

UNIVERSITE DU QUEBEC

THESE

présentée

à

L'INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (EAU)

comme exigence partielle

de la

maîtrise ès Sciences (eau)

par

Normand Dupont

B.Sc. Math. Appl.

"Caractérisation mathématique des spectres
dimensionnels de cultures d'algues"

Janvier 1977

A Diane

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier très sincèrement mon directeur de thèse, M. Jean-Louis Sasseville, pour ses conseils, son encouragement et sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce travail. Je ne saurais passer sous silence, également, l'étroite collaboration de MM. Marius Lachance et Richard Lapointe tant pour l'aspect théorique qu'expérimental de ce travail. Je souligne également le travail patient et intéressé de Mlle Lise Raymond lors de la dactylographie de ce texte.

RESUME

Un des outils utilisés pour caractériser les phénomènes d'eutrophication (tel par exemple le test de fertilité) est l'évaluation de la biomasse phytoplanctonique par comptage des organismes, celui-ci généralement effectué par un compteur (COULTER) de particules. Malgré que certaines de ces techniques de caractérisation soient laborieuses, elles sous-utilisent les possibilités de la caractérisation volumique par un compteur de particules et ceci, malgré que le comptage par compteur soit une opération simple. On s'est donc appliqué à maximiser l'usage du compteur pour des conditions expérimentales similaires.

Pour ce faire, on a caractérisé le comportement de deux cultures pures et d'une culture mixte de *Chlorella vulgaris* et de *Selenastrum capricornutum* dans un milieu de culture minéral en laboratoire, sous lumière alternée et à température constante.

A l'aide de l'information fournie par le compteur et d'un outil mathématique, on a établi des paramètres représentatifs de la biomasse et de la forme de la distribution volumique. Trois d'entre eux se distinguent tant par leur reproductibilité que par leur signification morphologique et physiologique: le nombre total d'algues, le volume moyen et le coefficient d'asymétrie de la distribution volumique. Le volume moyen nous renseigne sur la classe d'algues dominante alors que le coefficient d'asymétrie nous indique la classe d'algues résiduelle. En phase de croissance exponentielle, la concordance des paramètres dans leur interprétation facilite la compréhension des phénomènes en cours.

Globalement, la technique mise au point a permis de mettre en évidence la grande précision alliée à la rapidité et à la souplesse du compteur.

TABLE DES MATIERES

	PAGE
REMERCIEMENTS.....	i
RESUME.....	ii
TABLE DES MATIERES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES SYMBOLES.....	xii
INTRODUCTION.....	1
1. Théorie.....	3
1.1 Physiologie d'une culture d'algues.....	3
1.1.1 Caractéristiques morphologies des algues choisies.....	4
1.1.2 Algues et milieux de culture.....	6
1.1.3 Phases de croissance.....	8
1.1.4 Cycle de reproduction.....	13
1.1.5 Modèles de croissance.....	17
1.2 Compteur électronique.....	22
1.2.1 Principe.....	22
1.2.2 Usages.....	26
1.3 Outils mathématiques.....	27
1.3.1 Nécessité.....	27
1.3.2 Paramètres.....	27

	PAGE
2. Matériel et méthode.....	32
2.1 Cultures d'algues.....	32
2.2 Caractérisation par compteur de particules.....	33
2.3 Précision de la méthode.....	34
2.4 Evaluation de la précision des mesures.....	38
3. Résultats.....	41
3.1 Précision des résultats.....	41
3.2 Spectres caractéristiques.....	45
3.3 Evolution chronologique des paramètres.....	47
4. Discussion.....	59
4.1 Justification des courbes différentielles.....	59
4.2 Mode de caractérisation du spectre dimensionnel.....	62
4.3 Examen final des triplicata choisis.....	71
CONCLUSION.....	79
BIBLIOGRAPHIE.....	81
ANNEXE.....	86

LISTE DES TABLEAUX

	PAGE
1. Représentation du taux de croissance spécifique maximum, de la constante de demi-saturation ainsi que du coefficient de production des deux espèces d'algues considérées.....	5
2. Représentation de la constante de croissance spécifique ainsi que du temps nécessaire, en heure, pour que le nombre moyen d'individus double; ces deux paramètres sont fournis pour différentes croissances d'algues planctoniques et non-planctoniques en lumière continue et d'intensité approximativement égale au degré de saturation pour la photosynthèse.....	7
3. Comparaison de la composition du "New algal assay medium" (NAAM) et du "Provisional algal assay procedures" (PAAP).....	9
4. Synopsis des principaux modèles décrivant la croissance d'une culture d'algues.....	18
5. Représentation des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Chlorella vulgaris</u> , obtenus de trente mesures successives prises dans des conditions expérimentales identiques.....	42

6.	Etude statistique de la distribution des paramètres caractéristiques d'une population d'algues déterminés successivement 30 fois dans des conditions de mesure identiques.....	43
7.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Chlorella vulgaris</u> , 1 ^e triplicata...	50
8.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Chlorella vulgaris</u> , 2 ^e triplicata...	51
9.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Chlorella vulgaris</u> , 3 ^e triplicata...	52
10.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Selenastrum capricornutum</u> , 1 ^e triplicata.....	53
11.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Selenastrum capricornutum</u> , 2 ^e triplicata.....	54
12.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Selenastrum capricornutum</u> , 3 ^e triplicata.....	55
13.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Selenastrum c.</u> et de <u>Chlorella v.</u> , 1 ^e triplicata.....	56
14.	Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de <u>Selenastrum c.</u> et de <u>Chlorella v.</u> , 2 ^e triplicata.....	57

15. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques
d'une population de Selenastrum c. et de Chlorella v.,
3^e triplicata..... 58

LISTE DES FIGURES

	PAGE
1. Représentation idéalisée d'une courbe de croissance, pour une culture à quantité fixe de nutriments.....	10
2. Variation de la durée de la phase d'adaptation de l'inoculum en fonction de l'âge de la culture mère, pour l'algue <u>Phaeodactylum tricornutum</u>	12
3. Représentation schématique du cycle de reproduction d'une <u>Chlorella ellipsoidea</u>	15
4. Comparaison graphique du modèle de Michaelis-Menten, du modèle exponentiel de Shelef et du modèle de Blackman pour une même valeur du taux de croissance spécifique maximum et de la constante de demi-saturation.....	20
5. Schéma de la cellule sensible du compteur Coulter en opération.....	23
6. Représentation visuelle de la signification des paramètres statistiques.....	30
7. Schéma représentant l'affichage de la distribution des pourcentages du volume total ainsi que le nombre total des particules comptées par le compteur Coulter.....	35
8. Schéma montrant la zone sensible, les différentes possibilités de passage de deux particules dans celle-ci, ainsi que l'interprétation correspondante de l'appareil.....	37

9.	Courbes de fréquence du pourcentage en volume du premier triplicata de <u>Chlorella v.</u> le 8ième, 10ième et 14ième jour vers 2:00h.....	46
10.	Courbes de fréquence du pourcentage en volume du deuxième triplicata de <u>Selenastrum c.</u> les 7ième, 10ième et 14ième jour vers 2:00 h.....	48
11.	Les courbes de fréquence du pourcentage en volume du deuxième triplicata d'une culture mixte de <u>Selenastrum c.</u> et de <u>Chlorella v.</u> les 8ième, 10ième et 14ième jour vers 2:00 h.....	49
12.	Les courbes cumulatives de fréquence de la concentration et du pourcentage en volume du premier triplicata de <u>Chlorella v.</u> au 10ième jour vers 2:00 h.....	60
13.	Les courbes de fréquence de la concentration en ppm du premier triplicata de <u>Chlorella v.</u> les 8ième, 10ième et 14ième jour vers 2:00 h.....	61
14.	Les courbes de fréquence de la concentration en ppm du deuxième triplicata de <u>Selenastrum c.</u> les 7ième, 10ième et 14ième jour vers 2:00 h.....	63
15.	Les courbes de fréquence de la concentration en ppm du deuxième triplicata de la culture mixte de <u>Selenastrum c.</u> et de <u>Chlorella v.</u> les 8ième, 10ième et 14ième jour vers 2:00 h.....	64

16.	La concentration en ppm en fonction du temps des triplicata de <u>Chlorella v.</u>	66
17.	Le volume moyen en fonction du temps des triplicata de <u>Chlorella v.</u>	67
18.	Le coefficient d'asymétrie en fonction du temps des triplicata de <u>Chlorella v.</u>	68
19.	Le coefficient d'aplatissement en fonction du temps des triplicata de <u>Chlorella v.</u>	70
20.	Le nombre d'algues par millilitre en fonction du temps du premier triplicata de <u>Chlorella v.</u> , du deuxième de <u>Selenastrum c.</u> et du deuxième de la culture mixte.....	72
21.	Le volume moyen en fonction du temps du premier triplicata de <u>Chlorella v.</u> , du deuxième de <u>Selenastrum c.</u> et du deuxième de la culture mixte.....	75
22.	Le coefficient d'asymétrie en fonction du temps du premier triplicata de <u>Chlorella v.</u> , du deuxième de <u>Selenastrum c.</u> et du deuxième de la culture mixte.....	76
23.	Le coefficient d'aplatissement en fonction du temps du premier triplicata de <u>Chlorella v.</u> , du deuxième de <u>Selenastrum c.</u> et du deuxième de la culture mixte.....	78

LISTE DES SYMBOLES

- μ : taux de croissance spécifique exprimé en $\log [] / \text{jour}$ ou micro-
mètre (selon le contexte)
- $\hat{\mu}$: taux de croissance spécifique maximum
- K_s : constante de demi-saturation
- Y : coefficient de production
- G : temps nécessaire, en heure, pour que le nombre moyen d'individus
double
- γ : moyenne d'une population statistique
- σ : écart-type d'une population statistique
- \bar{x} : moyenne d'un échantillon tiré de la population
- C_s : coefficient d'asymétrie
- C_k : coefficient d'aplatissement
- m_r : moment centré d'ordre r d'une distribution
- m'_r : m_r corrigé selon la méthode de Sheppard qui corrige le biais
introduit par le regroupement en classe des observations
- ε : précision relative des résultats

INTRODUCTION

Avec l'avancement de la technologie l'homme dispose de plus en plus de moyens d'explorer l'univers qui l'entoure. Le nombre des composantes environnementales est si élevé et leur diversité si grande qu'il est impossible d'en circonscrire les problématiques. C'est dans ce contexte que des outils permettant l'étude de certains caractères dominants de ces phénomènes sont apparus et connaissent un succès croissant.

L'évolution de la technologie ne s'est, cependant, pas faite sans une incidence particulière de l'industrialisation, elle-même s'étant développée au détriment du milieu aquatique. Entre autres, à cause de l'industrialisation, est apparu un problème d'eutrophisation aquatique, indicateur de la gravité de cette intrusion environnementale. L'activité humaine introduit également, dans le milieu aquatique, des toxiques et des fertilisants qui modifient profondément son évolution.

Des techniques naissent peu à peu afin d'évaluer l'impact de ces différentes activités sur le milieu aquatique, par exemple le test de fertilité par incorporation de carbone 14. Cette technique connaît une expansion considérable parce qu'elle tient en compte les différents nutriments du milieu étudié. En utilisant toujours la même souche d'algues pour le test, on peut alors comparer la fertilité de différents milieux tant naturels que contrôlés en laboratoire.

Notre dépendance des techniques doit cependant nous forcer à les améliorer sans cesse, d'autant plus que l'information émanant de celles-ci

est quand même fragmentaire. Il faut, par conséquent, aller chercher le maximum d'information des échantillons recueillis afin de comprendre les problématiques. Dans ce contexte d'optimisation, le compteur de particules s'insère avantageusement.

En mesurant un échantillon d'algues, cet appareil permet d'en évaluer non seulement le nombre approximatif, mais aussi l'histogramme de distribution des pourcentages en volume, selon des classes de volumes prédéterminées. A partir de cette distribution, on peut connaître le volume moyen de cette population d'algues ainsi que les paramètres décrivant l'allure de leur distribution volumique. Le principe du compteur repose sur une cellule sensible qui aspire l'échantillon liquide et qui analyse chaque algue à mesure qu'elle pénètre dans la cellule.

La rapidité, la sensibilité et la reproductibilité de ce compteur le rendent apte à étudier d'autres problèmes que la croissance d'une culture d'algues.

La toxicité d'un produit comme le mercure, la fertilité des détergents, l'impact d'un déversement de pétrole en eau libre sont, dès lors, envisagés comme autant d'éléments qui permettront d'approfondir les connaissances concernant l'eutrophisation et la problématique globale de la protection de nos ressources.

CHAPITRE 1

1. Théorie

1.1 Physiologie d'une culture d'algues

Les expériences en nature comportent un grand nombre d'impondérables issus de la complexité des relations du phénomène étudié à l'intérieur de la biosphère. Notre champ d'action se limitera à des expériences en laboratoire où les conditions expérimentales sont plus constantes et plus contrôlables.

L'objectif que nous poursuivons est d'étudier l'évolution d'une culture d'algues microscopiques à l'aide d'un compteur de particules.

Le choix de ce type d'organisme unicellulaire répond à des qualités de rapidité de cycle évolutif ainsi qu'à des considérations statistiques. En effet, le cycle moyen de croissance d'algues microscopiques s'échelonne sur une vingtaine de jours; ce délai correspond bien au type d'expériences réalisables dans la période allouée à cette fin. En plus de la croissance rapide des algues, leur concentration dans la solution de culture est intéressante. Le grand nombre d'individus contenus dans un volume minime répond largement aux exigences statistiques. C'est en partie pour ces raisons qu'on utilise les algues pour effectuer des tests de fertilité. Ces tests utilisent surtout les *Selenastrum capricornutum*.

On a également choisi les *Chlorella vulgaris*, couramment utilisées pour des tests physiologiques. Cette espèce se retrouve souvent dans

les eaux douces d'Amérique du nord.

Ces deux espèces d'algues conviennent aux exigences expérimentales imposées.

1.1.1 Caractéristiques morphologiques des algues choisies

L'algue *Selenastrum c.* est en forme de croissant de 5 à 6 μ de largeur, de 10 à 12 μ de longueur et d'environ 88 à 126 μ^2 de surface membraneuse externe pour un volume moyen de 65 à 113 μ^3 . D'autre part, l'algue *Chlorella v.* est de forme sphérique de 5 à 6 μ de diamètre et d'environ 79 à 113 μ^2 de surface membraneuse externe pour un volume moyen de 65 à 113 μ^3 .

Le tableau 1 indique leur taux de croissance spécifique maximum $\hat{\mu}$, leur constante de demi-saturation K_s (numériquement égale à la concentration du nutriment limitant absorbé, lorsque le taux de croissance spécifique de la culture atteint la moitié de la valeur maximale $\hat{\mu}$)¹, ainsi que leur coefficient de production Y, défini comme étant le poids de cellules produites par unité de poids de facteur limitant utilisé pour un milieu de culture donné.

¹ Dépendant du système de culture employé, le taux de croissance spécifique maximum ' $\hat{\mu}$ ' n'est pas toujours équivalent au taux maximal de la vitesse de prise en charge " y_{\max} " du nutriment limitant. La présente définition de K_s ne le suppose pas.

TABLEAU 1. Représentation du taux de croissance spécifique maximum ($\hat{\mu}$), de la constante de demi-saturation (K_s) ainsi que du coefficient de production (Y) des deux espèces d'algues considérées.

	SELENASTRUM C. ¹	CHLORELLA V. ²
$\hat{\mu}$	1,85 JOUR ⁻¹	0,44 à 0,53 JOUR ⁻¹ ⁴
K_s	5,0 $\mu\text{g/l}^3$	
Y	805	

¹ TOERIEN *et al.* (1971).

² HUTCHINSON (1973).

³ Le phosphore est le facteur limitant dans le New Algal Assay Medium (NAAM).

⁴ Le milieu de culture était le Bristol Bold Medium (BBM) modifié, sans EDTA

1.1.2 Algues et milieux de culture

Indépendamment des résultats que nous pourrions obtenir des expériences avec les algues choisies, nous ne pourrions les généraliser à d'autres espèces d'algues. Le tableau 2 nous le montre bien. En effet, si l'on compare le taux de croissance μ de la Chlorella pyrenoidosa en culture Emerson à 25°C à celui de la Monodus subterraneus à 25°C également, on constate que le premier est le triple du second. Même à l'intérieur d'une espèce, par exemple la Chlorella pyrenoidosa, le taux de croissance varie selon le type de culture employée et la température du milieu de culture.

D'autre part, il est bien établi que le développement des bactéries, dans un échantillon d'eau, est proportionnel à la surface interne du contenant (ZOBELL, 1946). Il semble évident qu'il existe d'étroites interrelations entre les algues planctoniques et leurs bactéries associées (HINSHELWOOD, 1946).

De plus, la surface de contact des algues avec un erlenmeyer est, en proportion, de beaucoup supérieure aux surfaces rencontrées en milieu naturel (FOGG, 1965). Comme les interfaces ne sont pas totalement inertes, elles peuvent aussi bien adsorber des métaux traces comme mettre en solution une partie de leur structure ainsi que les impuretés, malgré l'addition d'EDTA comme dans les milieux NAAM et PAAP dont on reparlera plus loin.

Enfin, le type de micro-turbulence est très différent dans un récipient agité comparé au milieu naturel où les courants de turbulence sont induits par des forces naturelles. De plus, en laboratoire on observe que le taux d'oscillations par minute du brassage peut être critique pour la

TABLEAU 2. Représentation de la constante de croissance spécifique μ^1 ainsi que du temps G nécessaire, en heure, pour que le nombre moyen d'individus double; ces deux paramètres sont fournis pour différentes croissances d'algues planctoniques et non-planctoniques en lumière continue et d'intensité approximativement égale au degré de saturation pour la photosynthèse (Fogg, 1965).

ESPECE	μ^1	G	TEMP. (°C)	REFERENCE
Chlorophycées				
<u>Chlorella pyrenoidosa</u>	0,12	60,2	10	Fogg et Belcher, (1961)
Culture planctonique	0,37	19,6	20	Fogg et Belcher, (1961)
<u>Chlorella pyrenoidosa</u>	0,93	7,75	25	Sorokin, (1959)
Culture Emerson	0,90	8,0	25	Sorokin, (1959)
Culture 7-11-05	2,78	2,6	39	Sorokin, (1959)
Xanthophycées				
<u>Monodus subterraneus</u>	0,074	97,7	15	Fogg <i>et al.</i> , (1959)
	0,191	37,8	20	Fogg <i>et al.</i> , (1959)
	0,297	24,3	25	Fogg <i>et al.</i> , (1959)
	0,169	42,7	30	Fogg <i>et al.</i> , (1959)
Chrysophycées				
<u>Isochrysis galbana</u>	0,24	30,2	20	Kain et Fogg, (1960)
<u>Cricosphaera (Syracos-</u> <u>carterae phaera)</u>	0,36	20,1	18	Parsons <i>et al.</i> , (1961)
Bacillariophycées				
<u>Asterionella formosa</u>	0,75	9,6	20	Lund, (1949)
<u>Asterionella japonica</u>	0,52	13,9	20-25	Kain et Fogg, (1960)
<u>Phaeodactylum tricor-</u> <u>nutum</u>	0,72	10,0	25	Spencer, (1954)
<u>Skeletonema costatum</u>	0,55	13,1	18	Parsons <i>et al.</i> , (1961)
<u>Coscinodiscus sp.</u>	0,20	30,0	18	Parsons <i>et al.</i> , (1961)
Dinophycées				
<u>Amphidinium carteri</u>	0,82	8,8	18	Parsons <i>et al.</i> , (1961)
<u>Procoentrum micans</u>	0,13	55,5	20	Kain et Fogg, (1960)
<u>Ceratium tripos</u>	0,087	82,8	20	Nordli, (1957)
Myxophycées				
<u>Anabaena cylindrica</u>	0,68	10,6	25	Fogg, (1949)
<u>Anacystis nidulans</u>	3,55	2,0	41	Kratz et Myers, (1955)

¹ μ est exprimé en $\log []/\text{jour}$.

croissance: de 65 à 90 osc./min., on double le taux de croissance de *Anabeana cylindrica*, et à 140 osc./min., on l'arrête complètement (FOGG et THAN-TUN, 1960).

Parallèlement, la composition du milieu de culture doit être également contrôlée étroitement. Le choix offert passe de l'eau naturelle filtrée à de l'eau essentiellement minérale. Dans cette dernière catégorie, figure le milieu Provisional algal assay procedures (PAAP) lui-même issu du milieu New algal assay medium (NAAM); la composition respective de ceux-ci apparaît au tableau 3.

Pour des raisons d'efficacité et de fiabilité des résultats, le milieu minéral PAAP est choisi de préférence au milieu naturel.

En somme, vu la complexité des phénomènes naturels, les expériences s'effectueront en laboratoire, en milieu contrôlé et avec des algues couramment utilisées.

1.1.3 Phases de croissance

Dans le cas de la *Chlorella ellipsoidea*, on distingue au moins quatre phases dans sa croissance en milieu à quantité fixe de nutriments (Figure 1):

- 1) une phase d'adaptation, pendant laquelle aucune augmentation sensible du nombre de cellules ne se produit;
- 2) une phase de croissance exponentielle¹, pendant laquelle la multiplication cellulaire est rapide et le nombre de cellules croît selon une progression géométrique;

¹ On pourrait remplacer ici la phase de croissance exponentielle par une phase de croissance rapide suivie d'une phase de ralentissement.

TABLEAU 3. Comparaison de la composition de "New algal assay medium" (NAAM) (TOERIEEN et HUANG, 1973) et du "Provisional algal assay procedures" (PAAP) (NATIONAL EUTROPHICATION RESEARCH PROGRAM, 1971).

ELEMENT	CONCENTRATION		NUTRIMENT ESSENTIEL	CONCENTRATION	
	NAAM	PAAP		NAMM	PAAP
Macroéléments (mg/l)					
NaNO ₃	25,5	25,5	N	4,20	4,20
K ₂ HPO ₄	1,04	1,04	P	0,19	0,19
MgCl ₂	5,7	5,7	Mg	2,90	2,90
MgSO ₄ ·7H ₂ O	14,7	14,7	S	1,91	1,91
CaCl ₂ ·2H ₂ O	4,7	4,41	Ca	1,20	1,20
NaHCO ₃	50,0	15,0	C	7,14	2,14
FeCl ₃	0,1	0,1	Fe	0,03	0,03
Microéléments (µg/l)					
H ₃ BO ₃	185,52	185,52	B	33,0	32,5
MnCl ₂	264,26	264,26	Mn	114,0	115,0
ZnCl ₂	32,71	32,71	Zn	15,0	15,7
CoCl ₂	0,80	0,78	Co	0,35	0,35
CuCl ₂	0,01	0,009	Cu	0,003	0,004
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7,26	7,26	Mo	2,88	2,88
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	2230	300			

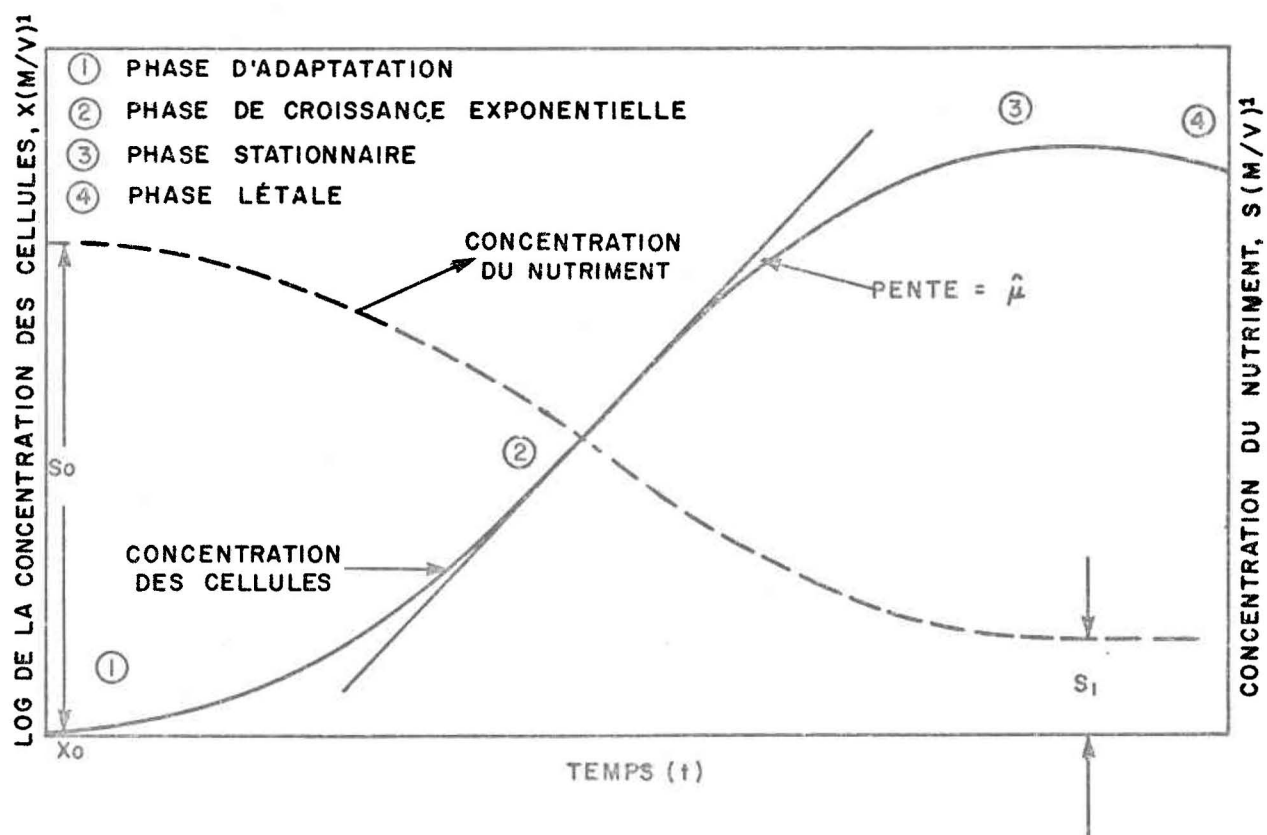


FIGURE 1. REPRÉSENTATION IDÉALISÉE D'UNE COURBE DE CROISSANCE, POUR UNE CULTURE À QUANTITÉ FIXE DE NUTRIMENTS (TOERIEN, HUANG, 1971).

