coastal waters of the South China Sea. *Journal of Applied Phycology*, 20 (5) (2008) 681-686.
- [25] - T. M. LEE, C. C. TSAI and M. C. SHIH. Induction of phosphorus deficiency and phosphatase activity by salinity (NaCl) stress in *Gracilaria tenuistipitata* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Shellfish- Research*, 18 (1999) 227-233.
- [26] - N. S. YOKOYA AND E. C. OLIVEIRA. Effects of salinity on the growth rate, morphology and water content of some brazilian red algae of economic importance. *cienc. mar.* 18 (1992) 49-64.
- [27] - C.J. Bird and J. Mc Lachlan. The effect of salinity on distribution of species of *Gracilaria* Greville (Rhodophyta, Gigartinales): an experiment assessment. *Bot. Mar.* 29 (1986) 231-238.
- [28] - T. R. DE-CASTRO, Jr. N. G. GUANZON and M. R. J. LUHAN. Assessment of natural stocks of *Gracilaria* in Pany Island. Philippines. *Bot. Mar.* 34 (1991) 383-391.
- [29] - J. A. RAVEN. Implications of inorganic carbon utilization: ecology, evolution and geochemistry. *Can. J. Bot.* 69 (1991) 908-924.
- [30] - S. C. MABERLY. Diel, episodic and seasonal changes in pH and concentrations of inorganic carbon in a productive lake. *Freshwat Biol.* 35 (1996) 579-598.
- [31] - W. STUMM and J. J. MORGAN. Aquatic chemistry. Book Reviews, Wiley New York (1970) 595-596.
- [32] - J. R. ANDRÍA, F. G. BRUN, J. L. PÉREZ-LLORENS and J. J. VERGARA. Acclimation responses of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta) and *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) to changes in the external inorganic carbon concentration. *Bot. Mar.* 44 (2001) 361-370.
- [33] - J. L. L. PÉREZ-LLORENS, F. G. BRUN, J. ANDRÍA and J. J. VERGARA. Seasonal and tidal variability of environmental carbon related physico-chemical variables and inorganic C acquisition in *Gracilaria longissima* and *Enteromorpha intestinalis* from Los Toruños salt marsh (Cádiz Bay, Spain). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 304 (2004) 183-201.
- [34] - D. ZOU, J. XIA and Y. YANG. Photosynthetic use of exogenous inorganic carbon in the agarophyte *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). *Aquaculture*, 237 (2004) 1-4.

- [35] - M. MENÉNDEZ, M. MARTÍNEZ and F. A. COMÍN. A comparative study of the effect of pH and inorganic carbon resources on the photosynthesis of three floating macroalgae species of a Mediterranean coastal lagoon. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 256 (2001) 123–136.
- [36] - T. CHOPIN and C. YARISH. Nutrients or not nutrients? That is the question in seaweed aquaculture and the answer depends on the type and purpose of the aquaculture system. *World Aquaculture*, 29 (1998) 31-41.
- [37] - A. J. SMIT, B. L. ROBERTSON & de D. R. PREEZ, 1997. Influence of ammonium-N pulse concentration and frequency, tank condition and nitrogen starvation on growth rate and biochemical composition of *Gracilaria gracilis*. *J. Appl. Phycol.* 8, 473– 481.
- [38] - H. BUSCHMANNA, D. VARELAA, M. CIFUENTESA, M. HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, L. HENRÍQUEZ, R. WESTERMEIER, J. A. CORREA. Experimental indoor cultivation of the carrageenophytic red alga *Gigartina skottsbergii*. *Aquaculture*, (2004) 626-129.
- [39] - J. CRAIGIE. Irish moss cultivation: some reflections. In: Yarish, C., Penniman, C.A., van Patten, P. (Eds.), *Economically Important Marine Plants of the Atlantic. Their Biology and Cultivation*. Connecticut Sea Grant College Program, Groton, (1990) 37-52.