1 M / V : MASSE PAR UNITÉ DE VOLUME.

- 3) une phase stationnaire, pendant laquelle le nombre de cellules demeure plus ou moins constant;
- 4) une phase de dégénérescence (phase létale) durant laquelle le nombre de cellules vivantes décroît.

Evidemment, pour des conditions particulières de culture, la durée de certaines de ces phases peut être soit nulle soit raccourcie soit rallongée. Bien que, pendant la phase d'adaptation, les cellules peuvent augmenter en volume, on peut formuler certaines hypothèses pouvant expliquer pourquoi les cellules n'amorcent pas immédiatement la phase exponentielle:

- a) un fort pourcentage des cellules inoculées est non viable; ou dans le cas contraire, il n'est pas apte à se diviser immédiatement, comme dans le cas d'inoculum venant de vieilles cultures (FOGG, 1965), comme l'indique la figure 2;
- b) le nombre total de cellules demeurera presque stationnaire jusqu'à ce qu'un nombre de cellules aptes à se diviser devienne important par rapport au nombre total;
- c) plus la concentration de l'inoculum initial est faible, plus la phase d'adaptation sera prolongée;
- d) l'appareil enzymatique des algues a été sous utilisé durant une longue période dans la culture mère d'où on a tiré l'inoculum;
- e) la concentration de certains métabolites extracellulaires est insuffisante pour favoriser la division cellulaire.

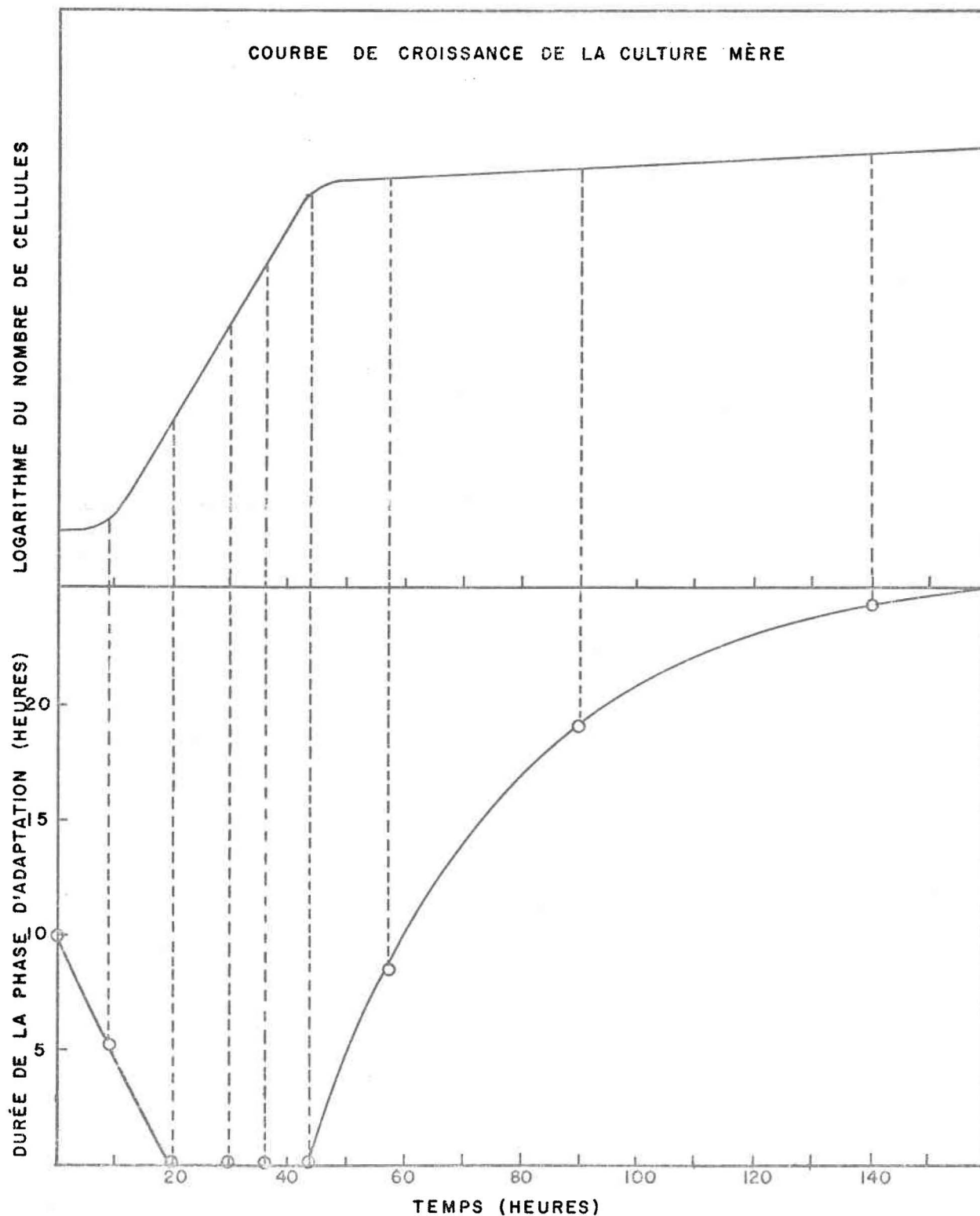


FIGURE 2. VARIATION DE LA DURÉE DE LA PHASE D'ADAPTATION DE L'INOCULUM EN FONCTION DE L'ÂGE DE LA CULTURE MÈRE, POUR L'ALGUE *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* LORSQUE CULTIVÉE À 19°C, EN LUMIÈRE ET AÉRATION CONTINUES (SPENCER, 1954).

On peut expliquer le ralentissement de la croissance en fin de la phase de croissance rapide par le fait que la concentration des nutriments deviendrait insuffisante pour maintenir le taux de croissance caractéristique de la phase de croissance rapide.

Un taux d'échange gazeux insuffisant, notamment pour l'oxygène et le CO₂, entre la solution et l'atmosphère ambiante peut occasionner un changement de pH du milieu de culture; ce changement de pH peut aussi avoir sa source dans l'absorption préférentielle de certaines composantes du milieu, tels les ions bicarbonates, augmentant ainsi le taux d'acidité.

Lorsque la concentration des cellules devient importante, la pénétration lumineuse étant plus faible, l'intensité de la photosynthèse diminue en proportion.

De plus, il est possible que la diminution de la croissance en phase exponentielle soit due à une auto-inhibition de la division cellulaire.

De façon générale, le ralentissement de la croissance en phase exponentielle s'explique par une combinaison des phénomènes ci-haut mentionnés.

1.1.4 Cycle de reproduction

Par centrifugation différentielle d'une culture de *Chlorella ellipsoidea*, Tamiya *et al.* (1953) distinguent deux catégories de cellules par leurs dimensions respectives; ils les appellent cellule sombre (dark) et cellule claire (light). Leurs caractéristiques peuvent se résumer ainsi:

	cellules sombres	cellules claires
Diamètre moyen en micron	3,1-3,4	5,5-5,9
Intensité de la lumière saturante pour la photosynthèse à 25°C en kilolux	1,7-1,9	0,26-0,32
Intensité lumineuse minimale pour la photosynthèse en kilolux	0,36-0,54	0,10-0,16
Activité respiratoire en Q_{O_2} à 25°C	4,6-6,1	7,7-9,3
Contenu en chlorophylle en %	2,4-5,2	0,8-1,3
Contenu en azote en %	7,0-9,5	5,2-5,7

Remarquons la faible activité respiratoire ainsi que le pourcentage élevé de chlorophylle de la cellule sombre à l'inverse de la cellule claire. La figure 3 schématise le passage de la première vers la deuxième. Ce passage nécessite la présence de lumière mais non d'oxygène.

Dans le cycle idéal de reproduction d'une cellule type, on distingue cinq phases principales (LEWIN, 1962; DU PRAW, 1968):

- I) Interphase pendant laquelle on assiste à un accroissement rapide de la masse cellulaire, puis à la duplication des chromosomes et des centrioles.
- II) Prophase: les chromosomes se condensent, l'enveloppe nucléaire ainsi que les nucléoles se désintègrent; les micro-tubules se forment.
- III) Métaphase: mise en place des chromosomes selon un plan équatorial; établissement du fuseau achromatique à l'aide des centrioles; les micro-tubules s'allongent vers les pôles rapidement (0,2 à 4 μ /minute).

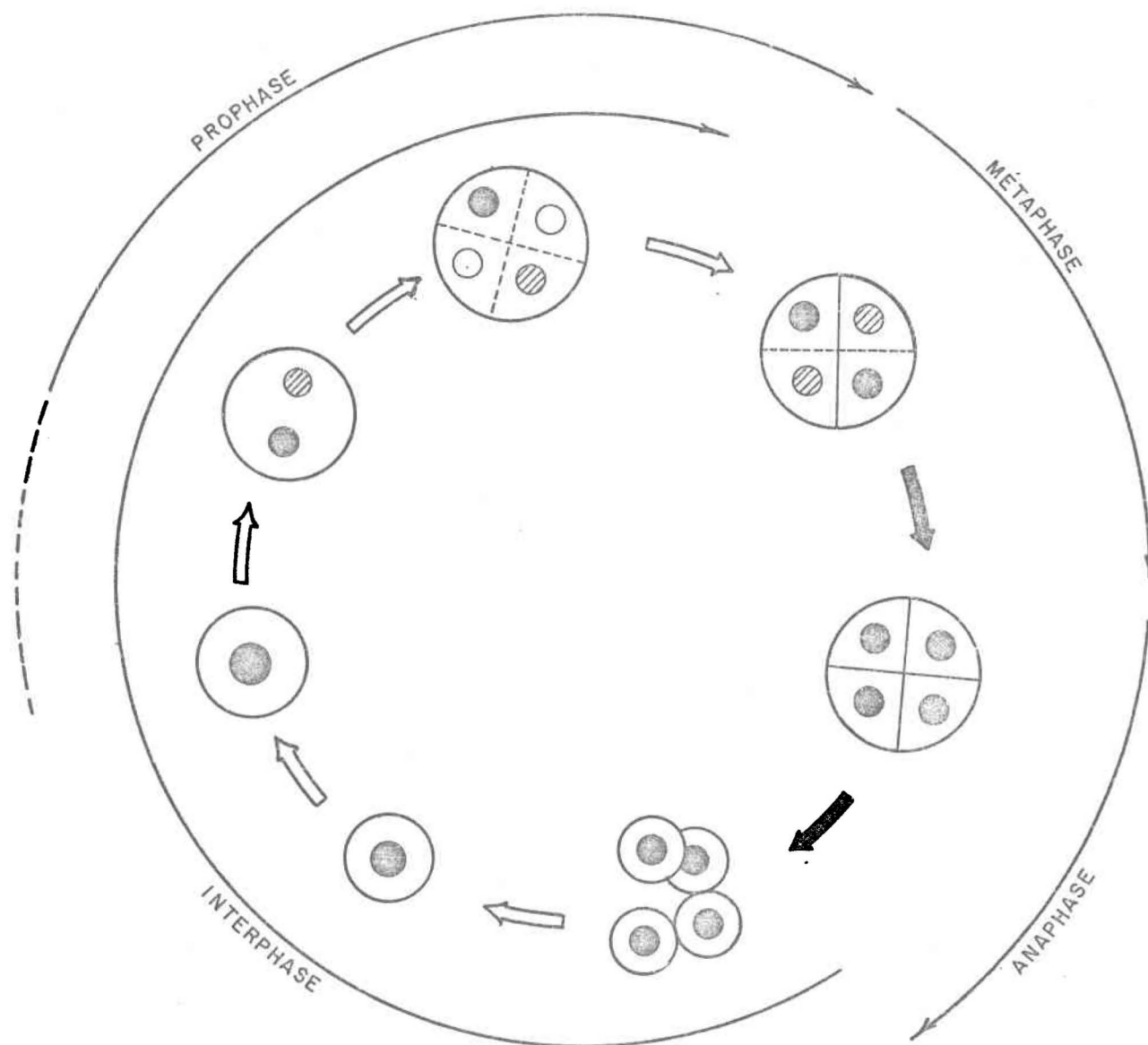


FIGURE 3. REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DU CYCLE DE REPRODUCTION D'UNE CHLORELLA ELLIPSOIDEA. LES FLÈCHES BLANCHES INDIQUENT LES PROCESSUS DÉPENDANTS DE LA LUMIÈRE; LES FLÈCHES NOIRES, LES PROCESSUS INDÉPENDANTS DE LA LUMIÈRE. LES POINTS NOIRS DÉSIGNENT DES NOYAUX MIS EN ÉVIDENCE PAR LA COLORATION FEULGEN (TAMIYA, 1963).

- IV) Anaphase: les chromatides filles se dirigent vers les pôles opposés du fuseau après s'être séparés deux à deux; rapidement, la division cytoplasmique s'opère.
- V) Télophase: les micro-tubules se brisent; l'enveloppe nucléaire ainsi que les nucléoles se réassemblent.

Quelques anomalies peuvent cependant se présenter lors de la croissance d'une cellule. Ainsi, par exemple, les chromosomes peuvent se dupliquer sans division cellulaire, ou encore la cellule peut se diviser sans que les chromosomes se dupliquent.

En général, sous des conditions d'éclairage adéquates (intensité, spectre de longueurs d'onde,...) de l'espèce *Chlorella v.*, les cellules mères se divisent chacune en quatre autospores (cellules filles) en moyenne, pour des températures de culture comprises entre 9° et 25°C. Quand l'intensité lumineuse atteint cinq kilolux, le nombre moyen d'autospores peut diminuer à 3,7. Quand la concentration de phosphore atteint un niveau insuffisant en milieu PAAP, ce nombre moyen diminue jusqu'à 3,5.

De plus, lorsqu'on soumet les cultures de *Chlorella v.* à un cycle de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité, on a de fortes chances d'obtenir une culture synchrone (SOEDER, 1965), i.e. les cellules se divisent toutes en même temps. Dans ce cas, le poids sec de la culture augmente de façon exponentielle durant 14 des 16 heures de lumière.

Un accroissement de l'activité des cellules filles s'observe également (STANGE *et al.*, 1962; RIED *et al.*, 1963; DÜHLER, 1963) durant le passage de l'obscurité à la clarté, en lumière alternée, surtout quand les cellules filles ont séjourné longtemps à l'obscurité.

1.1.5 Modèles de croissance

Plusieurs chercheurs ont tenté de reproduire des courbes de croissance comme celle de la figure 16 à l'aide de modèles basés sur des caractéristiques physiques comme ceux apparaissant au tableau 4. Quelques-uns de ces modèles dont un modèle linéaire, celui de Blackman, un modèle saturant, celui de Shelef, et un modèle asymptotique, celui de Michaelis-Menten, sont représentés à la figure 4. Le taux de croissance spécifique μ varie en fonction du facteur limitant absorbé.

A l'aide d'un de ces modèles, on peut suivre l'évolution de la concentration des cellules (X_t) dans le temps en fonction de la concentration initiale de cellules (X_0) et de la concentration initiale du facteur limitant (S_0) ainsi que du facteur de production (Y). Prenons, comme exemple le modèle de Michaelis-Menten dont les trois étapes successives peuvent être décrites par les équations suivantes (MALEK et FEND, 1966):

$$\text{I} \quad \mu = \hat{\mu} \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

$$\text{II} \quad X_t = X_0 e^{\mu t}$$

$$\text{III} \quad S = S_0 - S_t = \frac{X_t - X_0}{Y}$$

On répète les étapes I, II et III jusqu'à ce que $S=0$, ce qui indique que l'on a atteint la phase stationnaire.

TABLEAU 4. Synopsis des principaux modèles décrivant la croissance d'une culture d'algues (TOERIEEN *et al.*, 1971)

FORMULATION	PARAMETRES	REMARQUES	REFERENCES
$\mu = \hat{\mu} \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$	$\hat{\mu}$ = taux de croissance spécifique maximum, temps ⁻¹ μ = taux de croissance spécifique, temps ⁻¹ S = concentration du nutriment limitant le taux de croissance, M/V K_s = constante de demi-saturation, numériquement égale à la concentration de nutriment à laquelle $\mu = \hat{\mu}/2$	<u>MICHAELIS-MENTEN, MODELE MONOD</u> POUR: le plus utilisé par les microbiologistes et les ingénieurs utilisant des systèmes de culture en continu. CONTRE: modèle empirique développé par analogie avec le biosystème enzymatique.	- Michaelis, Menten (1913) - Monod (1942) - Monod (1949)
$\mu = \hat{\mu} (1 - e^{-kS})$	k = constante de croissance	<u>MODELE EXPONENTIEL DE TEISSIER</u> POUR: s'ajuste mieux aux résultats CONTRE: modèle élaboré pour culture de bactéries, moins flexible que M.-M.	- Teissier (1936) - Schulze et Lipe (1964)
$\mu = \hat{\mu} (1 - e^{-S/K_a})$	K_a = concentration de nutriment à $0.632\hat{\mu}$	<u>MODELE DE SHELEF</u> CONTRE: sert seulement à étudier la cinétique de croissance d'algues avec l'azote comme facteur limitant	- Shelef <i>et al.</i> (1968)
$\mu = K_c S,$ quand $\mu < \hat{\mu}$, $S < S_c$ $\mu = \hat{\mu}, S = \infty$ quand $\mu = \hat{\mu}$, $S \geq S_c$	S_c = concentration du nutriment à saturation, M/V K_c = constante de proportionnalité	<u>MODELE DE BLACKMAN</u> CONTRE: K_c dépend de l'intensité lumineuse ou de la concentration de CO ₂ Conditions à déterminer	

SUIVE TABLEAU 4.

FORMULATION	PARAMETRES	REMARQUES	REFERENCES
$\mu = \hat{\mu} \left(\frac{S^n}{K_s + S^n} \right)$	K_s = constante de demi-saturation	<u>MODELE DE MOSER</u> quand $n = 1$, c'est le modèle de Michaelis-Menten	- Moser (1958)
$\mu = \hat{\mu} \left(\frac{S}{BP + S} \right)$	B = paramètre de croissance constant sous des conditions définies P = densité de la population	<u>MODELE DE CONTOIS</u> - tient compte de la densité de la population - c'est le modèle M.-M. où K_s est remplacé par BP	- Contois (1959)

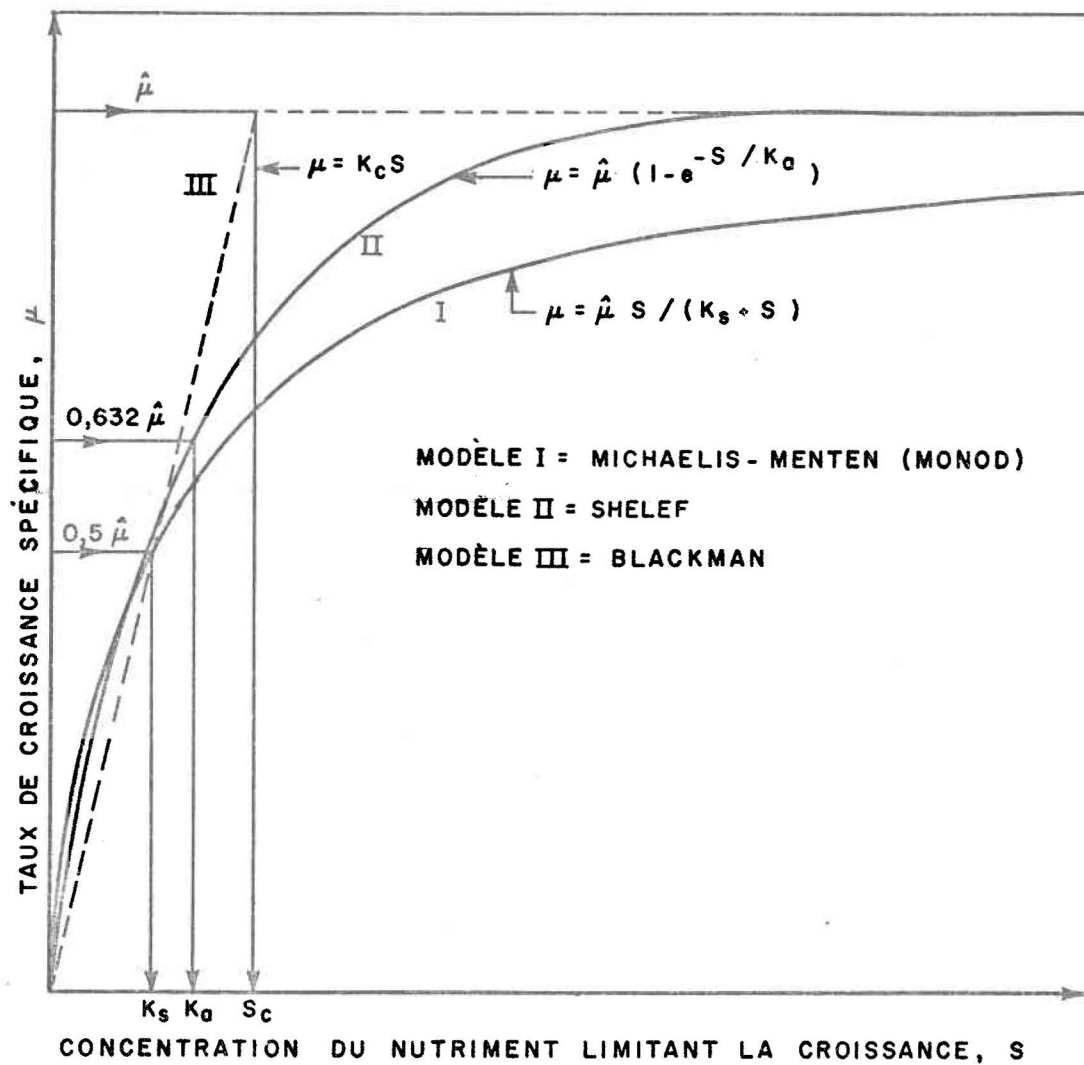


FIGURE 4. COMPARAISON GRAPHIQUE DU MODÈLE DE MICHAELIS - MENTEN, DU MODÈLE EXPONENTIEL DE SHELEF ET DU MODÈLE DE BLACKMAN POUR UNE MÊME VALEUR DU TAUX DE CROISSANCE SPÉCIFIQUE MAXIMUM, $\hat{\mu}$, ET DE LA CONSTANCE DE DEMI-SATURATION, K_s (TOERIEN *et al.*, 1971).

Tsoglin (1973) suggère, dans l'élaboration de modèles de croissance, que les paramètres tiennent compte de la distribution d'âge de la population étudiée. A cette fin, il propose la formulation suivante:

$$F = \lim_{\substack{n \rightarrow \infty \\ \Delta t \rightarrow 0}} \sum^n f(t) \eta(t) \Delta t = \int_0^T f(t) \eta(t) dt$$

où:

F = paramètre étudié

f(t) = fonction caractérisant les changements de ce paramètre
au cours du cycle de reproduction d'une cellule

$\eta(t)$ = distribution d'âge

T = durée du cycle de reproduction

Dans le cas des algues microscopiques, f(t) représentera, par exemple, les changements de l'activité photosynthétique et $\eta(t)$ la grosseur de la cellule au cours d'un cycle de reproduction.

VON FOERSTER (1959) a montré que la distribution d'âge de cellules, se multipliant dans un milieu de culture donné, se comporte de façon exponentielle avec un accroissement de la fonction dans le sens des cellules filles. En supposant que la distribution d'âge des cellules d'une population, dans des conditions stables, dépend seulement du coefficient de croissance spécifique (μ), on peut alors écrire les relations suivantes:

$$N(t) = N_0 e^{-\mu t} \quad , \quad 0 \leq t \leq T$$

$$\eta(t) = \frac{N(t)}{N_{\text{total}}} = \frac{\mu e^{-\mu t}}{1 - e^{-\mu t}}, \quad 0 \leq t \leq T$$

où: $N(t)$ = nombre de cellules d'âge "t"

T = durée du cycle de reproduction

μ = taux de croissance spécifique

$\eta(t)$ = pourcentage de cellules d'âge "t"

N_0 = nombre d'autospores

1.2 Compteur électronique

1.2.1 Principe

Le compteur électronique¹, utilisé pour les présentes expériences, fonctionne selon le principe Coulter. Il donne, en plus du nombre total, la répartition en volume selon seize intervalles de volume auxquels on réfère en les nommant canaux. Plus précisément, cet appareil dénombre les particules en suspension dans une solution électrolyte et, simultanément, évalue le pourcentage du volume total occupé par les particules comprises dans des intervalles de volume prédéterminés.

L'organe détecteur, au coeur du principe Coulter, est constitué d'un micro-orifice² incorporé à un tube plongeant dans l'électrolyte (fig. 5).

¹ COULTER COUNTER, modèle TA fabriqué par Coulter Electronics Inc.

² L'orifice utilisé pour les présentes expériences possède un diamètre de 50 microns.

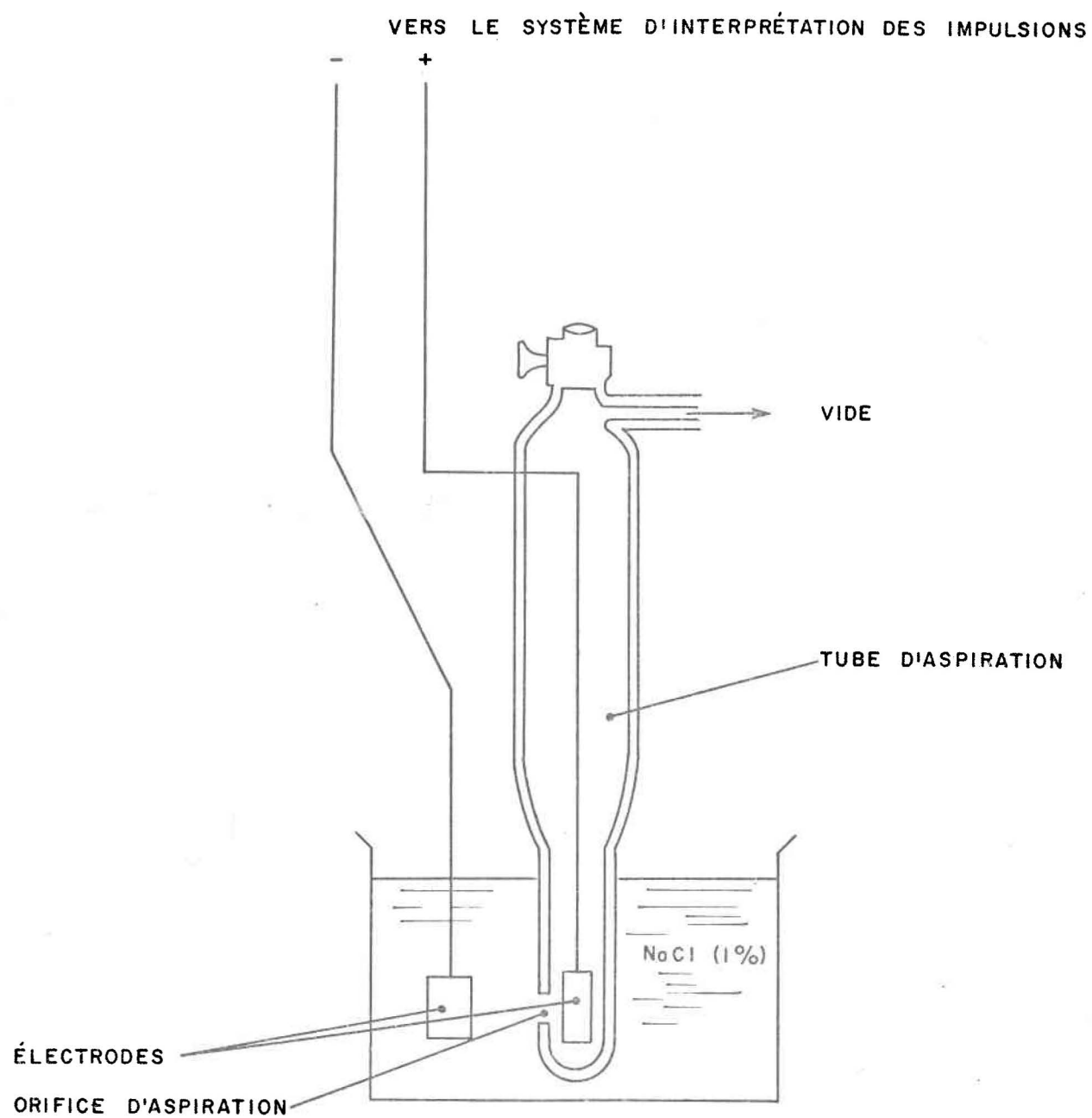


FIGURE 5. SCHÉMA DE LA CELLULE SENSIBLE DU COMPTEUR COULTER EN OPÉ-
RATION.!

I c.f. MANUEL D'INSTRUCTION MODÈLE TA ET ACCESSOIRES.

De part et d'autre de ce micro-orifice, se trouve une électrode de platine; entre ces deux dernières, circule un courant continu d'environ 2 milliampères. En passant à travers l'orifice, les particules déplacent un volume d'électrolyte égal à leur propre volume, faisant ainsi varier la résistance de la solution entre les électrodes, d'une valeur pratiquement nulle à une grande valeur. Cette valeur ou amplitude est directement proportionnelle au volume des particules en autant que le diamètre de ces dernières se situe entre 10 et 40% du diamètre du micro-orifice¹. Ces variations de résistance sont d'ailleurs transformées, par réaction du circuit électrique, en impulsions de voltage. Le nombre d'impulsions par unité de temps correspondrait au nombre de particules ayant traversé le micro-orifice.

Pour chaque type de particules mesurées, il est nécessaire de calibrer l'appareil de façon à ce que le diamètre moyen estimé de ces particules se situe dans la première moitié de l'intervalle 10-40% mentionné ci-haut. A cette fin, on utilise des sphères de polystyrène (DUKE STANDARDS, DUB # 240) d'un diamètre moyen arithmétique de 5,2 microns. On fait alors varier l'amplification de l'appareil jusqu'à ce que les particules soient réparties en nombre égal de part et d'autre d'une borne située, par exemple, entre le 10ième et le 11ième canal². Un détecteur branché au compteur facilite cet ajustement. A partir de cette calibration, on peut déterminer les 14 autres bornes délimitant les intervalles de volume sachant que chaque borne est le double ou la moitié, en volume, de la précédente à mesure que l'on

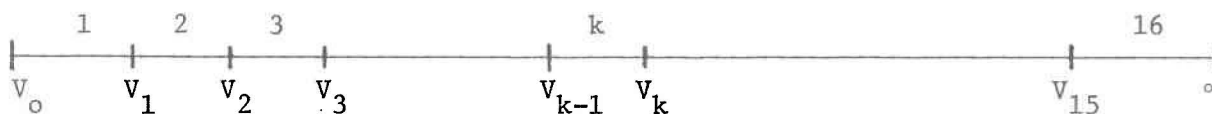
¹

Ces pourcentages sont recommandés en page 37 du manuel d'instruction. Dans notre cas, cet intervalle varie de 5 à 20 microns.

²

Le commutateur d'adaptation étant alors réglé sur 4, le courant à 2 milliampères et le bouton d'étalonnage sur 223.

se déplace vers les volumes plus grands ou plus petits, à noter que la dernière borne est l'infini. Le schéma suivant illustre bien ce que nous venons d'exprimer. Soit:



où $V_k = 2^k V_0$, $k = 1, 15$. Le diamètre de $5,2 \mu$ correspond à une sphère théorique de $73,62 \mu^3$. Après calibration, $V_{10} = 2^{10} V_0 = 73,62 \mu^3$ et les 14 autres bornes sont calculées par la formule précédente.

Pour un échantillon donné, l'appareil compte un certain nombre de particules durant un temps déterminé et donne le pourcentage en volume de celles-ci se situant dans chacun des seize canaux. A partir des pourcentages en volume de chaque canal, on déduit les pourcentages en nombre en se servant du fait que les bornes des intervalles de volume doublent de l'une à la suivante. Le nombre réel de particules par canal s'obtient enfin, en multipliant ces pourcentages par le nombre total de particules comptées. On estime ensuite le volume réel des particules dans chaque canal en multipliant leur nombre par le volume moyen du canal. Une formulation détaillée de la méthode de calcul ainsi qu'un exemple numérique sont présentés en annexe.

N'ayant aucune connaissance, à priori, de la distribution ni du mode de fabrication des billes de polystyrène utilisées pour la calibration du compteur électronique, on suppose que la distribution de leur volume suit une loi normale, i.e. que la machine, servant à les fabriquer, les produit idéalement selon un même volume théorique (γ) avec un écart-type donné (σ). Les volumes réels mesurés (x) des billes sont alors distribués selon

une loi normale de moyenne γ et de variance σ^2 .

De même, une hypothèse similaire peut se formuler au sujet de particules appartenant à une même famille, telles les algues d'une même espèce, et cela, même si leur concentration initiale était relativement constante dans la solution à mesurer.

1.2.2 Usages

Les premiers compteurs électroniques ont servi principalement à compter les cellules sanguines (MATTERN *et al.*, 1957; HAMILTON et DAVIDSON, 1973), en particulier les globules rouges. Ils servirent également à évaluer la distribution en volume et en nombre des spermatozoïdes humains (BROTHERTON et BARNARD, 1974).

Puis, l'océanographie les employa à étudier l'état de la phase particulaire en suspension (McDONALD *et al.*, 1968; McCAYE et JARVIS, 1973) selon la profondeur et la saison (HOBSON, 1967; SUTCLIFFE *et al.*, 1970; SHELDON *et al.*, 1972; SWIFT *et al.*, 1972), la granulométrie des sédiments marins (RUKAVINA et DUNCAN, 1970; COAKLEY et BEAL, 1971) ainsi que les bactéries dans les sédiments soumis à la marée (SANTORO et STOTZKY, 1967; DALE, 1974).

Les biologistes mirent à profit l'efficacité et la rapidité de ces compteurs électroniques pour évaluer la biomasse des populations de phytoplancton (SUBCOMMITTEE ON SEDIMENTATION, I.A.C.W.R., 1964; EVANS et McGill, 1970) et le zooplancton (FULTON, 1972), à la fois en milieu naturel et en laboratoire (MALONEY *et al.*, 1962; MORRISON et TOMKINS, 1973).

Par la suite, le champ d'action des compteurs s'étendit aux particules atmosphériques (FIORENTINA et DELLA, 1971; KNIGHT, 1972; RENDALL et SITTERT, 1972).

Finalement, ces appareils peuvent maintenant déterminer, avec rapidité et précision, l'efficacité des filtres utilisés dans les systèmes hydrauliques (SCHMITZ, 1973).

1.3 Outils mathématiques

1.3.1 Nécessité

Pour un échantillon donné, le compteur de particules nous fournit, on le sait, un spectre de distribution des volumes relatifs ainsi que le nombre de particules qui ont servi à l'établir.

Lorsqu'on veut comparer deux échantillons entre eux, on les amène à la même concentration de particules, puis on examine l'allure du spectre de distribution ainsi que ses particularités: volume moyen, asymétrie, points d'inflexion... . Cependant, la comparaison devient hasardeuse quand l'étude d'une rivière est en cause impliquant quelques centaines d'échantillons; la méthode visuelle d'analyse des spectres devient rapidement laborieuse et, de toute façon, inadéquate. Dès lors s'impose une façon plus systématique d'étudier les phénomènes considérés.

1.3.2 Paramètres

Il devient alors souhaitable d'élaborer un outil mathématique pour caractériser le spectre de distribution et ses particularités. On a donc retenu un certain nombre de paramètres statistiques. Le calcul, pour chacun

des canaux, du nombre de particules, du volume total réel ainsi que du volume moyen des particules de chacun d'eux permet de calculer les paramètres de la distribution des volumes réels suivants:

a) le volume moyen géométrique du spectre (\bar{V}),

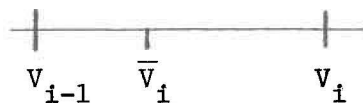
$$\text{on définit } \gamma \text{ tel que } \gamma = \log \bar{V} = \sum_1^n F_i \log \bar{V}_i = \sum_1^n \log (\bar{V}_i^{F_i}) = \log \prod_1^n (\bar{V}_i^{F_i})$$

$$\text{alors } \bar{V} = \prod_1^n \bar{V}_i^{F_i}$$

où

- F_i = fraction du volume total des particules de l'échantillon concernant le canal i
- n = nombre de canaux pour lesquels F_i n'est pas nul
- \bar{V}_i = moyenne géométrique des particules du canal i

En effet, si les bornes du canal i sont



$$\text{alors } \log \bar{V}_i = \frac{1}{2} (\log V_{i-1} + \log V_i) = \frac{1}{2} \log (V_{i-1} V_i)$$

$$\text{et } \bar{V}_i = \sqrt{V_{i-1} V_i}$$

ce qui est par définition une moyenne géométrique.

(cf. 1.2.1)

$$\text{Mais } V_i = 2 V_{i-1}$$

$$\text{Alors } \bar{V}_i = V_{i-1} \sqrt{2}$$

\bar{V} évalue le volume moyen des particules de l'échantillon considérée;

- b) l'écart-type du volume moyen géométrique (σ),

$$\sigma = \left(\sum_{i=1}^n F_i (\log \bar{v}_i - \log \bar{v})^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

évalue la dispersion générale des points par rapport à la moyenne;

- c) les moments d'ordre "r" centrés autour de la moyenne (m_r) sont:

$$m_r = \sum_{i=1}^n F_i [\log \bar{v}_i - \log \bar{v}]^r$$

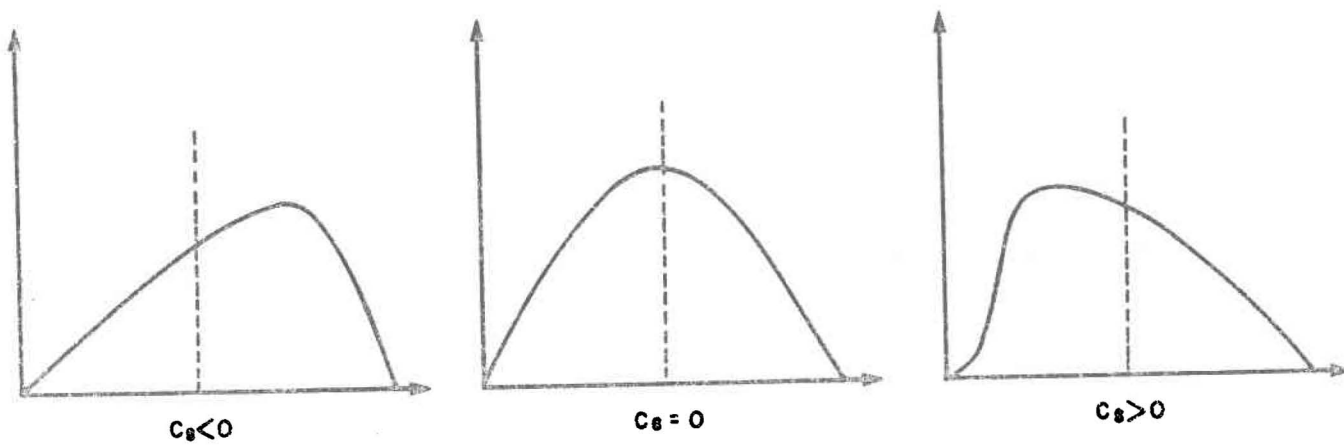
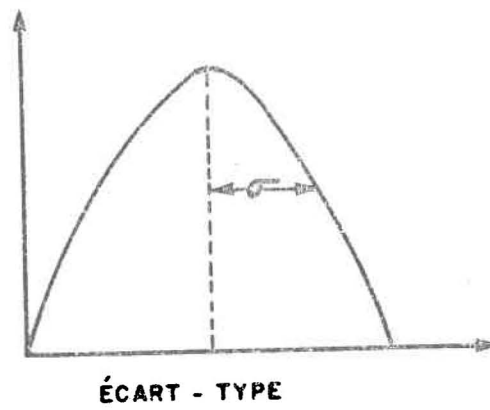
- d) le coefficient d'asymétrie (C_s),

$$C_s = \frac{m_3}{m_2^{3/2}}$$

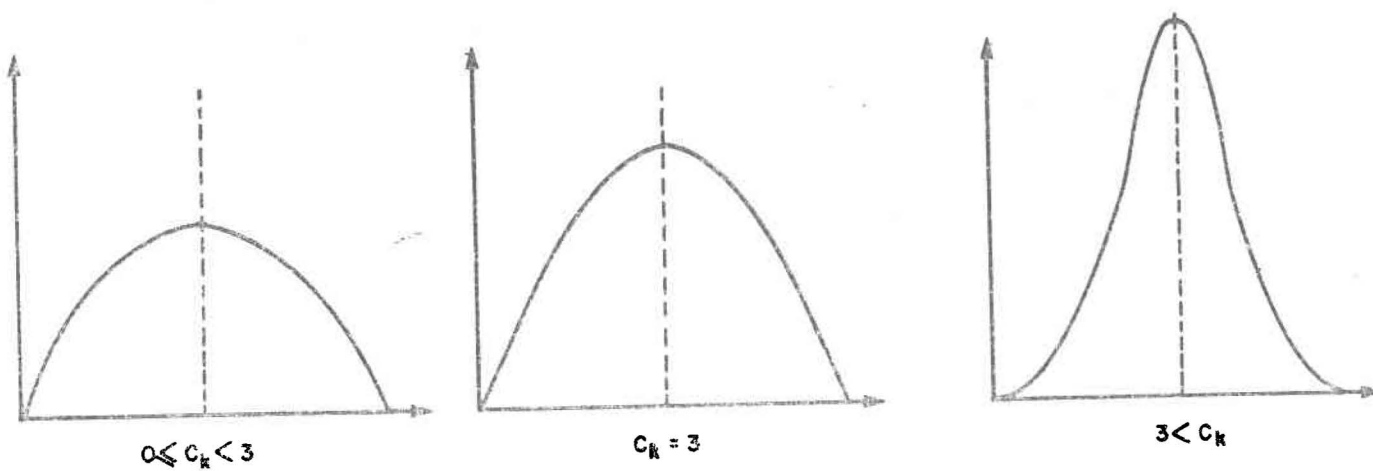
mesure l'asymétrie de la distribution. Pour une distribution symétrique, $C_s = 0$; autrement, la médiane qui partage la surface totale sous la courbe en deux parties égales ne coïncide pas avec la moyenne comme le montre la figure 6. Pour une valeur négative du coefficient d'asymétrie, on dira que la distribution est asymétrique à gauche et dans le cas contraire, à droite:

- e) le coefficient d'aplatissement (C_k),

$$C_k = \frac{m_4}{m_2^2}$$



COEFFICIENT D'ASYMÉTRIE (C_g)



COEFFICIENT D'APLATISSEMENT (C_k)

FIGURE 6. REPRÉSENTATION VISUELLE DE LA SIGNIFICATION DES PARAMÈTRES STATISTIQUES.

évalue l'allure générale de la distribution par rapport à la forme de cloche de la distribution normale. Une distribution de forme aplatie donnera un coefficient d'aplatissement dont la valeur se situera entre 0 et 3, une distribution de forme effilée, une valeur supérieure à 3 et une distribution normale, une valeur de 3.

A cause du mode de représentation de l'appareil qui groupe les résultats du comptage des particules en classe de volume, on a dû apporter des corrections aux moments à cause de cet effet de classe. Ces corrections m'_r dites de Sheppard s'expriment en fonction des moments m_r tels que définis précédemment:

$$m'_1 = m_1$$

$$m'_2 = m_2 - \frac{c^2}{12}$$

$$m'_3 = m_3$$

$$m'_4 = m_4 - \frac{1}{2} m_2 c^2 + \frac{7}{240} c^4$$

Dans notre cas, $c = 0,6923$. On remplacera alors les m_r par les m'_r dans le calcul des paramètres.

Chapitre 2

2. Matériel et méthode

2.1 Cultures d'algues

L'inoculation ainsi que la méthode de culture des algues choisies peuvent être décrites succinctement de la façon suivante.

On prépare 13 litres du milieu de culture PAAP décrit au tableau 3. On les filtre sous $0,22 \mu^3$ puis on soumet à l'autoclave 11 erlenmeyers de 3 litres de capacité, contenant chacun 1 litre de PAAP filtré; cette dernière opération comprend 15 minutes de stérilisation.

D'autre part, on prélève un échantillon d'une culture mature de *Chorella v.*¹ et de *Selenastrum c.*². Puis, on épure ces cultures par deux centrifugations successives à 6000 tours/min. pendant 10 minutes; après chacune d'elles, les algues sont rincées avec une solution de 15 mg/l. de NaHCO_3 .

La concentration de ces échantillons, évaluée par le compteur Coulter, était de $3,6 \times 10^6$ algues/ml. pour les *Chorella v.* et de $4,3 \times 10^6$ pour les *Selenastrum c.* On suppose qu'il n'y a pas eu de pertes importantes lors de l'épuration.

¹ La culture mère avait 21 jours de développement.

² La culture mère avait 18 jours de développement.

³ Filtre millipore GSWPO4700.

Trois erlenmeyers d'une capacité de 3 litres, contenant chacun 1 litre de PAAP stérilisé sont inoculés avec environ $7,2 \times 10^6$ algues *Chlorella v.*; de même, 3 autres erlenmeyers avec environ $6,5 \times 10^6$ algues *Selenastrium c.*; enfin, 3 autres erlenmeyers avec $6,8 \times 10^6$ algues, dont $3,6 \times 10^6$ algues de la première espèce et $3,2 \times 10^6$ algues de la seconde.

Ces 9 erlenmeyers sont soumis pendant 14 jours à un cycle de lumière alternée comprenant 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. La période de lumière s'étend de 10.00 h. le matin à 2.00 h. la nuit pendant l'incubation. Afin de simplifier l'interprétation des résultats, on considèrera 1'heure 00.00 h. comme correspondante au début de la période de lumière et 1'heure 16.00 h. au début de la période nocturne.

Les erlenmeyers sont généralement agités deux fois par jour. La température moyenne durant le cycle lumineux se maintient à $26,5^{\circ}\text{C}$ et diminue à $24,0^{\circ}\text{C}$ durant la phase nocturne.

L'éclairage est assuré par des tubes fluorescents Westinghouse de type "cool white" dont l'intensité combinée se situe à environ 5380 lux¹. Le spectre d'émission photonique de ces tubes est particulièrement bien adapté au processus de la photosynthèse chez les algues (PAYNE, 1975); en effet, ces tubes émettent, de façon préférentielle, les longueurs d'ondes dans les régions de 450 et 580 nm.

2.2 Caractérisation par compteur de particules

La technique de mesure du nombre et du volume des particules par

¹

Environ 500 PIED-CHANDELLES.

compteur comporte plusieurs étapes. En particulier, cette technique, pour des algues triées d'un milieu de culture, prend la forme suivante:

- on prélève une quantité¹ de solution de chacun des erlenmeyers, à l'aide de pipettes à jeter après usage et d'une propipette;
- selon la concentration des algues on mesure directement ou l'on dilue jusqu'à ce que la concentration d'algues soit adéquate, i.e. jusqu'à ce que l'échantillon dilué possède une salinité voisine de 1‰²;
- on agite l'échantillon pour le rendre aussi homogène que possible et on procède à la caractérisation du spectre dimensionnel au moyen du compteur de particules;
- on prend en note le nombre total de particules comptées ainsi que leur distribution en volume relatif selon 11 canaux, lesquels vont du 6ième en 16ième inclusivement³. La figure 7 nous donne un exemple des renseignements que fournit le compteur;
- on mesure jusqu'à ce que la distribution des volumes ne soit plus altérée de façon significative par un nombre supérieur de particules comptées.

2.3 Précision de la méthode

Plusieurs facteurs peuvent être invoqués afin d'expliquer la différence des résultats observés lors du comptage du même échantillon ainsi que d'un échantillon à l'autre, tous deux issus de la même culture mère.

¹

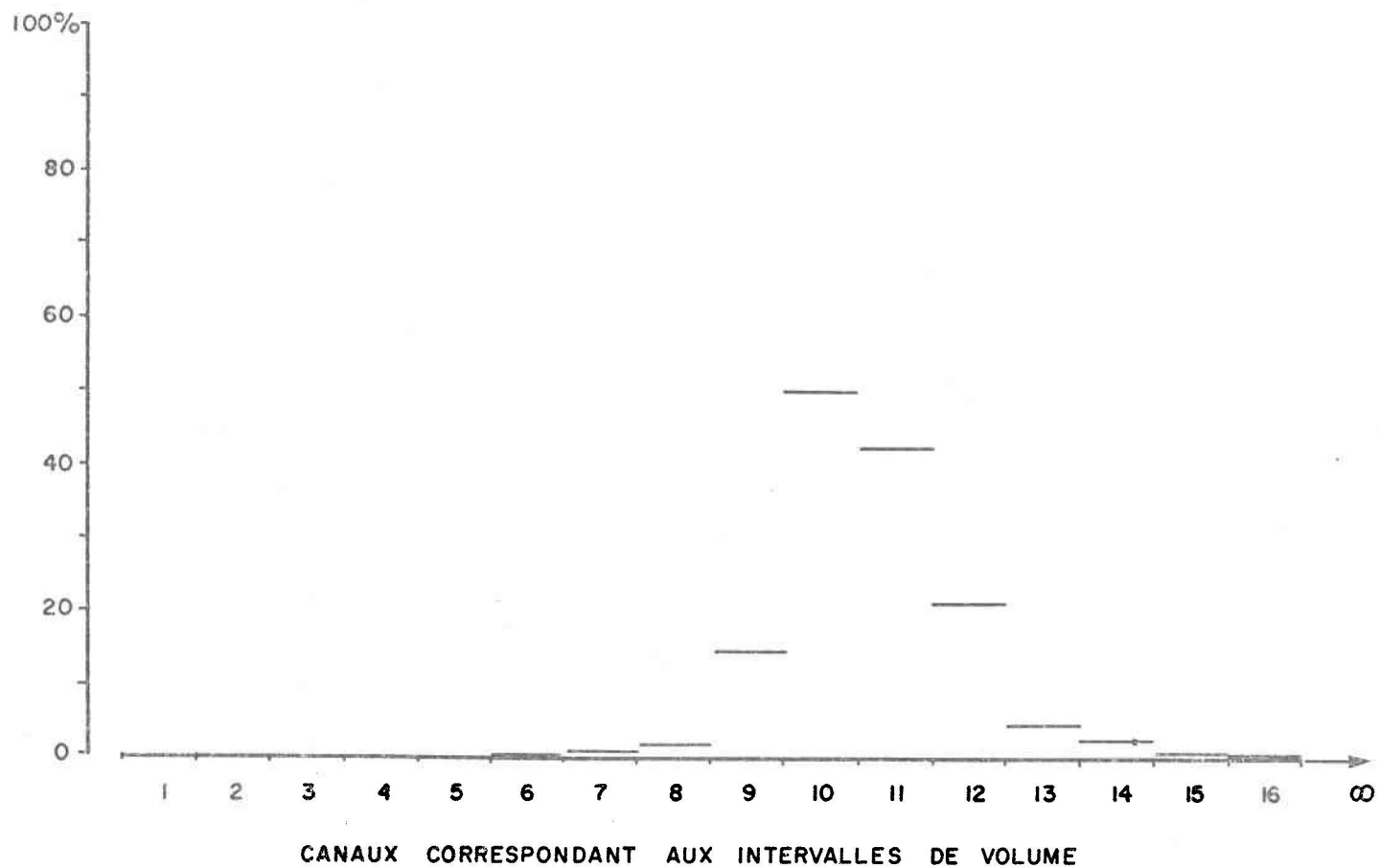
Entre 1 et 20 millilitres.

²

1 gramme de NaCl par 100 millilitres de solution.

³

Le choix de ces 11 canaux découle directement de la calibration effectuée avec les billes de polystyrène à la section 1.2.1.



1	0	6	2	5	4
---	---	---	---	---	---

FIGURE 7. SCHÉMA REPRÉSENTANT L'AFFICHAGE DE LA DISTRIBUTION DES POUR-CENTAGES DU VOLUME TOTAL AINSI QUE LE NOMBRE TOTAL DES PARTICULES COMPTÉES PAR LE COMPTEUR COULTER.

Des impuretés sont introduites en faisant sécher les récipients de 25 ml debout et sans couvercle. Lors du pipetage d'un échantillon d'algues, plus on pipettera rapidement et plus les petites algues seront aspirées de préférence aux plus grosses à cause de leur masse. De même, quand on vide la pipette, il reste toujours une quantité variable d'algues sur les parois de la pipette et jamais la même quantité; cette quantité s'accroît avec la concentration de l'échantillon.

D'autre part, plus le facteur de dilution augmente, plus l'évaluation du nombre d'algues devient approximative, puisqu'on mélange une quantité de plus en plus petite d'algues avec une quantité de plus en plus grande de solution saline.

Quant à l'appareil lui-même, plus la concentration d'algues augmente, plus grande est la probabilité que deux algues passent en même temps par l'orifice d'aspiration et soient comptées comme une seule (figure 8): il s'agit là du phénomène de coïncidence. Pour les concentrations expérimentales présentes, la coïncidence affecte très peu la distribution et un peu le nombre total d'algues comptées (MATTERN *et al.*, 1957). D'après les spécifications fournies pour le tube de 50 μ d'orifice, la variation du nombre total due à la coïncidence est de l'ordre de 2 à 4%¹.

Ne tenant compte que du nombre total mesuré et de la dimension de l'orifice du tube, ces variations théoriques peuvent être mises en doute quant à l'application généralisée à toutes les formes de particules soumises au comptage. En effet, intuitivement, on admet que la coïncidence n'est pas

¹

Cf. Manuel d'instruction du Coulter Counter, modèle ZB.

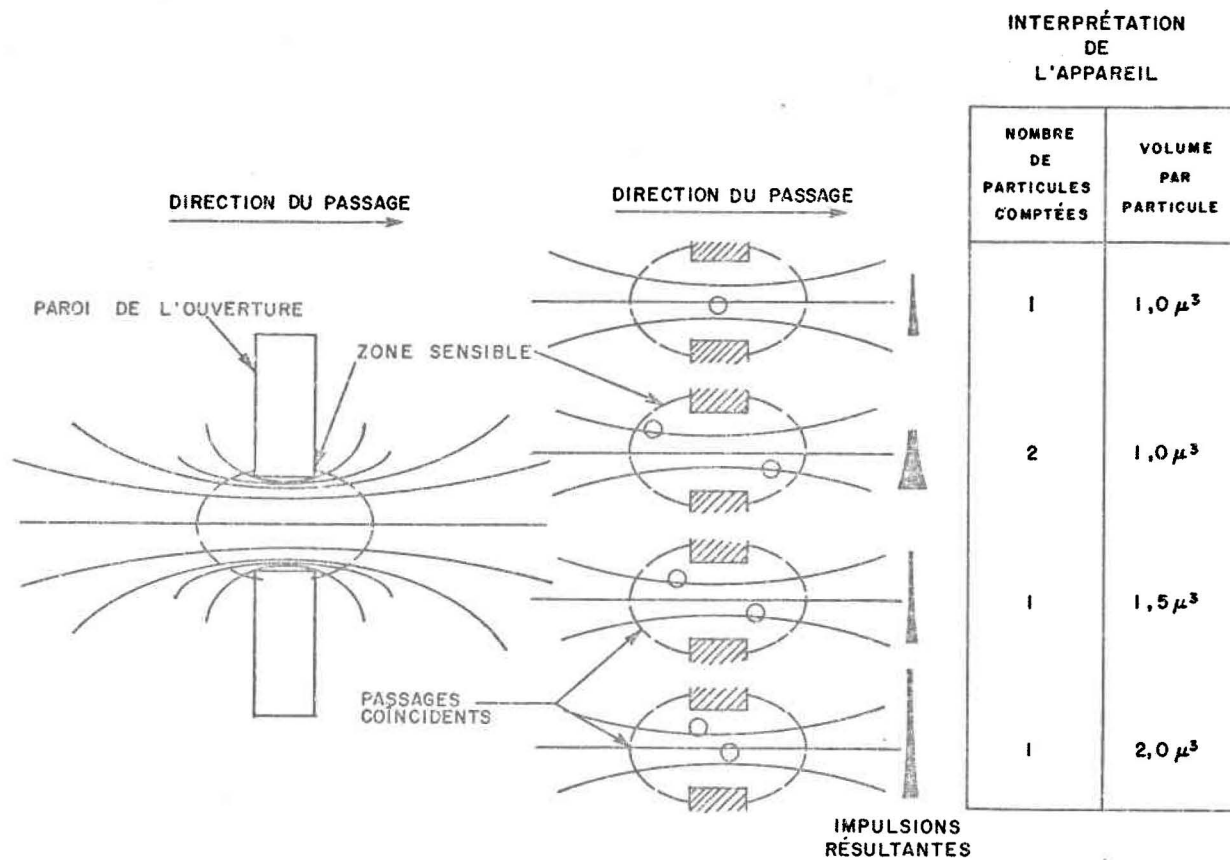


FIGURE 8. SCHÉMA MONTRANT LA ZONE SENSIBLE, LES DIFFÉRENTES POSSIBILITÉS DE PASSAGE DE DEUX PARTICULES DANS CELLE-CI, AINSI QUE L'INTERPRÉTATION CORRESPONDANTE DE L'APPAREIL (SUBCOMMITTEE ON SEDIMENTATION, I.A.C.W.R., 1964).

de même importance pour des sphères de polystyrène que pour des algues qui, pour cette expérience, étaient de forme arrondie pour les *Chlorella v.* et de forme allongée pour les *Selenastrum c.*

D'autre part, ni dans la littérature ni dans les spécifications de l'appareil, on ne trouve de pourcentage de variation du nombre total et de la distribution relative en volume pour une population bien définie, telle une culture d'algues.

Nous avons donc choisi d'évaluer expérimentalement l'erreur sur les mesures.

2.4 Evaluation de la précision des mesures

A cette fin, trois expériences ont été menées à l'aide d'une population mature de *Chlorella v.* Chacune de ces expériences a été répétée 30 fois afin de disposer d'un échantillon suffisant d'observations. La procédure employée comprend celle décrite à la section 2.2. De plus, on choisit de préférence une population à maturité puisque c'est dans ces conditions que les erreurs de manipulation et de mesure sont les plus grandes.

La procédure de la première expérience (expérience A) est la suivante:

- on pipette 1 ml. d'un erlenmeyer de 3 l. contenant 1 l. de culture d'algues;
- on dilue selon une proportion 1 dans 24 avec une eau saline¹;
- on mesure le nombre et la distribution volumique des algues à l'aide du compteur;

¹ Eau déionisée (purifiée selon la méthode Millipore MILLI Q3R0/MILLI Q2) contenant 1% de NaCl et 0.1% de NaN₂.

- on vide et on rince le récipient de mesure avec de l'eau déionisée.

La deuxième expérience (expérience B) consiste à enlever l'erreur de dilution de l'expérience A. Dans un erlenmeyer de 1 l., on verse 40 ml. de culture qu'on dilue avec 960 ml. d'eau saline¹ pour obtenir une dilution 1 dans 24. La procédure de cette expérience est la suivante:

- on brasse l'erlenmeyer;
- on verse environ 20 ml. de solution dans un récipient de 25 ml;
- on mesure le nombre et la distribution volumique au compteur;
- on vide le récipient et on le rince à l'eau déionisée.

La troisième expérience (expérience C) consiste à évaluer la variabilité de l'appareil en comptant le même échantillon 30 fois. On verse donc, environ 100 ml. de la solution de l'expérience B dans un récipient de 150 ml. La procédure est la suivante:

- on ouvre le robinet d'aspiration;
- on chasse les bulles d'air du tube d'aspiration à l'aide du robinet de vidange;
- on mesure le nombre et la distribution volumique des algues;
- on ferme le robinet d'aspiration.

Bien que cette expérience n'ait duré qu'une demi-heure, le récipient n'a pas été agité entre chaque mesure. Les algues ont pu alors commencer à sédimenter.

Puis, on a calculé la moyenne, l'écart-type, le coefficient d'asymétrie et le coefficient d'aplatissement de chaque paramètre étudié et

¹ Même eau saline que pour l'expérience A.

cela pour chacune des trois expériences. Ces paramètres sont, en l'occurrence, le nombre de particules par millilitre, la concentration, le volume moyen, le logarithme du volume moyen, son écart-type, son coefficient de variation, son coefficient d'asymétrie et son coefficient d'aplatissement. On a constaté que la plupart de ces paramètres suivent une distribution normale.

Chapitre 3

3. Résultats

3.1 Précision des résultats

Au tableau 5 apparaissent les résultats obtenus lors de l'expérience A décrite à la section 2.4.

Le tableau 6 présente les résultats de l'analyse statistique effectuée sur chaque paramètre et indique la valeur de la moyenne, l'écart-type, des coefficients d'asymétrie et d'aplatissement. La formule de calcul de ces derniers ainsi que leur signification apparaissent à la section 1.3.2.

On a vérifié, à l'aide d'intervalles de confiance, si les paramètres étudiés suivent une distribution normale au niveau de confiance de 99%.

Pour un échantillon de 30 observations, on considère qu'un paramètre suit une distribution normale si son coefficient d'asymétrie ou son coefficient d'aplatissement se situe à l'intérieur des intervalles suivants (BOBEE et ROBITAILLE, 1976) à un niveau de probabilité donné:

NIVEAU DE CONFIANCE	COEFFICIENT D'ASYMETRIE	COEFFICIENT D'APLATISSEMENT
95 %	$-0,85 \leq C_s \leq 0,85$	$1,35 \leq C_k \leq 4,65$
99 %	$-1,1 \leq C_s \leq 1,1$	$0,85 \leq C_k \leq 5,15$

TABLEAU 5. Représentation des paramètres caractéristiques d'une population de *Chlorella vulgaris*, obtenus de trente mesures successives prises dans des conditions expérimentales identiques.

ESSAI	PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
	Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
1	3,76	96,2	3,605	,686	,190	36,8	-0,8	8,8
2	3,70	96,0	3,590	,650	,181	36,2	-0,9	9,4
3	3,69	95,6	3,587	,640	,178	36,1	-0,9	8,8
4	3,75	95,8	3,590	,671	,187	36,2	-0,8	8,7
5	3,77	97,3	3,595	,654	,182	36,4	-0,9	8,6
6	3,87	104,4	3,596	,651	,181	36,4	-0,5	6,9
7	3,93	99,0	3,605	,699	,194	36,8	-0,7	8,9
8	3,74	97,7	3,610	,667	,185	37,0	-0,9	9,0
9	3,53	89,1	3,581	,659	,184	35,9	-1,0	8,4
10	3,72	95,6	3,590	,654	,182	36,2	-0,9	8,4
11	3,82	97,5	3,587	,658	,183	36,1	-0,9	9,1
12	3,86	99,5	3,596	,643	,179	36,5	-1,1	9,2
13	3,61	92,0	3,583	,651	,182	36,0	-1,0	8,6
14	3,74	94,6	3,580	,659	,184	35,9	-1,0	9,5
15	3,76	94,1	3,581	,673	,188	35,9	-0,9	8,4
16	3,71	95,6	3,585	,651	,181	36,1	-1,0	9,2
17	3,77	96,6	3,605	,694	,193	36,8	-0,6	8,6
18	3,76	97,4	3,590	,643	,179	36,2	-1,1	9,1
19	3,67	92,4	3,575	,650	,182	35,7	-1,2	9,1
20	3,76	98,6	3,599	,649	,180	36,5	-0,9	9,6
21	3,68	95,2	3,582	,630	,176	35,9	-1,1	8,9
22	3,74	92,6	3,553	,645	,181	34,9	-1,2	9,6
23	3,63	91,7	3,575	,664	,186	35,7	-0,9	8,9
24	3,65	92,0	3,566	,639	,179	35,4	-1,1	8,8
25	3,67	91,5	3,557	,643	,181	35,1	-1,2	9,4
26	3,65	92,9	3,570	,633	,177	35,5	-1,1	8,9
27	3,73	93,3	3,570	,655	,184	35,5	-1,1	9,4
28	3,65	94,5	3,585	,669	,187	36,0	-0,5	9,4
29	3,65	90,3	3,551	,635	,179	34,9	-1,2	9,2
30	3,63	92,8	3,583	,648	,181	36,0	-1,0	8,5

TABLEAU 6. Etude statistique de la distribution des paramètres caractéristiques d'une population d'algues déterminés successivement 30 fois dans des conditions de mesure identiques.

	PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
	NOMBRE DE PARTICULES PAR MILLILITRE	CONCENTRATION EN PPM	LOGe DU VOLUME MOYEN	ECART-TYPE	COEFFICIENT DE VARIATION	VOLUME MOYEN EN μ^3	COEFFICIENT D'ASYMETRIE	COEFFICIENT D'APLATISSEMENT
MOYENNE	$3,72 \times 10^6$	95,1	3,584	0,655	0,183	36,0	-1,0	8,9
ECART-TYPE	$8,42 \times 10^4$	3,1	0,015	0,017	0,004	0,5	0,2	0,5
COEFFICIENT D'ASYMETRIE	0,3	0,6	-0,5	1,0	1,0	-0,5	0,6	-1,9
COEFFICIENT D'APLATISSEMENT	4,0	4,2	3,1	3,9	3,8	3,0	3,1	9,4
PRECISION RELATIVE ¹	0,8 %	1,1 %	0,2 %	1,0 %	1,0 %	0,6 %	7,0 %	1,6 % ²

¹ La précision relative a été calculée à l'aide d'intervalles de confiance à 95% évalués à l'aide des tables de Student.

² La précision relative du coefficient d'aplatissement n'apparaît ici qu'à titre indicatif.

En vertu du fait que tous les paramètres, sauf le coefficient d'aplatissement, suivent une loi normale, on a pu déterminer les intervalles de confiance des moyennes de chacun d'eux et exprimer en pourcentage ces intervalles. Ceux-ci représentent, comme nous l'avons montré à la section 2.4, la plus grande variation possible des paramètres. La valeur de ces pourcentages apparaissent au bas du tableau 6.

Les intervalles de confiance ont été calculés de la façon suivante; à titre d'exemple, considérons le paramètre volume moyen. La théorie statistique affirme que l'expression

$$\frac{\bar{x} - \gamma}{\sigma/\sqrt{n}} = t$$

où: \bar{x} = moyenne estimée de la population

γ = moyenne réelle (inconnue)

σ = écart-type réel (inconnu); on l'estime par $s = \left[\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right]^{\frac{1}{2}}$

n = taille de l'échantillon tiré de la population

suit une loi normale, mais lorsque σ est inconnu, on l'estime par s et alors t suit une loi de Student à $n-1$ degrés de liberté et de niveau $\alpha/2$. On exprime enfin l'intervalle de confiance de γ ainsi que la précision relative des résultats ϵ comme suit:

$$\bar{x} - \frac{ts}{\sqrt{n}} \leq \gamma \leq \bar{x} + \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

et

$$\left| \frac{\gamma - \bar{x}}{\bar{x}} \right| = \epsilon$$

Admettons que pour fins d'exemple

$$\bar{x} = 36$$

$$s = 0,5$$

$$n = 30$$

Alors si 2,045 correspond, pour une loi de Student, au niveau de probabilité au non dépassement de 97,5%, l'expression de t devient:

$$\frac{36 - \gamma}{0,5/\sqrt{30}} = 2,045$$

$$36 - 0,2 \leq \gamma \leq 36 + 0,2$$

et

$$\left| \frac{\gamma - \bar{x}}{\bar{x}} \right| = \varepsilon = 0,006 \text{ ou } 0,6\%$$

Le niveau de confiance de 95% peut s'interpréter de la façon suivante: en supposant que la moyenne réelle, γ , se situe dans l'intervalle ci-haut, on a 5 chances sur 100 de rejeter cette hypothèse, alors qu'elle est vraie.

3.2 Spectres caractéristiques

Voyons maintenant trois spectres caractéristiques d'une culture de *Chlorella v.* au cours de sa phase d'adaptation, sa phase exponentielle et au début de sa phase stationnaire. Plus particulièrement, la figure 9 présente

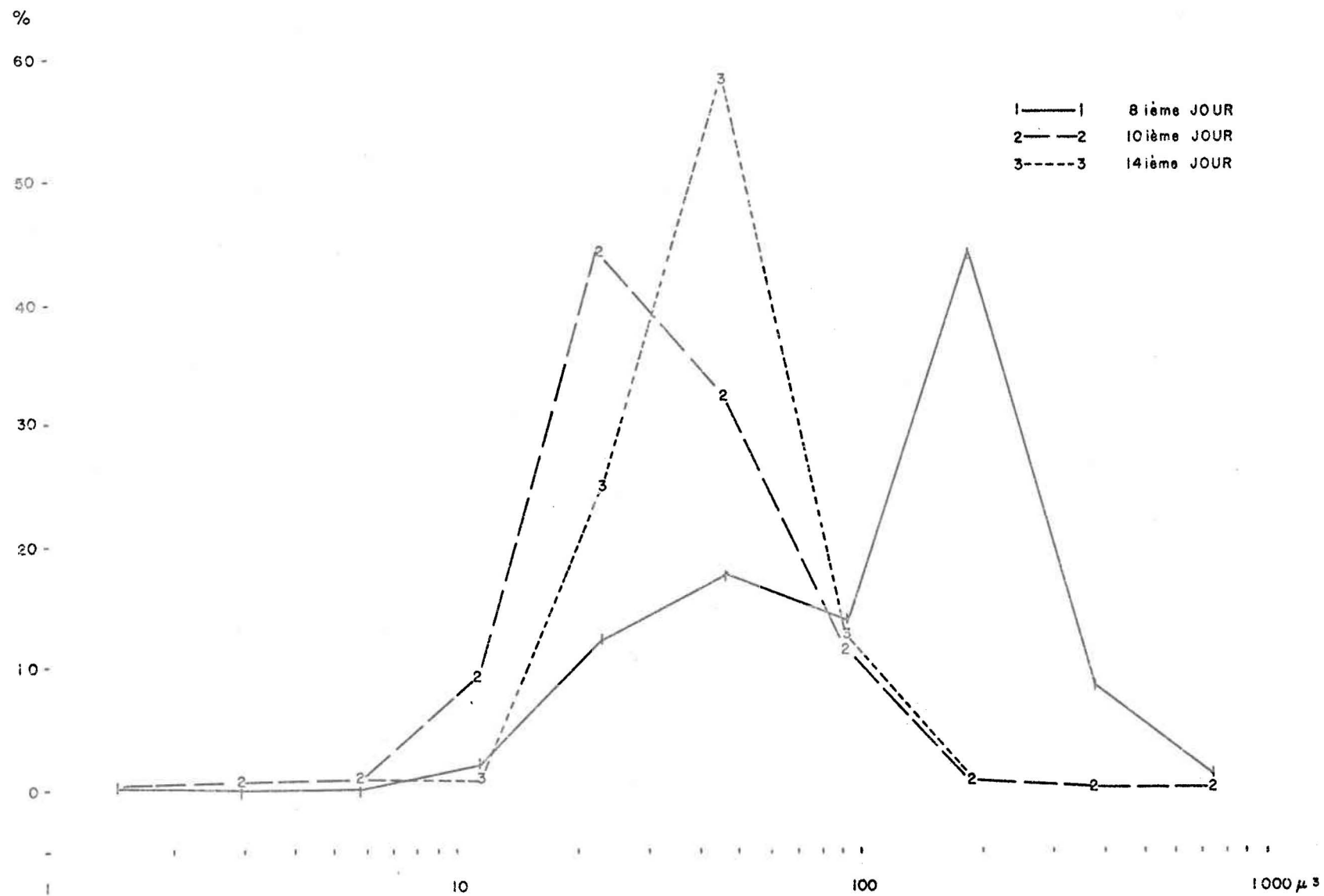


FIGURE 9. COURBES DE FRÉQUENCE DU POURCENTAGE EN VOLUME DU PREMIER TRIPPLICATA DE CHLORELLA V. LE 8ième, 10ième, ET 14ième JOUR VERS 2:00 H.

le premier triplicata¹ de *Chlorella v.* (CHLO 1) aux alentours de 2.00 h.² les 8ième, 10ième et 14ième jour après l'inoculation.

De même, la figure 10 nous montre la deuxième triplicata de *Selenastrum c.* (CAP 2) aux environ de 1.45 h. les 7ième, 10ième et 14ième jour.

Enfin, la figure 11 montre le deuxième triplicata de la culture mixte (CLOCAP 2) aux alentours de 2.00 h.² les 8ième, 10ième et 14ième jour.

3.3 Evolution chronologique des paramètres

Les tableaux 7 à 15 nous présentent l'évolution chronologique des paramètres importants pour les triplicata de chacune des cultures. Le nombre de chiffres significatifs a été établi en tenant compte de la variation de chacun des paramètres telle que présentée au tableau 6.

A partir de ces données numériques plusieurs représentations graphiques étaient possibles. On a retenu les figures 9 à 23 comme celles qui présentent le plus d'intérêt pour les fins du présent travail.

¹ Le mot triplicata désigne, dans ce travail, pour une espèce d'algues indifféremment la première, la deuxième ou la troisième culture tirée d'une même culture mère.

² C'est-à-dire deux heures après le début de la phase lumineuse.

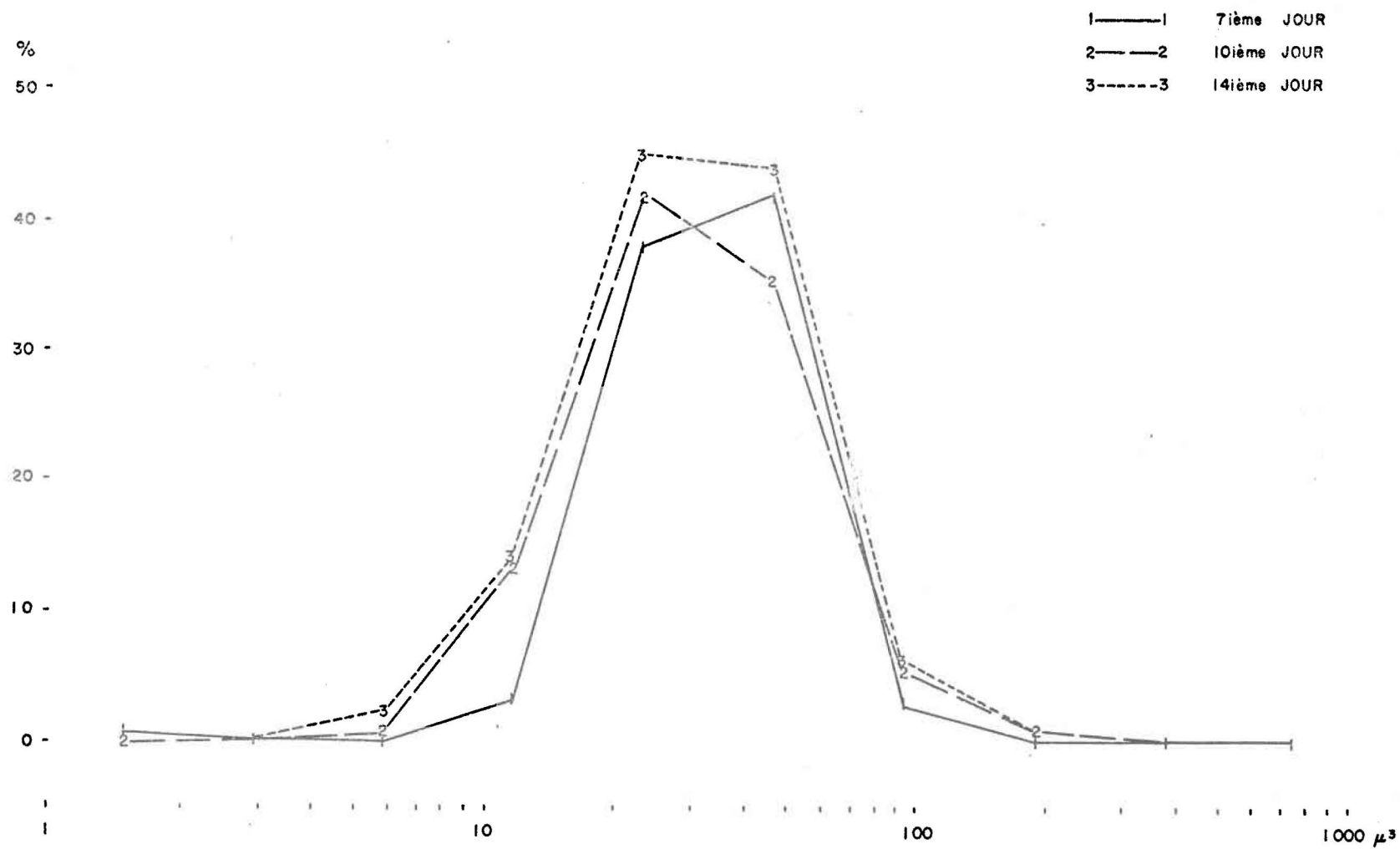


FIGURE 10. COURBES DE FRÉQUENCE DU POURCENTAGE EN VOLUME DU DEUXIÈME TRIPPLICATA DE SELENASTRUM C. LES 7ième, 10ième ET 14ième JOUR VERS 2:00 H.

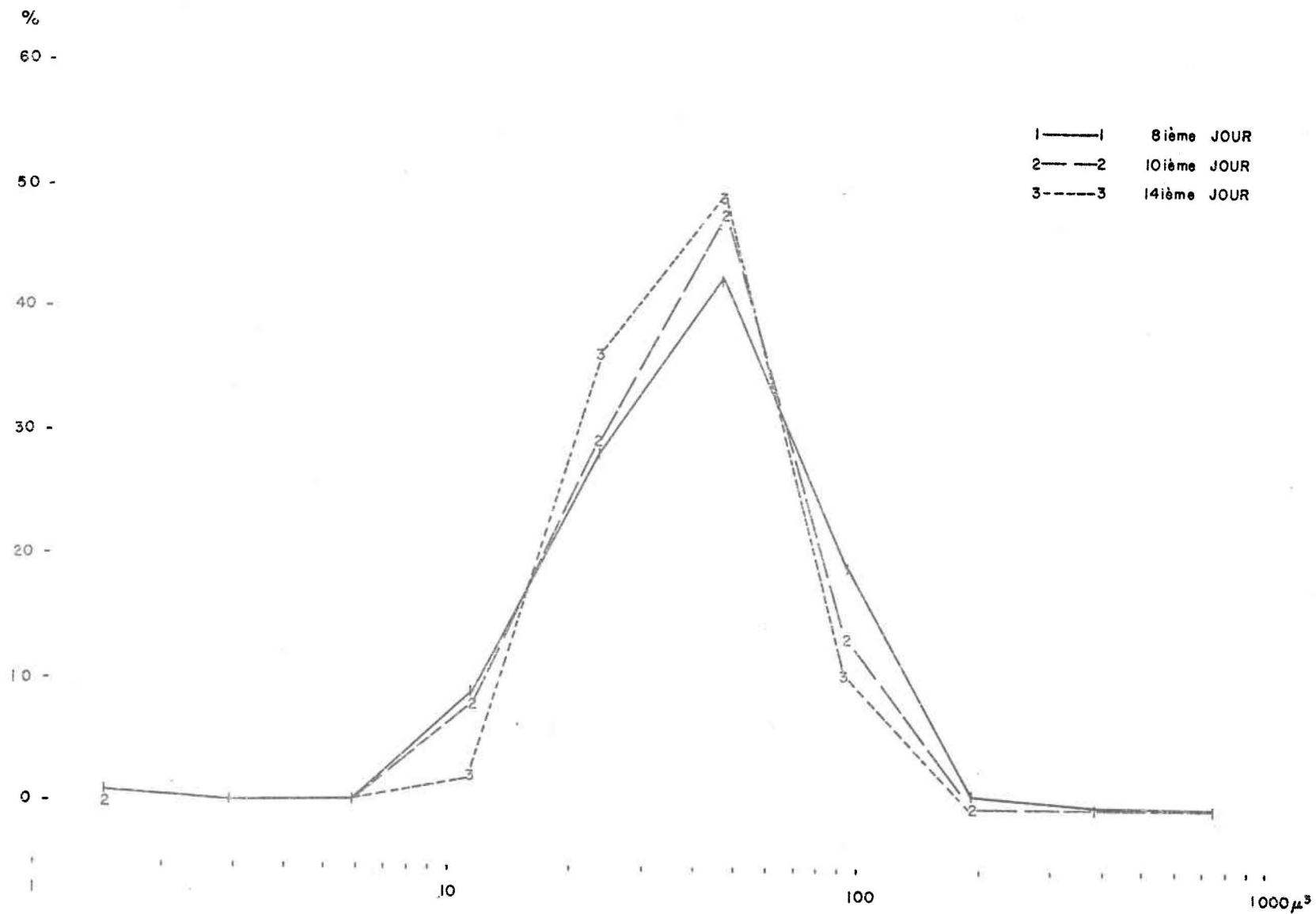


FIGURE II. LES COURBES DE FRÉQUENCE DU POURCENTAGE EN VOLUME DU DEUXIÈME TRIPLICATA D'UNE CULTURE MIXTE DE SELENASTRUM C. ET DE CHLORELLA V. LES 8ième, 10ième ET 14ième JOUR VERS 2:00H.

TABLEAU 7. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de Chlorella vulgaris, ler triplicata.

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre x 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	13.30	0,01	0,41	4,157	0,809	0,195	63,9	-0,31	6,55
1	2.58	0,01	0,42	4,182	0,834	0,199	65,5	-0,89	7,54
2	11.51	0,03	0,73	3,624	0,825	0,228	37,5	-0,74	4,88
2	11.58	0,03	0,74	3,617	0,862	0,238	37,2	-0,59	5,62
3	6.08	0,04	1,17	3,820	0,998	0,261	45,6	-0,35	4,78
4	0.37	0,04	1,44	4,043	0,832	0,206	57,0	-0,05	6,70
4	4.14	0,05	1,78	4,127	0,833	0,202	62,0	-0,61	6,16
4	11.33	0,05	2,15	4,304	0,828	0,192	74,0	-0,89	7,29
5	1.00	0,07	2,25	4,287	0,973	0,227	72,8	-1,17	7,04
5	7.30	0,12	2,52	3,909	1,111	0,284	49,9	-0,66	4,29
6	1.33	0,26	6,52	3,750	0,893	0,238	42,5	-0,50	4,81
6	6.44	0,34	7,61	3,553	0,844	0,237	34,9	-0,27	4,97
6	8.27	0,25	6,73	3,952	0,903	0,229	52,0	-1,07	6,51
6	12.50	0,37	11,1	3,812	0,769	0,202	45,2	-0,32	6,52
6	14.40	0,40	13,1	3,901	0,783	0,201	49,5	-0,26	6,50
6	16.35	0,40	13,3	3,888	0,729	0,188	48,8	-0,57	6,77
6	18.28	0,42	13,6	3,915	0,773	0,197	50,1	-0,49	7,12
7	1.55	0,42	13,3	3,840	0,719	0,187	46,5	-0,65	6,65
7	9.37	0,50	17,5	3,955	0,699	0,177	52,2	-0,98	7,33
8	2.02	0,50	21,5	4,221	0,829	0,196	68,1	-0,18	5,89
8	4.01	0,63	24,5	4,040	0,706	0,175	56,9	-0,90	5,62
9	5.17	1,64	42,2	3,567	0,762	0,214	35,4	-0,12	4,00
9	7.17	2,11	52,9	3,555	0,731	0,206	35,0	-0,28	4,37
10	2.15	2,29	54,3	3,459	0,638	0,184	31,8	-0,50	5,70
10	9.04	2,59	66,5	3,523	0,633	0,180	33,9	-0,43	7,24
11	1.23	2,79	70,8	3,526	0,620	0,176	34,0	-0,75	9,62
11	6.14	3,25	81,5	3,506	0,585	0,167	33,3	-1,32	10,28
12	7.01	3,61	102	3,610	0,544	0,151	37,0	-1,64	11,64
13	1.46	4,12	111	3,614	0,567	0,157	37,1	-2,02	12,91
14	2.17	3,96	119	3,710	0,564	0,152	40,9	-1,82	12,26

TABLEAU 8. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de Chlorella vulgaris, 2ième triplicata.

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre x 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	13.07	0,01	0,41	4,265	0,980	0,230	71,2	0,18	5,05
1	3.04	0,01	0,43	4,267	0,812	0,190	71,3	-0,79	7,38
2	12.16	0,03	0,88	3,685	0,966	0,262	39,8	0,82	5,22
2	12.18	0,03	0,83	3,629	0,860	0,237	37,7	0,71	4,83
3	6.25	0,04	1,17	3,777	0,925	0,245	43,7	0,36	5,14
4	0.43	0,04	1,38	4,051	0,854	0,211	57,5	0,02	6,46
4	4.20	0,04	1,49	4,111	0,863	0,210	61,0	-0,35	5,93
4	11.42	0,04	1,79	4,273	0,872	0,204	71,8	-0,53	6,11
5	1.08	0,05	1,58	4,273	0,966	0,226	71,8	-0,90	6,69
5	7.35	0,09	2,21	4,026	1,059	0,263	56,1	-0,57	4,73
6	1.39	0,18	4,41	3,847	0,974	0,253	46,9	-0,43	5,03
6	6.48	0,27	5,50	3,655	0,961	0,263	38,7	-0,51	5,00
6	9.50	0,18	3,77	3,811	0,953	0,250	45,2	-1,26	6,23
6	13.40	0,27	6,92	3,760	0,857	0,228	42,9	-0,42	6,12
6	14.47	0,33	9,20	3,877	0,844	0,218	48,3	-0,78	6,26
6	16.42	0,31	10,3	3,939	0,792	0,201	51,4	-0,34	6,03
6	18.33	0,33	10,7	3,936	0,774	0,197	51,2	-0,69	5,75
7	1.59	0,25	0,68	3,815	0,869	0,228	45,4	-0,49	5,63
7	9.43	0,42	14,4	3,981	0,774	0,194	53,6	-0,57	5,89
8	2.07	0,52	18,7	4,010	0,777	0,194	55,1	-0,61	6,04
8	4.06	0,57	20,5	4,016	0,791	0,197	55,5	-0,49	5,29
9	5.22	1,40	36,8	3,625	0,774	0,214	37,5	-0,06	4,41
9	7.22	1,78	45,7	3,590	0,736	0,205	36,2	-0,35	4,53
10	2.19	1,98	48,8	3,516	0,675	0,192	33,7	-0,47	6,30
10	9.11	2,33	58,7	3,525	0,659	0,187	33,9	-0,38	7,10
11	1.25	3,07	77,3	3,504	0,570	0,163	33,3	-1,31	9,74
11	6.18	2,96	73,4	3,504	0,597	0,170	33,2	-1,06	9,84
12	7.07	3,49	90,7	3,554	0,555	0,156	35,0	-1,70	11,22
13	1.48	3,85	99,1	3,558	0,568	0,160	35,1	-1,82	10,99
14	2.22	4,07	111	3,633	0,584	0,161	37,8	-1,98	12,01

TABLEAU 9. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de *Chlorella vulgaris*, 3ième triplicata.

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Loge du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	13.20	0,01	0,47	4,165	0,936	0,225	64,4	-0,34	6,00
1	3.07	0,01	0,44	4,286	0,804	0,188	72,7	-0,72	7,20
2	12.24	0,03	0,70	3,689	0,884	0,240	40,0	-0,59	4,41
2	12.27	0,03	0,73	3,693	0,928	0,251	40,2	-0,60	4,87
3	6.15	0,03	0,79	3,927	1,065	0,271	50,8	-0,12	4,07
4	0.59	0,03	0,88	4,118	1,015	0,246	61,4	-0,16	4,71
4	4.27	0,03	1,00	4,155	1,032	0,248	63,8	-0,22	4,26
4	11.46	0,03	1,31	4,319	0,957	0,222	75,1	-0,66	5,70
5	1.13	0,06	1,58	4,300	1,182	0,275	73,7	-0,87	4,76
5	7.38	0,10	2,07	3,964	1,197	0,302	52,7	-0,47	3,80
6	1.43	0,18	4,11	3,718	1,026	0,276	41,2	-0,26	4,38
6	7.02	0,36	8,06	3,594	0,878	0,244	36,4	-0,24	4,78
6	9.53	0,40	9,69	3,630	0,854	0,235	37,7	-0,04	5,42
6	13.47	0,43	12,0	3,775	0,826	0,219	43,6	-0,06	5,71
6	14.52	0,35	12,2	4,003	0,799	0,200	54,8	-0,44	6,55
6	16.47	0,42	13,5	3,872	0,761	0,196	48,1	-0,28	6,41
6	18.40	0,43	14,5	3,925	0,785	0,200	50,7	-0,16	6,37
7	2.02	0,45	13,6	3,803	0,742	0,195	44,8	-0,46	6,49
7	9.48	0,49	18,0	3,979	0,705	0,177	53,5	-0,58	7,26
8	2.12	0,60	24,6	4,078	0,719	0,176	59,0	-0,46	6,11
8	4.10	0,54	23,2	4,228	0,791	0,187	68,6	-0,66	5,94
9	5.27	1,67	43,0	3,604	0,798	0,222	36,8	-0,04	3,77
9	7.23	2,14	53,7	3,592	0,777	0,216	36,3	-0,32	3,99
10	2.22	2,28	54,6	3,492	0,699	0,200	32,8	-0,28	5,74
10	9.13	2,71	64,0	3,474	0,661	0,190	32,3	-0,50	6,75
11	1.29	2,95	70,0	3,467	0,619	0,178	32,1	-0,80	8,82
11	6.23	3,30	78,5	3,461	0,600	0,173	31,8	-1,09	10,41
12	7.11	3,56	92,8	3,543	0,570	0,161	34,6	-1,51	11,58
13	1.52	3,98	106	3,570	0,549	0,154	35,5	-1,73	11,33
14	2.27	4,12	122	3,677	0,564	0,153	39,5	-1,70	12,38

TABLEAU 10. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de Selenastrum capricornutum, 1er triplicata.

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	13.40	0,01	0,27	3,728	0,983	0,264	41,6	0,90	5,90
1	2.40	0,01	0,26	3,922	0,812	0,207	50,5	-0,95	9,29
2	11.19	0,04	1,19	3,738	0,781	0,209	42,0	-0,29	6,12
3	6.29	0,11	2,62	3,536	0,760	0,215	34,3	-0,28	5,01
4	1.04	0,18	4,06	3,493	0,729	0,209	32,9	-0,70	6,74
4	4.32	0,21	4,80	3,484	0,712	0,204	32,6	-0,23	7,63
4	11.54	0,19	5,36	3,792	0,705	0,186	44,4	-1,70	10,78
4	12.55	0,22	5,93	3,614	0,580	0,161	37,1	-1,42	9,36
5	1.17	0,35	7,62	3,431	0,710	0,207	30,9	-0,75	5,71
5	7.50	0,44	9,61	3,393	0,646	0,190	29,8	-0,79	5,70
6	2.43	0,66	14,6	3,379	0,591	0,175	29,4	-0,67	5,98
6	6.25	0,73	16,1	3,337	0,606	0,182	28,1	-0,28	7,62
6	10.25	0,78	18,3	3,425	0,589	0,172	30,7	-0,95	9,05
6	12.57	0,75	20,6	3,521	0,506	0,144	33,8	-0,88	7,21
6	15.59	0,79	22,3	3,560	0,521	0,146	35,1	-1,08	8,85
6	17.26	0,80	24,3	3,612	0,475	0,131	37,1	-0,65	7,06
6	19.15	0,84	25,2	3,620	0,519	0,143	37,3	-0,99	7,73
7	1.30	1,25	28,4	3,390	0,616	0,182	29,7	-0,72	3,99
7	9.00	1,46	34,4	3,375	0,556	0,165	29,2	-0,43	4,03
8	1.18	2,08	51,1	3,435	0,584	0,170	31,0	-0,47	4,14
8	3.28	2,17	50,2	3,365	0,590	0,175	28,9	-0,15	5,63
9	4.47	2,91	76,2	3,438	0,516	0,150	31,1	0,01	5,07
9	6.55	3,01	80,0	3,460	0,518	0,150	31,8	0,23	5,74
10	1.32	3,08	87,9	3,548	0,549	0,155	34,7	0,01	6,32
10	8.07	3,97	109	3,488	0,523	0,150	32,7	-0,15	4,67
11	10.58	4,36	124	3,542	0,528	0,149	34,5	-0,16	4,85
11	5.48	5,19	143	3,506	0,518	0,148	33,3	-0,33	6,82
12	6.40	6,17	173	3,510	0,498	0,142	33,4	-0,12	7,31
13	1.23	6,80	200	3,541	0,462	0,131	34,5	0,14	6,65
14	1.28	7,54	226	3,578	0,533	0,149	35,8	0,57	11,44

TABLEAU 11. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de Selenastrum capricornutum, 2ième triplicata.

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	13.50	0,01	0,29	3,808	1,049	0,275	45,1	0,88	5,10
1	2.47	0,01	0,29	3,697	0,840	0,227	40,3	0,63	7,72
2	11.34	0,04	1,17	3,671	0,754	0,205	39,3	-0,18	4,27
3	6.35	0,08	2,00	3,568	0,760	0,213	35,4	-0,39	5,89
4	1.08	0,18	3,88	3,520	0,796	0,226	33,8	-0,60	6,37
4	4.37	0,17	3,88	3,475	0,729	0,210	32,3	-0,23	6,88
4	12.00	0,17	4,44	3,552	0,599	0,169	34,9	-0,93	8,94
4	13.00	0,18	4,94	3,592	0,629	0,175	36,3	-0,37	9,90
5	1.22	0,21	4,53	3,425	0,707	0,206	30,7	-0,89	6,60
5	7.58	0,30	6,59	3,401	0,659	0,194	30,0	-0,58	5,96
6	2.50	0,52	11,7	3,394	0,616	0,182	29,8	-0,85	5,92
6	6.40	0,58	12,4	3,309	0,599	0,181	27,4	-0,51	5,89
6	10.30	0,55	12,3	3,350	0,574	0,171	28,5	-0,69	7,12
6	13.05	0,44	12,4	3,638	0,569	0,156	38,0	-1,36	9,31
6	15.07	0,57	14,5	3,451	0,538	0,156	31,5	-0,80	7,66
6	17.12	0,56	14,3	3,473	0,560	0,161	32,2	-0,27	9,52
6	19.23	0,60	15,6	3,483	0,553	0,159	32,5	-0,87	7,52
7	1.37	0,74	16,7	3,364	0,578	0,172	28,9	-0,72	4,98
7	9.04	0,88	20,8	3,362	0,529	0,157	28,8	-0,38	4,93
8	1.38	1,29	31,0	3,394	0,556	0,164	29,8	-0,52	3,94
8	3.32	1,59	34,5	3,297	0,561	0,170	27,0	-0,56	4,51
9	4.52	2,52	56,5	3,310	0,558	0,169	27,4	-0,07	3,35
9	6.58	2,64	60,8	3,335	0,564	0,169	28,1	-0,02	4,72
10	1.35	2,78	67,4	3,401	0,568	0,167	30,0	-0,09	4,25
10	8.09	3,31	86,5	3,436	0,525	0,153	31,1	0,36	3,73
11	1.02	3,75	102	3,517	0,566	0,161	33,7	-0,29	5,94
11	5.52	3,19	102	3,720	0,601	0,162	41,3	-0,39	6,43
12	6.43	5,74	152	3,475	0,505	0,145	32,3	-0,30	7,19
13	1.27	6,63	186	3,515	0,501	0,142	33,6	0,01	6,15
14	1.59	7,38	217	3,547	0,503	0,142	34,7	0,19	10,08

TABLEAU 12. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de Selenastrum capricornutum, 3ième triplicata.

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	14.05	0,01	0,26	3,705	0,864	0,233	40,7	1,08	7,03
1	2.53	0,01	0,29	3,790	0,906	0,239	44,2	0,73	6,77
2	11.42	0,05	1,28	3,729	0,831	0,223	41,6	-0,25	6,32
3	6.41	0,10	2,22	3,514	0,765	0,218	33,6	-0,66	5,12
4	1.13	0,18	3,60	3,456	0,806	0,233	31,7	-0,39	6,72
4	4.39	0,19	4,02	3,446	0,727	0,211	31,4	-0,67	7,39
4	12.05	0,21	5,12	3,561	0,639	0,180	35,2	-1,51	10,81
4	13.05	0,21	5,26	3,597	0,610	0,170	36,5	-1,75	10,63
5	1.26	0,32	6,67	3,401	0,705	0,207	30,0	-0,99	5,97
5	8.05	0,34	7,00	3,420	0,730	0,213	30,6	-1,06	6,92
6	2.56	0,62	13,6	3,401	0,633	0,186	30,0	-1,17	7,38
6	6.43	0,64	13,9	3,344	0,617	0,185	28,3	-0,62	7,85
6	10.37	0,65	15,0	3,401	0,584	0,172	30,0	-0,74	9,09
6	13.12	0,51	14,5	3,721	0,609	0,164	41,3	-1,79	11,28
6	15.13	0,68	17,4	3,490	0,533	0,153	32,8	-1,17	8,80
6	17.21	0,64	17,8	3,527	0,504	0,143	34,0	-1,01	8,88
6	19.29	0,68	18,6	3,546	0,538	0,152	34,7	-0,92	9,80
7	1.42	0,93	20,6	3,378	0,615	0,182	29,3	-0,89	5,52
7	9.13	1,12	25,3	3,346	0,555	0,166	28,4	-0,68	5,28
8	1.42	1,55	35,8	3,380	0,573	0,170	29,4	-0,58	4,40
8	3.34	1,85	40,2	3,293	0,554	0,168	26,9	-0,44	4,51
9	4.57	2,76	62,2	3,319	0,563	0,170	27,6	-0,13	5,93
9	7.02	2,95	68,7	3,339	0,547	0,164	28,2	-0,04	6,23
10	1.54	3,56	77,5	3,385	0,612	0,181	29,5	-1,19	8,08
10	8.12	3,87	96,9	3,388	0,502	0,148	29,6	-0,04	3,37
11	1.04	4,17	106	3,434	0,523	0,152	31,0	-0,35	5,57
11	5.57	4,82	124	3,425	0,497	0,145	30,7	-0,33	6,50
12	6.47	5,55	149	3,464	0,467	0,135	32,0	-0,38	7,52
13	1.33	6,32	174	3,496	0,476	0,136	33,0	-0,41	8,08
14	2.03	6,93	206	3,548	0,446	0,126	34,8	0,07	6,92

TABLEAU 13. Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de *Selenastrum C.* & *Chlorella V.*, 1^{er} triplicata.

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	11.50	0,01	0,33	3,883	0,814	0,209	48,6	0,08	6,62
1	1.38	0,01	0,31	3,973	0,743	0,187	53,2	-0,39	5,83
2	13.07	0,03	0,84	3,742	0,834	0,223	42,2	-0,01	6,31
2	13.10	0,03	0,78	3,694	0,741	0,201	40,2	-0,18	5,27
3	6.47	0,03	0,76	3,649	0,780	0,214	38,4	-0,73	6,97
4	1.17	0,08	1,88	3,516	0,754	0,215	33,7	-0,54	5,24
4	4.45	0,09	2,29	3,545	0,755	0,213	34,6	0,25	6,98
4	12.12	0,10	2,92	3,682	0,621	0,169	39,7	-0,27	9,26
5	1.32	0,13	3,52	3,603	0,735	0,204	36,7	0,23	7,62
5	8.09	0,19	4,60	3,479	0,666	0,192	32,4	-0,42	6,36
6	2.02	0,37	9,52	3,517	0,664	0,189	33,7	-0,10	6,45
6	5.47	0,47	11,8	3,463	0,586	0,169	31,9	-0,40	5,13
6	9.59	0,44	12,7	3,582	0,542	0,151	36,0	-0,59	6,87
6	13.53	0,50	16,4	3,713	0,535	0,144	41,0	-0,64	8,98
6	15.21	0,47	16,3	3,772	0,544	0,144	43,5	-0,65	7,34
6	16.53	0,46	16,7	3,797	0,531	0,140	44,6	-0,46	6,31
6	18.51	0,49	18,1	3,827	0,557	0,146	45,9	-0,35	5,70
7	1.46	0,69	19,6	3,626	0,649	0,179	37,6	-0,61	4,46
7	9.18	0,78	23,8	3,635	0,561	0,154	37,9	-0,57	4,99
8	1.38	1,00	32,5	3,740	0,634	0,169	42,1	-0,46	3,54
8	3.38	1,37	39,4	3,617	0,630	0,174	37,2	-0,34	3,95
9	5.02	2,22	64,8	3,585	0,553	0,154	36,1	-0,12	3,99
9	7.07	2,31	67,1	3,582	0,563	0,157	35,9	-0,34	5,03
10	2.02	2,33	74,8	3,683	0,574	0,156	39,8	-0,25	6,53
10	8.20	2,95	91,8	3,636	0,551	0,151	37,9	-0,43	5,81
11	1.12	3,46	112	3,712	0,605	0,163	40,9	-0,26	6,31
11	6.02	3,03	90,0	3,624	0,577	0,159	37,5	-0,46	5,94
12	6.49	4,62	136	3,598	0,547	0,152	36,5	-0,45	6,47
13	1.37	4,95	150	3,613	0,544	0,150	37,1	-0,09	5,90
14	2.07	5,28	172	3,676	0,545	0,148	39,5	-0,10	7,58

TABLEAU 14: Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de Scenedesmus C. & Chlorella V., 2ième triplicata

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	11.30	0,02	0,38	3,612	1,097	0,304	37,0	-0,95	5,17
1	1.45	0,01	0,33	4,047	0,801	0,198	57,2	-0,15	5,02
2	12.36	0,03	0,87	3,679	0,771	0,210	39,6	0,00	6,04
2	12.40	0,02	0,60	3,634	0,692	0,190	37,9	-0,19	5,12
3	7.12	0,06	1,44	3,650	0,829	0,227	38,5	0,16	6,30
4	1.23	0,08	2,19	3,578	0,697	0,195	35,8	-0,25	6,39
4	4.49	0,10	2,73	3,569	0,727	0,204	35,5	0,38	7,01
4	12.16	0,11	3,50	3,690	0,578	0,157	40,0	-0,34	8,66
5	1.36	0,17	4,45	3,547	0,658	0,186	34,7	-0,31	5,45
5	8.12	0,25	5,92	3,436	0,665	0,193	31,1	-0,12	5,12
6	2.12	0,42	10,7	3,488	0,592	0,170	32,7	-0,53	5,28
6	5.52	0,50	13,5	3,488	0,568	0,163	32,7	0,30	6,41
6	10.05	0,51	15,0	3,571	0,518	0,145	35,6	-0,52	5,63
6	13.58	0,46	15,2	3,718	0,548	0,147	41,2	-0,50	8,33
6	15.27	0,52	18,8	3,767	0,470	0,125	43,3	0,17	1,27
6	16.59	0,50	19,3	3,858	0,599	0,155	47,4	0,64	3,35
6	18.57	0,55	20,7	3,823	0,534	0,140	45,7	-0,40	4,05
7	1.49	0,79	21,5	3,594	0,648	0,180	36,4	-0,56	3,78
7	9.22	0,84	24,2	3,584	0,559	0,156	36,0	-0,57	4,29
8	1.53	1,04	32,6	3,679	0,593	0,161	39,6	-0,27	2,86
8	3.43	1,31	37,1	3,579	0,596	0,166	35,8	-0,34	3,62
9	5.08	2,13	62,7	3,586	0,548	0,153	36,1	-0,16	3,37
9	7.09	2,24	65,0	3,580	0,562	0,157	35,9	-0,37	4,91
10	2.08	2,43	75,0	3,633	0,560	0,154	37,8	-0,30	3,86
10	8.30	3,01	90,1	3,598	0,542	0,151	36,5	-0,17	3,12
11	1.19	3,74	115	3,633	0,556	0,153	37,8	-0,37	4,85
11	6.04	3,23	95,7	3,578	0,523	0,146	35,8	-0,31	5,42
12	6.53	4,99	153	3,598	0,488	0,136	36,5	0,01	5,05
13	1.39	5,41	175	3,630	0,475	0,131	37,7	0,37	3,46
14	2.10	5,97	193	3,647	0,484	0,133	38,3	-0,16	6,95

TABLEAU 15 : Evolution dans le temps des paramètres caractéristiques d'une population de Selenastrum C. & Chlorella V., 3ième triplicata

Temps		PARAMETRES CARACTERISTIQUES							
		Nombre de particules par millilitre X 10 ⁶	Concentration (ppm)	Log _e du volume moyen	Ecart-type	Coefficient de variation	Volume moyen (μ ³)	Coefficient d'asymétrie	Coefficient d'aplatissement
Jour	Heure								
0	12.05	0,02	0,34	3,811	0,987	0,259	45,2	-0,51	6,09
1	2.25	0,73	24	4,003	0,854	0,213	54,7	-0,29	6,37
2	12.47	0,03	0,80	3,679	0,799	0,217	39,6	0,23	5,59
2	12.49	0,04	0,85	3,658	0,863	0,236	38,8	-0,51	6,40
3	7.18	0,06	1,37	3,565	0,820	0,230	35,4	-0,17	5,79
4	1.28	0,10	2,23	3,503	0,753	0,215	33,2	-0,47	6,84
4	4.53	0,11	2,57	3,492	0,708	0,203	32,9	-0,56	7,51
4	12.35	0,13	3,85	3,696	0,634	0,172	40,3	-0,88	9,80
5	1.40	0,22	4,69	3,461	0,720	0,208	31,9	-0,88	5,46
5	8.17	0,26	5,56	3,420	0,738	0,216	30,6	-0,38	7,13
6	2.22	0,43	10,9	3,465	0,612	0,177	32,0	-0,20	6,92
6	5.57	0,53	13,1	3,424	0,568	0,166	30,7	-0,21	5,59
6	10.12	0,52	14,1	3,512	0,560	0,159	33,5	-0,45	8,00
6	14.04	0,54	17,0	3,652	0,532	0,146	38,5	-0,81	8,78
6	15.33	0,57	18,9	3,708	0,519	0,140	40,8	-0,28	9,32
6	17.07	0,58	19,1	3,719	0,536	0,144	41,2	-0,73	9,30
6	19.03	0,58	20,4	3,766	0,540	0,144	43,2	-0,20	8,37
7	1.52	0,81	22,6	3,585	0,602	0,168	36,0	-0,49	3,64
7	9.32	1,01	27,6	3,541	0,561	0,159	34,5	-0,62	4,97
8	1.58	1,29	36,7	3,585	0,623	0,174	36,0	-0,10	5,51
8	3.52	1,58	39,6	3,486	0,620	0,178	32,7	-0,54	5,26
9	5.12	2,08	58,4	3,530	0,534	0,151	34,1	-0,31	5,39
9	7.13	2,66	74,6	3,534	0,551	0,156	34,3	-0,48	6,36
10	2.12	2,80	81,1	3,591	0,572	0,159	36,3	-0,52	4,82
10	8.55	3,60	103	3,553	0,540	0,152	34,9	-0,30	4,10
11	1.16	4,33	123	3,574	0,552	0,154	35,6	-0,58	5,60
11	6.09	3,64	104	3,545	0,515	0,145	34,6	-0,37	6,08
12	6.58	5,55	163	3,564	0,486	0,136	35,3	-0,33	7,10
13	1.43	6,02	181	3,592	0,486	0,135	36,3	-0,33	7,42
14	2.13	6,44	201	3,626	0,499	0,138	37,6	-0,62	10,33

Chapitre 4

4. Discussion

Au travers des graphiques sélectionnés, les paramètres seront traités en trois volets. Après une analyse sommaire, un premier volet justifiera l'emploi des courbes différentielles plutôt que celles cumulées. Un deuxième établira l'équivalence des trois triplicata d'une culture d'algues. Enfin, un troisième analysera chaque paramètre ainsi que les interrelations et les concordances éventuelles.

4.1 Justification des courbes différentielles

La figure 12 tente de justifier l'emploi des courbes différentielles plutôt que des courbes cumulées. Ces dernières en effet ne permettent pas de voir toutes les nuances de comportement du phénomène présenté et, en conséquence, la qualité de l'interprétation en sera affectée.

A la figure 9, deux pics se distinguent assez clairement en phase d'adaptation (Jour 8); le pic correspondant à $45 \mu^3$ serait indiscernable en courbe cumulée. On peut noter également, la légère asymétrie du spectre du 10ième jour de cette figure; on ne peut la distinguer sur la figure 12.

Examinons de plus près les spectres caractéristiques de *Chlorella v.* (fig. 9 et 13), en particulier le premier triplicata en phase d'adaptation (Jour 8), en phase exponentielle (Jour 10) et au début de la phase stationnaire (Jour 14). L'asymétrie, à la figure 9, prend une valeur très négative au 8ième jour: ceci indique une concentration croissante de cellules filles issues d'une multiplication cellulaire qui s'intensifie. Comme

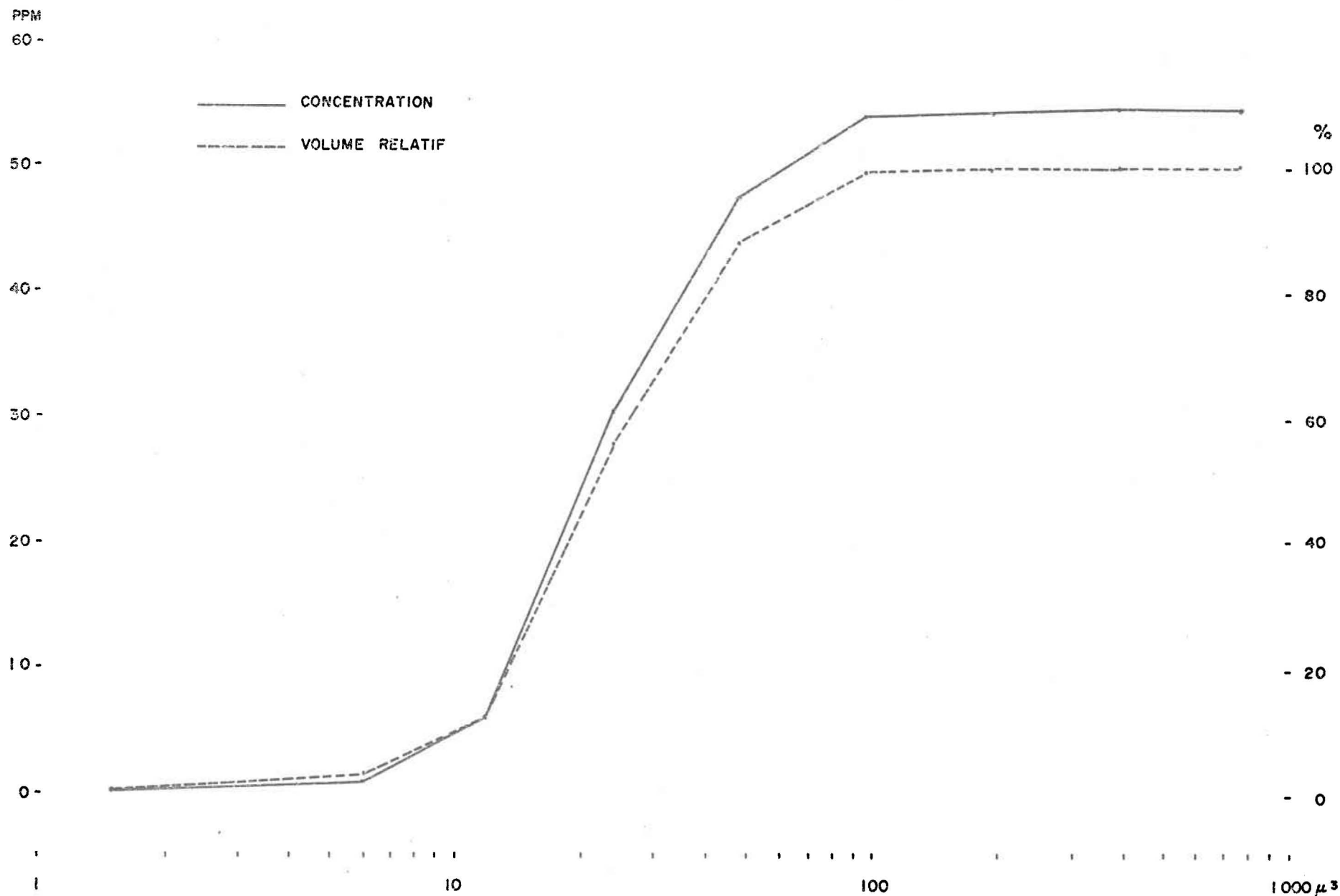


FIGURE 12. LES COURSES CUMULATIVES DE FRÉQUENCE DE LA CONCENTRATION ET DU POURCENTAGE EN VOLUME DU PREMIER TRIPPLICATA DE CHLORELLA V. AU 101^{ème} JOUR VERS 2:00 H.

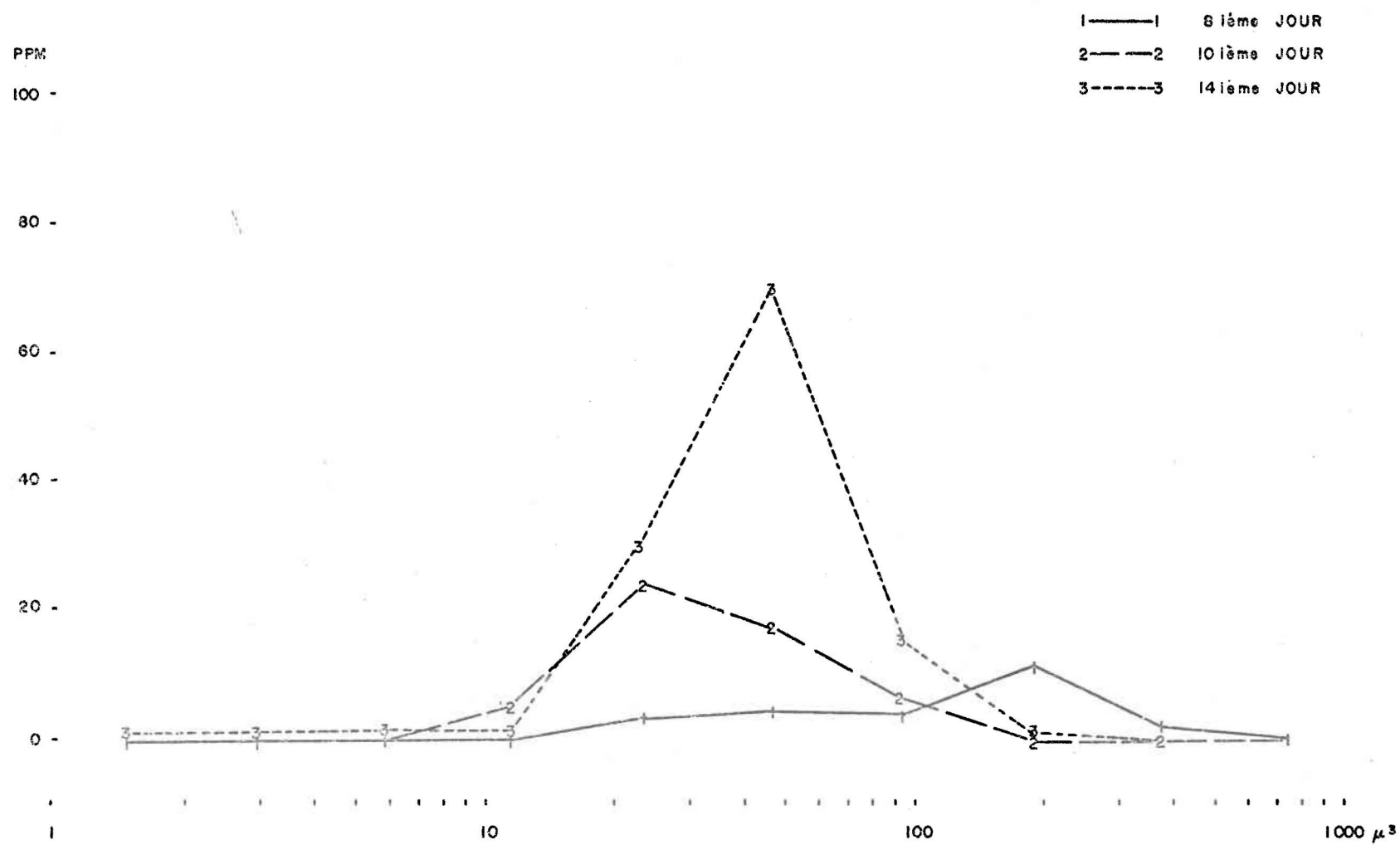


FIGURE 13. LES COURBES DE FRÉQUENCE DE LA CONCENTRATION EN PPM DU PREMIER TRIPLICATA DE CHLORELLA V. LES 8^{ème}, 10^{ème} ET 14^{ème} JOUR VERS 2:00 H.

le montre la Figure 16, entre les jours 7 et 8, la biomasse volumique qui double, permet de supposer l'amorce de la phase exponentielle ou phase de croissance rapide.

Les particularités de l'asymétrie sont plus prononcées à la figure 9; sa valeur est devenue moins négative au début de la phase stationnaire, indiquant un ralentissement de l'activité mitotique.

Dans le cas de *Selenastrum c.*, si on examine le deuxième triplicata, l'évolution de la biomasse (fig. 14) montre bien que la phase exponentielle est amorcée; de même, la valeur de l'asymétrie (fig. 10) s'est accrue positivement entre la phase d'adaptation et la phase exponentielle.

Enfin, la culture mixte du deuxième triplicata (fig. 15) subit la plus forte augmentation de biomasse en comparaison des deux cultures précédentes. Cependant, le mode des trois spectres de la figure 15 est le même pour les trois phases. L'asymétrie surtout visible à la figure 11 semble vouloir accuser des valeurs négatives.

Mais, il faudra considérer d'autres paramètres pour savoir, par exemple, laquelle des deux espèces domine la culture mixte ou si les deux espèces vivent en symbiose.

4.2 Mode de caractérisation du spectre dimensionnel

Une question se pose: est-on justifié de choisir indifféremment un triplicata en particulier plutôt que de les examiner tous ensemble?

Prenons, par exemple, la culture de *Chlorella v.* et voyons s'il y a une différence significative entre les trois triplicata en passant en revue les différents paramètres.

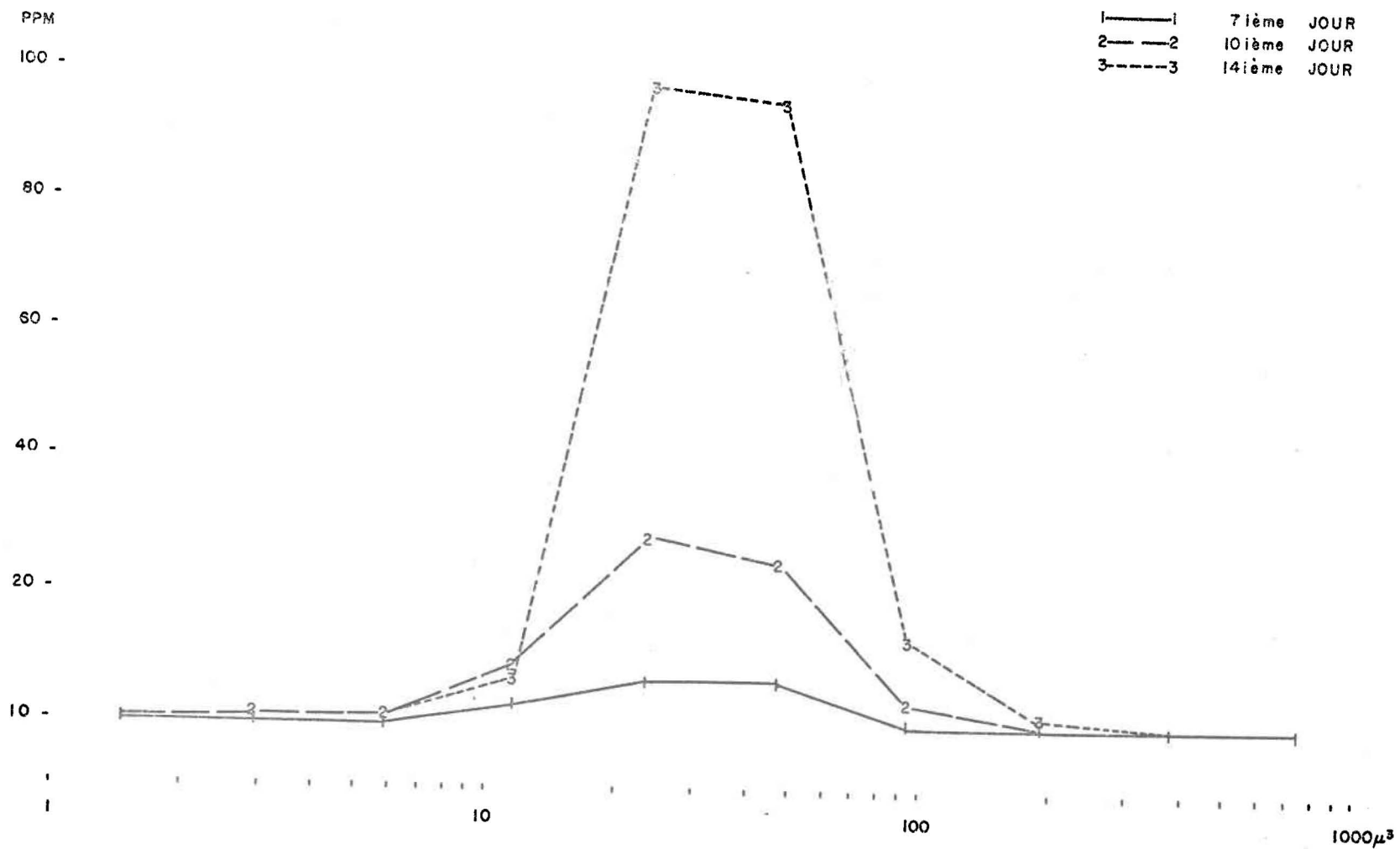


FIGURE 14. LES COURBES DE FRÉQUENCE DE LA CONCENTRATION EN PPM DU DEUXIÈME TRIPLICATA DE SELENASTRUM C. LES 7^{ème}, 10^{ème} ET 14^{ème} JOUR VERS 2:00 H.

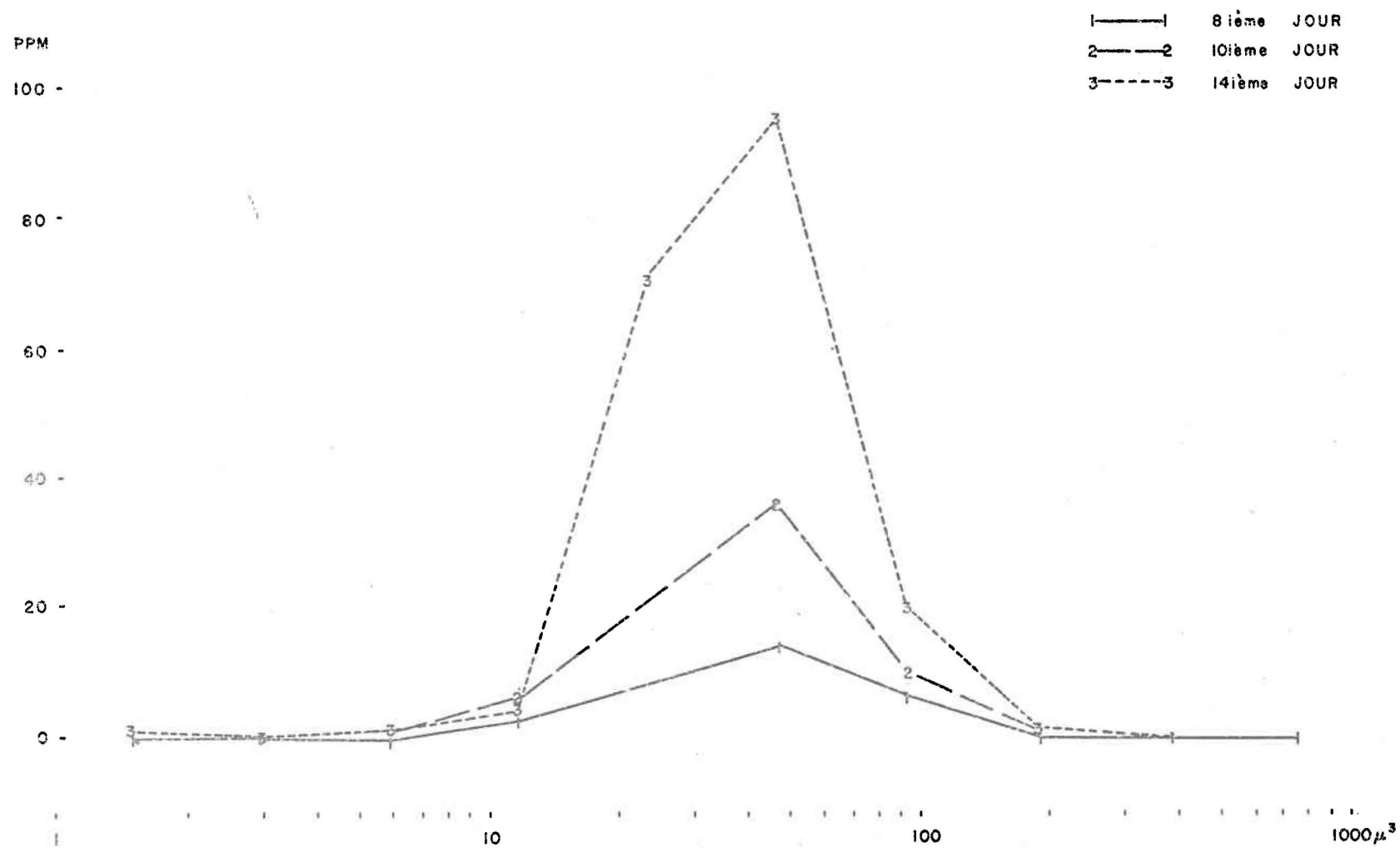


FIGURE 15. LES COURBES DE FRÉQUENCE DE LA CONCENTRATION EN PPM DU DEUXIÈME TRIPLICATA DE LA CULTURE MIXTE DE SELENASTRUM C. ET DE CHLORELLA V. LES 8^{ème}, 10^{ème} ET 14^{ème} JOUR VERS 2:00H.

La concentration

CHLO 3¹ - 31ème triplicata

Les trois courbes de concentration (fig. 16) suivent une tendance généralement similaire. Plus précisément, CHLO 3¹ semble suivre une allure constante mais déphasée par rapport aux deux autres. La phase exponentielle semble être bien amorcée au jour 8.

Le volume moyen

Malgré les grandes fluctuations du volume moyen (fig. 17), on retrouve quant même une allure semblable pour les triplicatas. Dès le début de la phase exponentielle (Jour 8), la valeur du volume moyen diminue de façon régulière pour atteindre un minimum au plus fort de cette phase et ensuite augmenter légèrement jusqu'au début de la phase stationnaire.

On voit ici l'importance de ce paramètre qui rend compte des caractéristiques morphologiques de la culture d'algues; c'est un intégrateur physiologique intéressant.

L'asymétrie et l'aplatissement

Les valeurs de l'asymétrie (fig. 18) oscillent entre -1 et +1 pour enfin se situer aux alentours de -0,6 à la fin de la phase d'adaptation. Ces oscillations s'expliquent difficilement. Une grande erreur d'échantillonnage sur le coefficient d'asymétrie interviendrait dans cette phase. Les oscillations semblent traduire une certaine adaptation des algues au milieu de culture. Elles évoluent également en sens inverse de celles du volume moyen, ce qui correspond à une réalité analytique: une valeur de l'asymétrie très négative indique un déplacement de la distribution vers des cellules

¹ *Chlorella vulgaris*, 31ème triplicata.

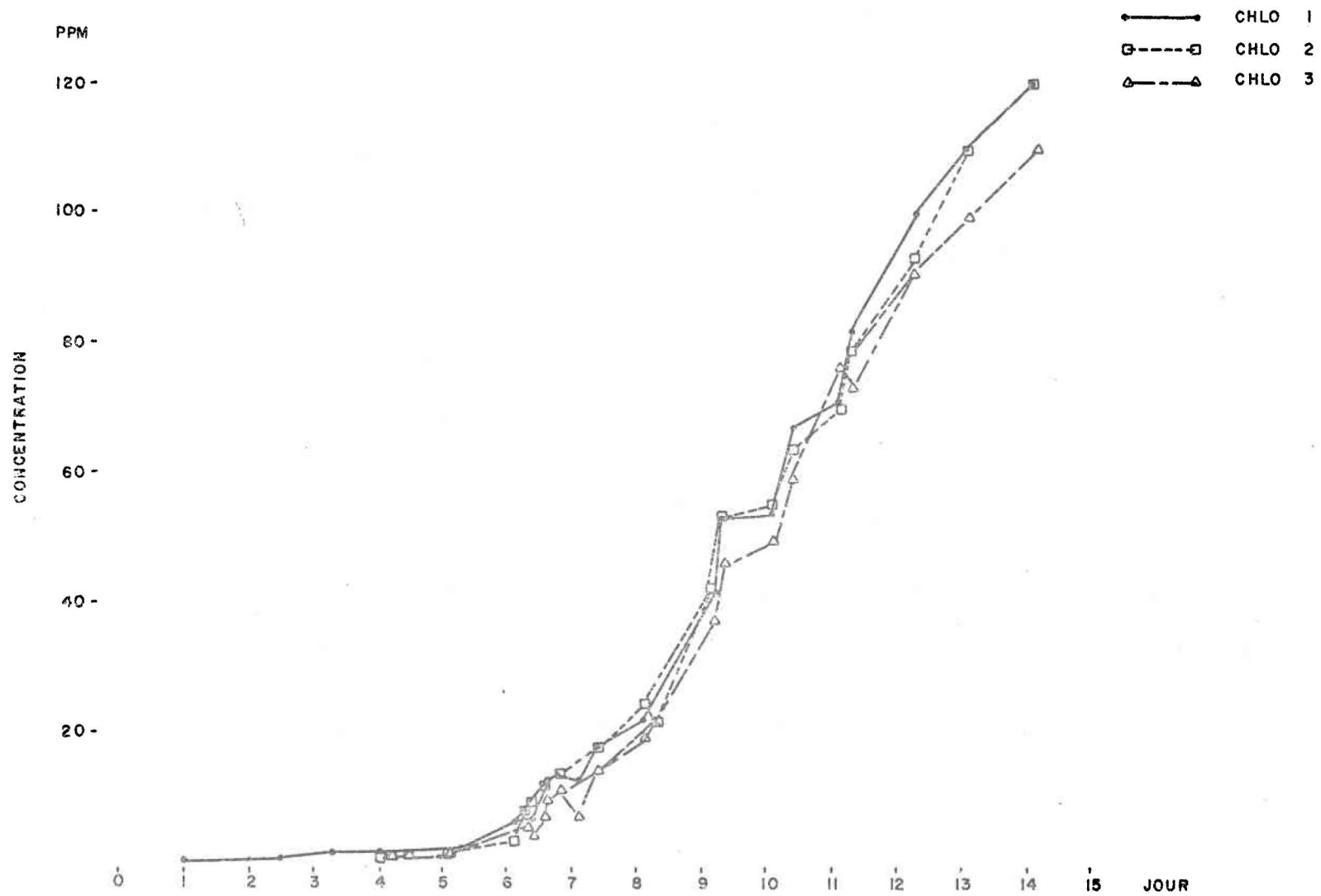


FIGURE 16. LA CONCENTRATION EN PPM EN FONCTION DU TEMPS DES TRIPLICATA DE CHLORELLA V.

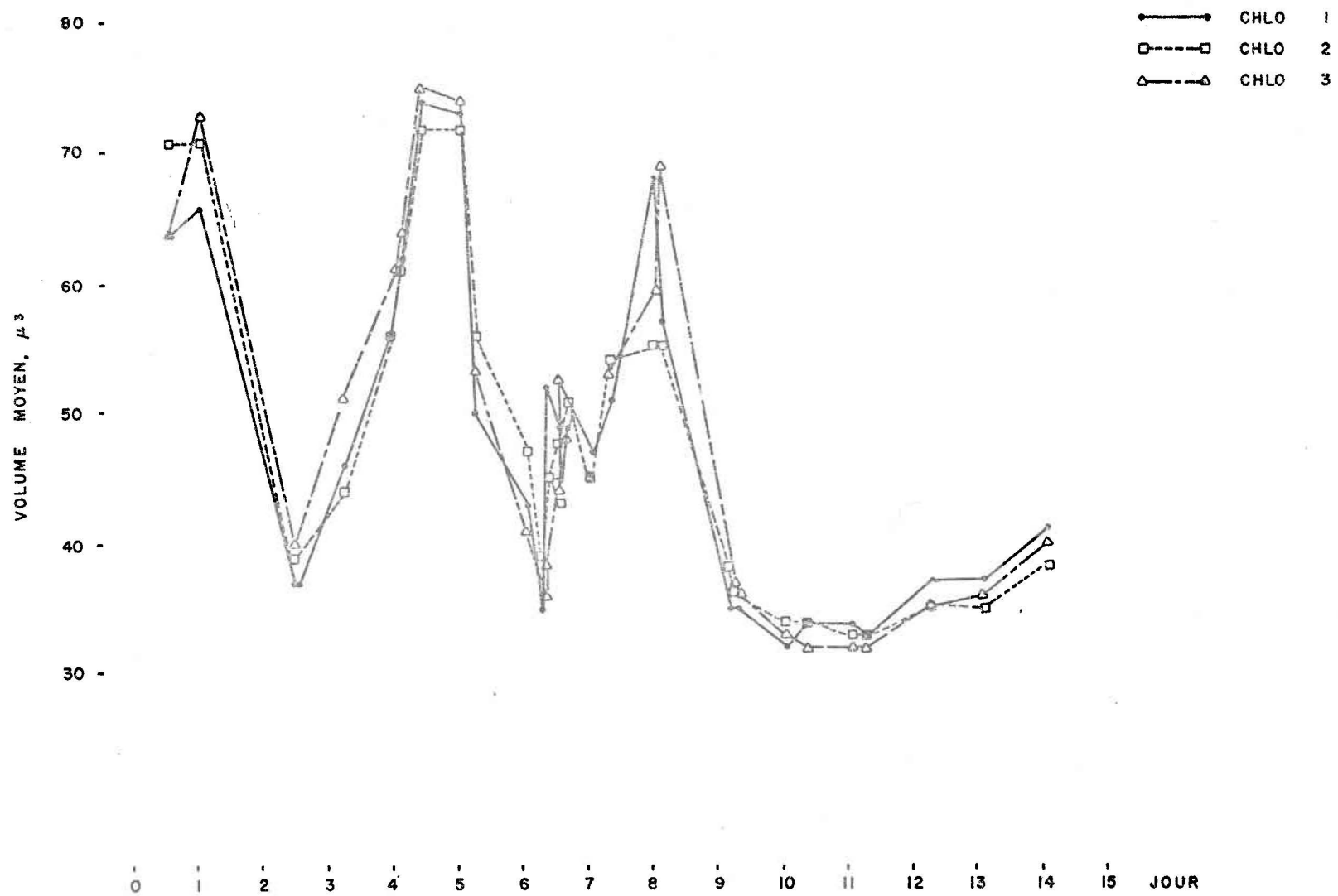


FIGURE 17. LE VOLUME MOYEN EN FONCTION DU TEMPS DES TRIPLICATA DE CHLORELLA V.

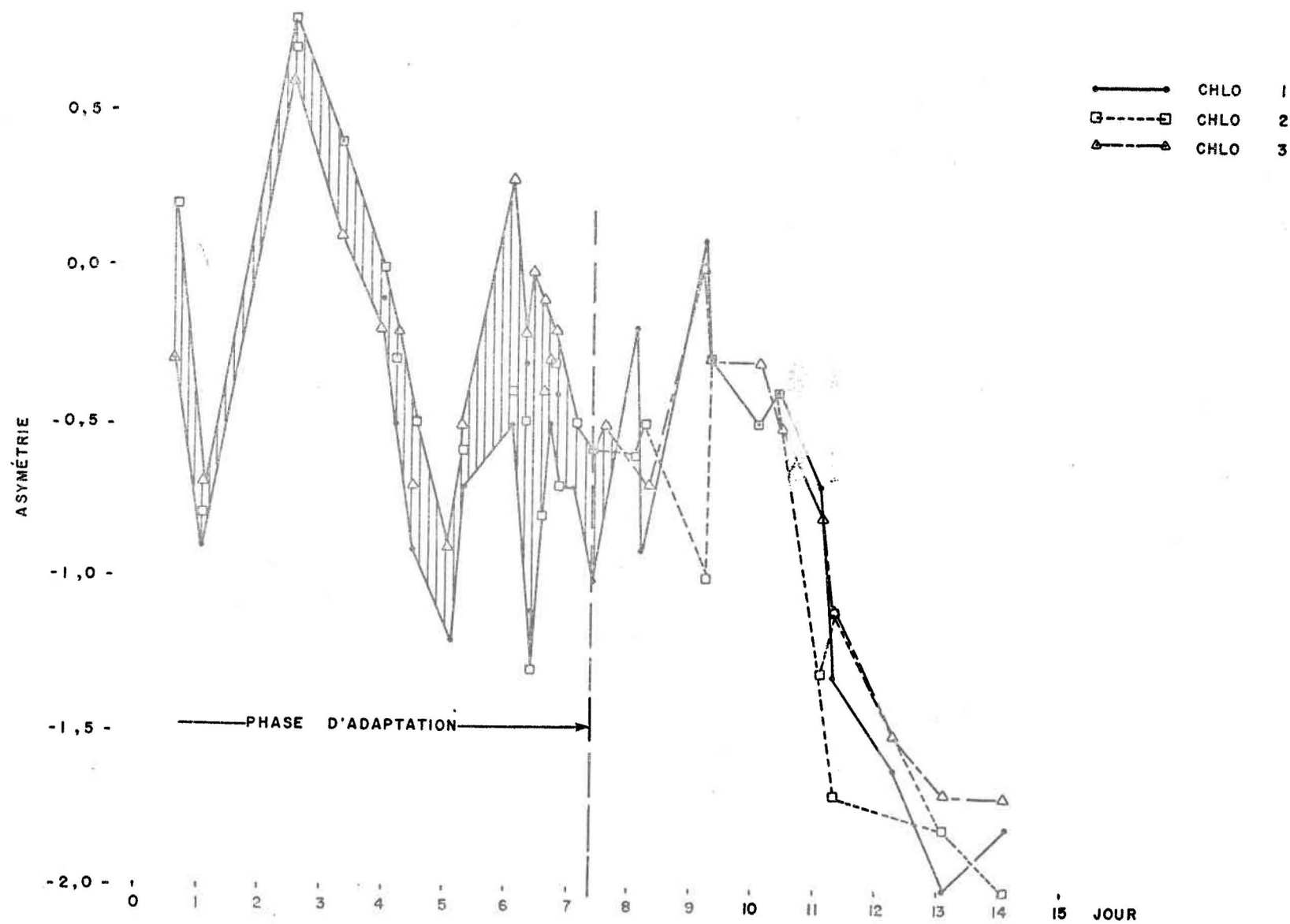


FIGURE 18. LE COEFFICIENT D'ASYMÉTRIE EN FONCTION DU TEMPS DES TRIPLICATA DE CHLORELLA V.

de volume inférieur; de fait, le volume moyen correspondant diminue.

Ceci nous laisse devant une alternative en phase exponentielle (ou phase de croissance rapide). D'une part, comme le volume d'une cellule mère est supérieur à celui d'une cellule fille et que le volume total des cellules mères est supérieur à celui des cellules filles surtout au début de la phase exponentielle, le volume moyen qui diminue, implique que le volume des cellules mères est plus grand durant la phase d'adaptation que durant la phase exponentielle. D'autre part, le volume moyen qui diminue peut aussi indiquer que les cellules mères sont décimées par un manque de nutriments, ce qui serait peu probable dans notre cas en phase exponentielle mais qui pourrait avoir un sens au début de la phase stationnaire. D'ailleurs, dans un milieu relativement épuisé en nutriments, les cellules mères sont beaucoup plus vulnérables que les cellules filles.

Le fait que le volume moyen commence à augmenter à partir du 12ième jour alors que l'asymétrie continue à devenir négative n'est pas non plus contradictoire. Ceci correspond bien à l'approche de la phase stationnaire alors qu'une partie de la population de volume moyen inférieur commence à mûrir pendant que l'autre partie, majoritaire en nombre et en volume, est formée de cellules qui se multiplient, d'où la valeur négative de l'asymétrie qui nous indique la classe d'algues résiduelle formée des cellules filles.

Cette dualité doit nécessairement se traduire par un affinement graduel de la distribution, ce que nous confirme la figure 19. Notons, sur cette dernière figure, la concordance des trois triplicata en phase exponentielle.

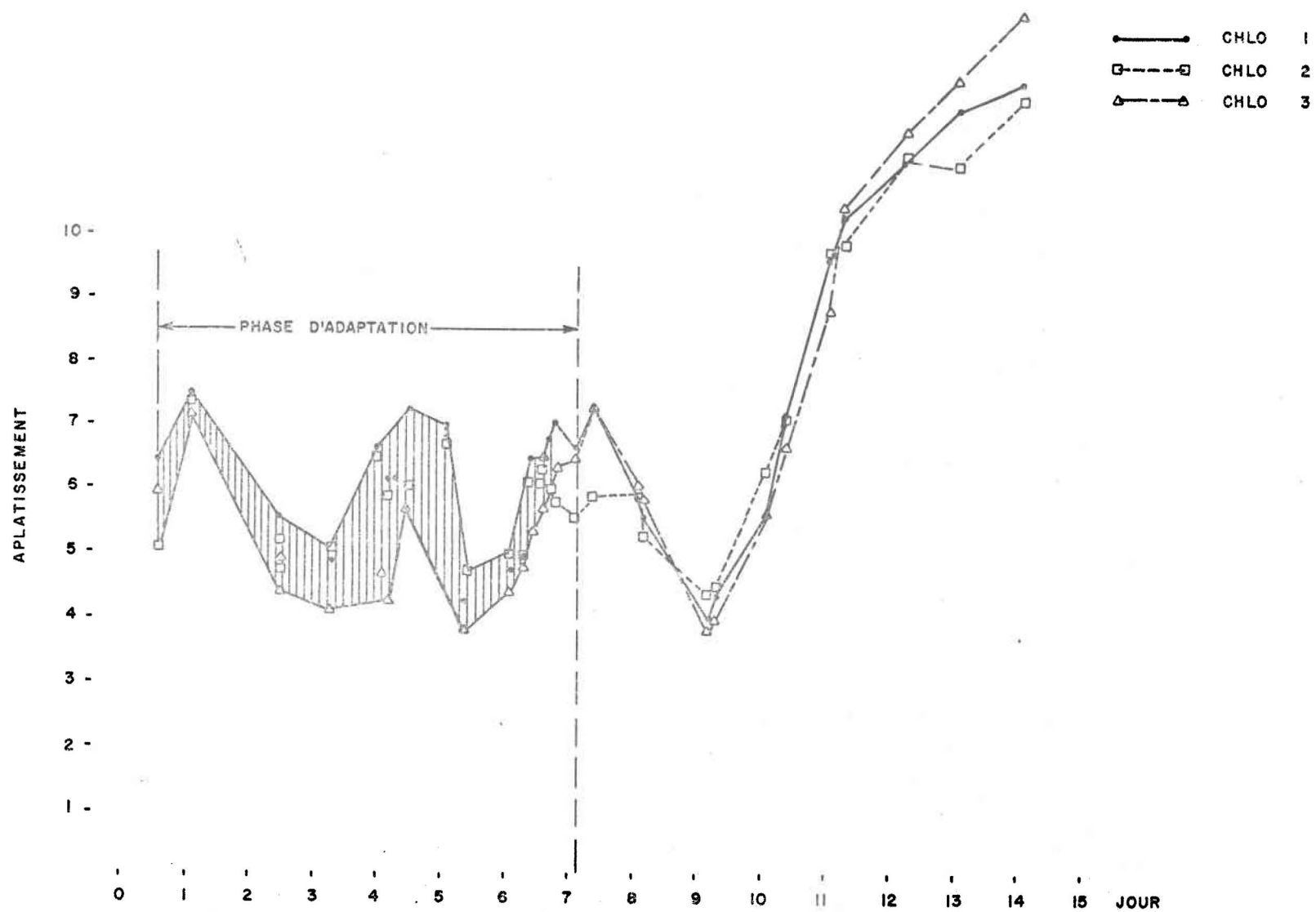


FIGURE 19. LE COEFFICIENT D'APLATISSEMENT EN FONCTION DU TEMPS DES TRIPLICATA DE CHLORELLA V.

En bref, aucun paramètre n'indique que nous avons atteint la phase stationnaire; cependant, certains suggèrent qu'on l'approche, v.g. volume moyen, asymétrie.

Néanmoins, aucun paramètre n'affiche de différence significative entre les triplicata de la culture de *Chlorella v.* On peut donc choisir indifféremment l'un deux.

Formulons à titre d'hypothèse que la même comparaison peut être soutenue entre les triplicata des deux autres cultures; on peut dès lors choisir au hasard un triplicata de chacune des trois cultures afin de mener plus avant nos investigations. C'est précisément ce que nous allons faire dans la section 4.3.

4.3 Examen final des triplicata choisis

Lorsque l'on compare CHLO 1, CAP 2 et CLOCAP 2 (fig. 20), on observe une diminution du nombre total entre le 11ième et le 12ième jour. Bien qu'il semble que cette diminution du taux de croissance ne soit pas caractéristique dans CAP 1 et 3, elle l'est cependant dans CLOCAP 1 et 3.

Choisissant CAP 2 volontairement, on va le comparer avec CHLO 1 et CLOCAP 2, entre autres dans la région du changement de pente située entre le 11ième et le 12ième jour. La logique de ce choix repose davantage sur l'importance de pouvoir comparer la similitude sur d'autres paramètres, tels l'asymétrie et l'aplatissement, que sur la plausibilité qu'une culture pure de *Selenastrum c.* ait ce type de comportement.

Conservant en mémoire que les triplicata de la culture de *Chlorella v.* se comparent, on suppose un comportement semblable de la part de *Selen-*

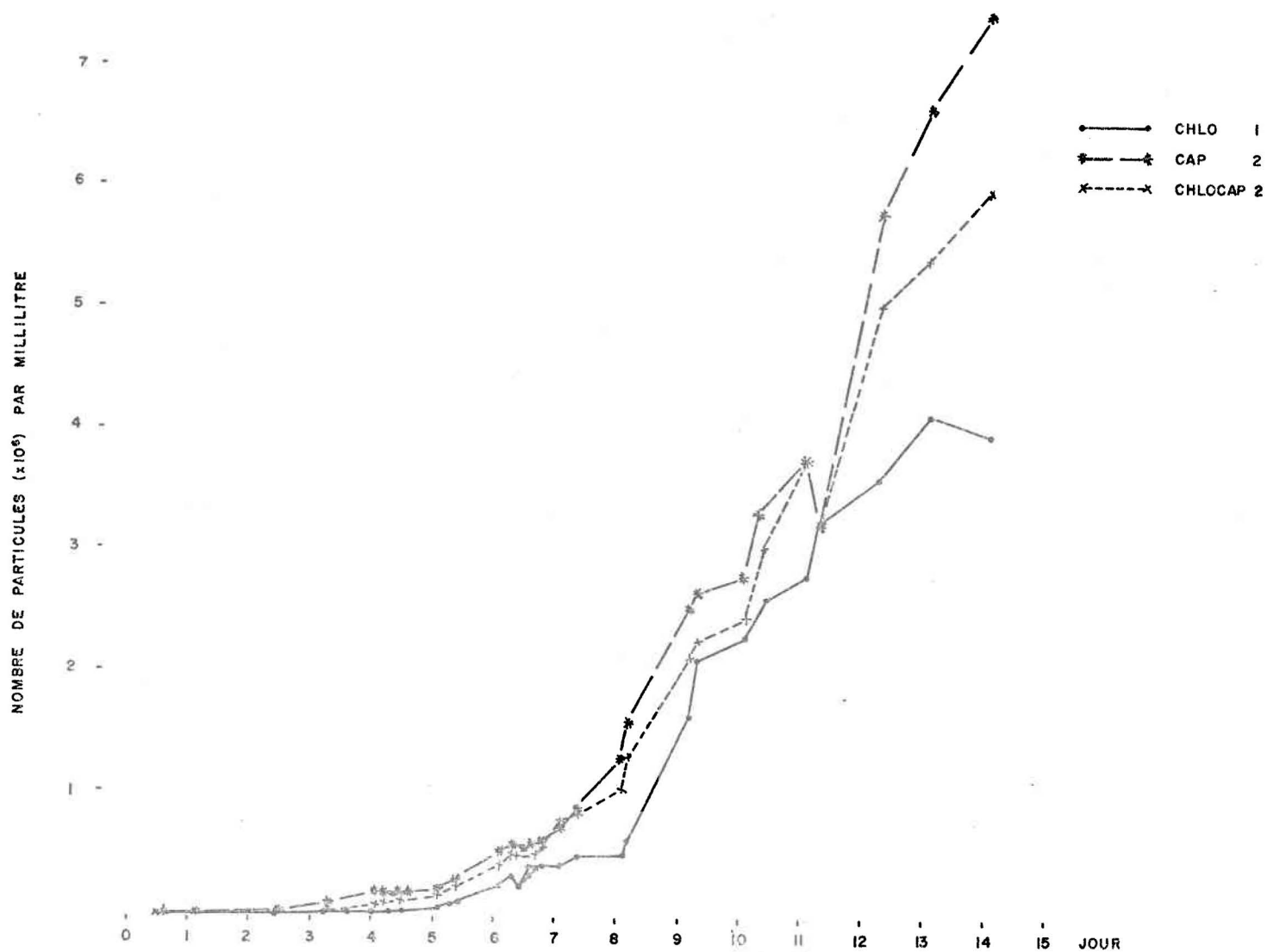


FIGURE 20. LE NOMBRE D'ALGUES PAR MILLILITRE EN FONCTION DU TEMPS DU PREMIER TRIPLICATA DE CHLORELLA V., DU DEUXIÈME DE SELENASTRUM C. ET DU DEUXIÈME DE LA CULTURE MIXTE.

nastrum c. et de la culture mixte.

Le nombre total

On poursuit avec la figure 20 où l'on soupçonne une influence plus marquée des *Selenastrum c.* que des *Chlorella v.* sur la culture mixte. De plus, dans la phase exponentielle, les valeurs de nombre total et de biomasse de CLOCAP 2 sont sensiblement les mêmes que CAP 2. On remarque cependant des différences significatives entre les trois courbes à partir du 13ième jour. En outre, la phase exponentielle de CHLO 1 s'amorce entre le 8ième et le 9ième jour alors que celle de CAP 2 et CLOCAP 2 s'effectue entre le 7ième et le 8ième jour.

A partir de ce graphique du nombre total, on peut estimer le taux de croissance spécifique par la formule suivante:

$$\mu = \frac{\log_{10} \left(\frac{X_2}{X_1} \right)}{t_2 - t_1}$$

où: X_1 = concentration au temps t_1

X_2 = concentration au temps t_2

ce qui donne respectivement:

CHLO 1	0.22	JOUR ⁻¹
CAP 2	0.14	"
CLOCAP 2	0.14	"

Les deux dernières valeurs semblent confirmer nos soupçons.

La concentration

Les courbes, exprimant la concentration en ppm des algues en fonction du temps, ont un comportement très similaire à celles exprimant le nombre d'algues en fonction du temps (fig. 20); c'est pourquoi les premières n'apparaissent pas ici.

Au point de vue biomasse, donc, CLOCAP 2 est beaucoup plus près de CAP 2 que de CHLO 1 surtout après le 11^{ème} jour; peut-être que l'algue *Chlorella v.* n'a pas eu le temps de s'adapter au milieu de culture, ou bien que ce milieu n'est pas idéal pour cette espèce d'algues.

Le volume moyen

Bien que le volume moyen (fig. 21) de CHLO 1, en phase d'adaptation, soit plus élevé, ses variations sont en général synchronisées avec celles des deux autres cultures. CHLO 1 accuse de plus fortes variations de volume que CAP 2, pour une même variation du diamètre moyen, à cause de sa forme sphérique très sensible aux variations de volume, en comparaison de la forme allongée de *Selenastrum c.* Remarquons ici encore la concordance entre CAP 2 et CLOCAP 2.

L'asymétrie

Cette dernière concordance est plus marquée en phase exponentielle pour l'asymétrie (fig. 22). Au contraire de CAP 2 et de CLOCAP 2, CHLO 1 montre une forte asymétrie négative explicitée à la section 4.2. Ce phénomène ne semble pas apparent chez les deux autres cultures, probablement à

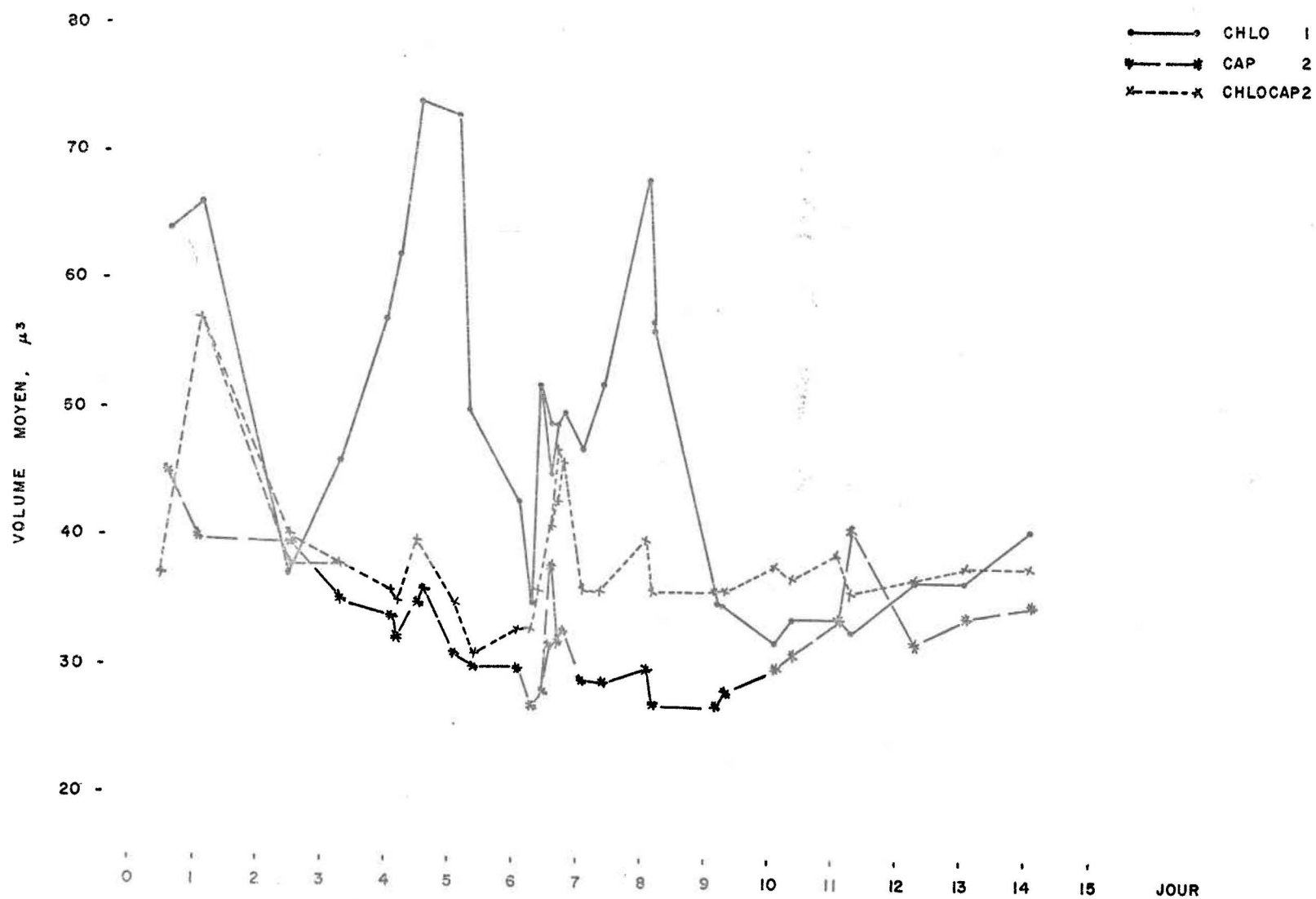


FIGURE 21. LE VOLUME MOYEN EN FONCTION DU TEMPS DU PREMIER TRIPLICATA DE CHLORELLA V., DU DEUXIÈME DE SELENASTRUM C. ET DU DEUXIÈME DE LA CULTURE MIXTE.

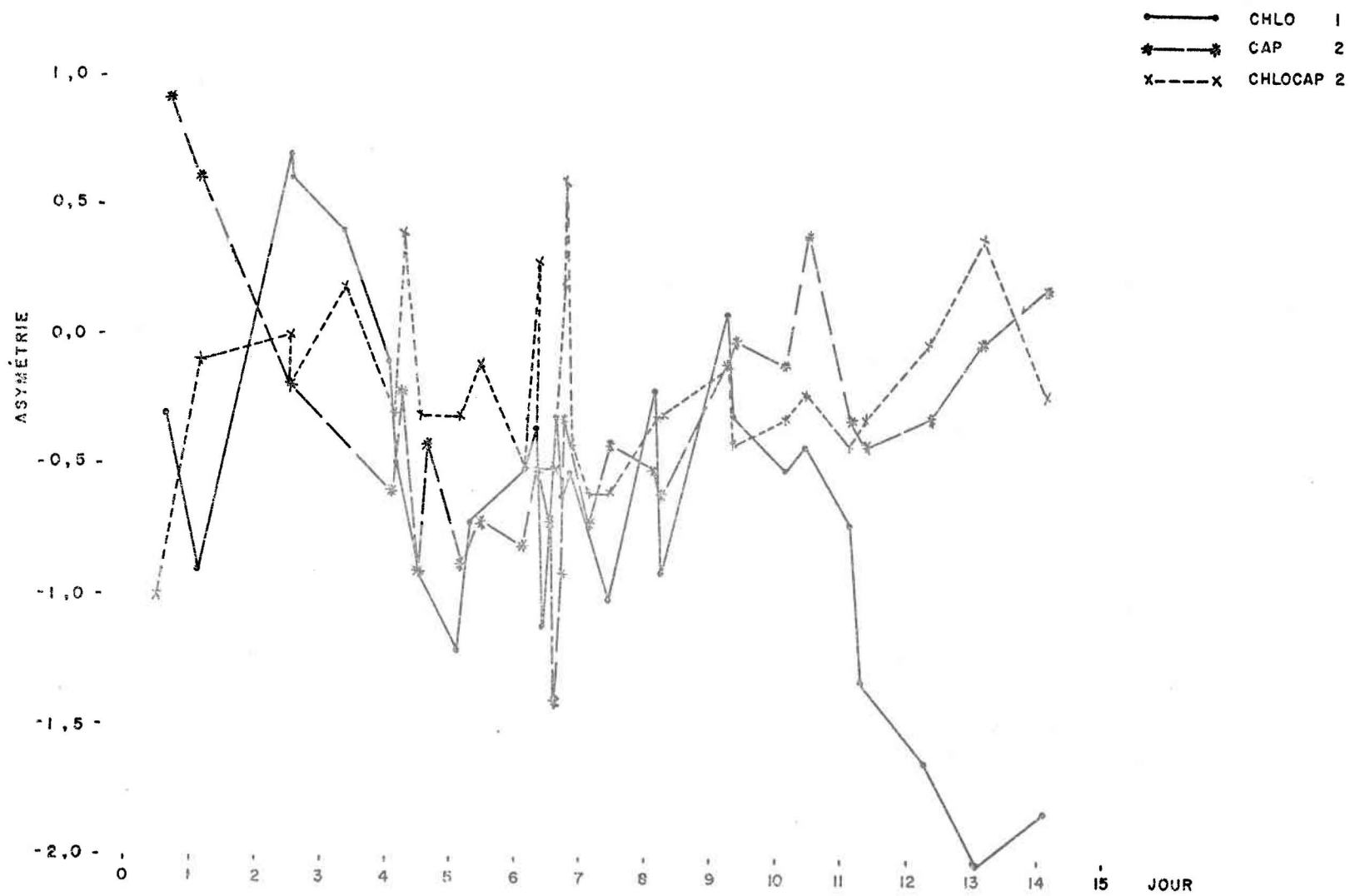


FIGURE 22. LE COEFFICIENT D'ASYMÉTRIE EN FONCTION DU TEMPS DU PREMIER TRIPLICATA DE CHLORELLA V., DU DEUXIÈME DE SELENASTRUM C. ET DU DEUXIÈME DE LA CULTURE MIXTE.

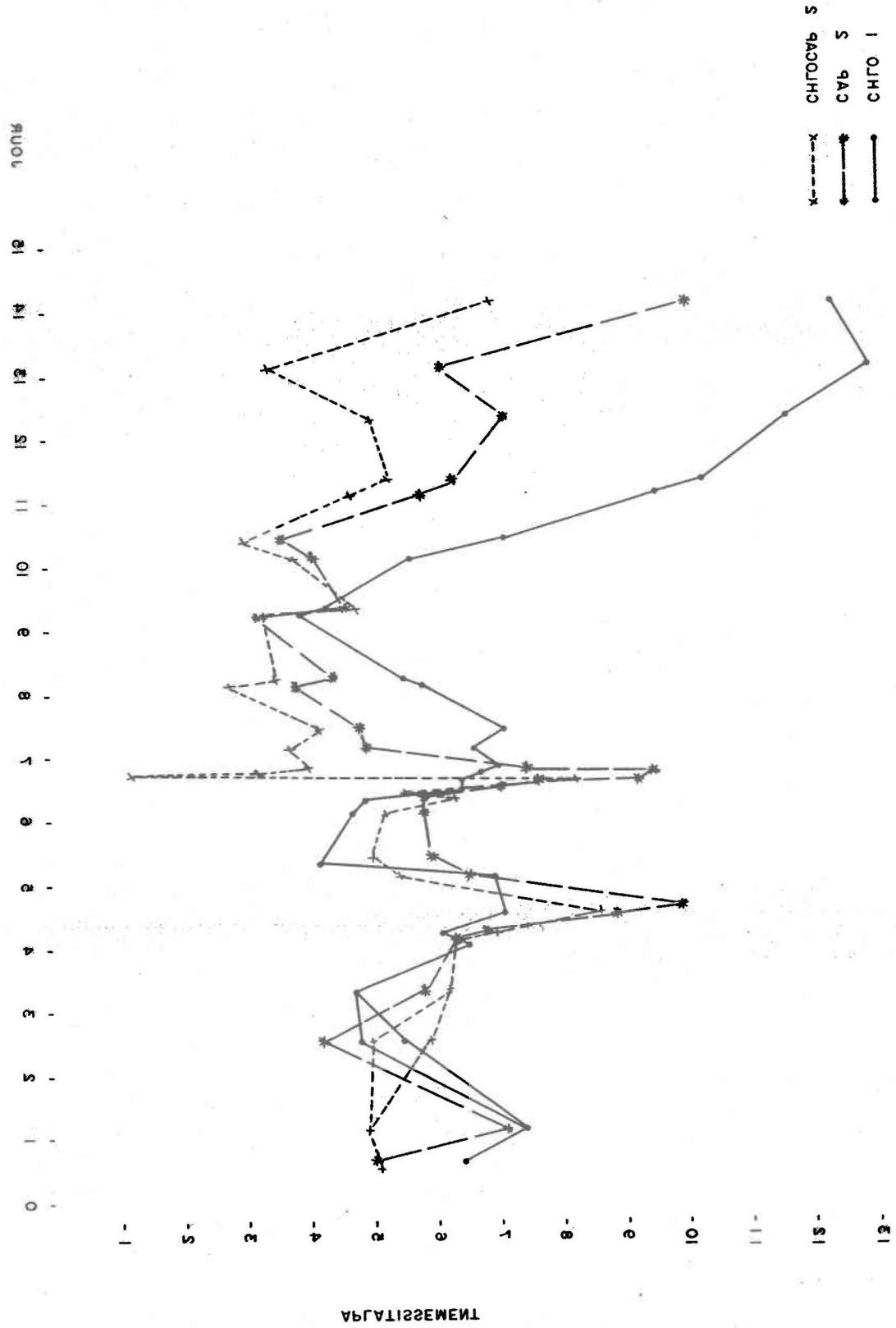
cause du facteur de forme mentionné au paragraphe précédent ainsi qu'à la section 1.1.1. Cependant, une diminution brusque de la valeur du coefficient d'asymétrie entre le 11ième et le 12ième jour combinée au fait que le volume moyen semble vouloir augmenter nous indique encore une fois, bien que de façon moins évidente qu'à la section 4.2, l'apparition d'une classe d'algues résiduelle qui devient majoritaire en début de la phase stationnaire, puisque la valeur de l'asymétrie devient presque nulle alors que le volume moyen continue d'augmenter.

L'aplatissement

Le coefficient d'aplatissement (fig. 23) semble très sensible, surtout en phase exponentielle. L'allure de ce paramètre, pour CHLO 1, a été commenté à la section 4.2. Notons le comportement similaire de CAP 2 et CLOCAP 2 durant cette phase au jour 13.2.

Enfin, les figures 20, 22 et 23 indiquent que CHLO 1 aurait atteint le début de sa phase stationnaire au contraire de CAP 2 et CLOCAP 2. L'augmentation importante et généralisée de la valeur de ce coefficient (fig 23) à la fin de la phase exponentielle indique que la population d'algues se regroupe autour d'un même volume moyen. Cependant, les fluctuations possibles dues à la variance d'échantillonnage ne permettent pas de continuer l'analyse.

DU DEUXIEME DE SEPTEMBRE 1957 C. ET DU DEUXIEME DE LA CULTURE MIXTE.
 FIGURE 52 LE COEFFICIENT D'ADAPTATION EN FONCTION DU MOIS DE L'ANNEE TRIPlicate DE CHLORETTA X.



Conclusion

Les expériences préliminaires sur des cultures de *Chlorella v.*, de *Selenastrum c.* et d'une culture mixte des deux précédentes, se sont avérées extrêmement prometteuses quant à l'utilisation du compteur Coulter modèle TA.

Ce compteur permet de déterminer les paramètres dont la précision mérite l'attention: le nombre total d'algues, 0,8%; la concentration, 1,1%; le volume moyen, 0,6% et le coefficient d'aplatissement, 1,6%.

Sur l'ensemble des phases de croissance, trois paramètres se distinguent par leur signification et leur facilité d'interprétation, ce sont: le nombre total d'algues, le volume moyen et l'asymétrie de la distribution volumique.

Cependant, chacun possède son utilité propre.

- l'évolution du nombre total d'algues en fonction du temps permet d'estimer le taux de croissance spécifique μ d'une culture.
- La concentration d'algues peut être une mesure de la biomasse et sert également à comparer deux cultures puisque sa mesure est unitaire¹.
- Le volume moyen nous renseigne sur la classe d'algues dominante.
- l'asymétrie nous fournit, en plus, la classe d'algues résiduelle.

¹

Nombre d'algues par millilitre.

En phase d'adaptation, la majorité des paramètres, à l'exception du nombre total d'algues et de la concentration de celles-ci, affichent un comportement bien particulier; ils semblent suivre certains cycles.

Par contre, dans les phases subséquentes, leur interprétation est beaucoup plus facile et, de plus, consistante dans l'ensemble.

L'ensemble de ces paramètres semble donner des résultats satisfaisants tant pour l'étude individuelle d'une culture d'algues que pour l'étude comparée de plusieurs d'entre elles.

Afin de pousser plus avant les possibilités de l'outil développé dans ce travail, il serait intéressant, par exemple, d'étudier le comportement d'une même culture d'algues soumise à différents stress: toxiques, métaux lourds, etc... Plusieurs milieux de culture pourraient aussi être expérimentés. On n'a qu'à rendre facteur limitant tour à tour des nutriments comme le phosphore, l'azote, le CO_2 , etc...

La rapidité, la simplicité, la sensibilité et l'originalité tant du compteur Coulter que des paramètres étudiés méritent l'attention des chercheurs et des techniciens oeuvrant dans la phase particulière de l'ordre du micron.

BIBLIOGRAPHIE

- BOBEE, B. et ROBITAILLE, R. (1976). Etude sur les coefficients d'asymétrie et d'aplatissement d'un échantillon. Rapport interne No. 49, INRS-Eau, 22 p.
- BROTHERTON, J. et BARNARD, G. (1974). Estimation of number, mean and size distribution on human spermatozoa in oligospermia using a coulter counter. *J. Reprod. Fert.*, 40: 341-357.
- BRUN-COTTAN, J.C. (1971). Etude de la granulométrie des particules marines; mesures effectuées avec un compteur Coulter. *Cahiers Oceanographies*, 23(2).
- COAKLEY, J.P. et BEAL, G.S. (1972). SEDAN - A computer program for sediment particule-size analysis. Dept of the Environment, Inland Waters Directorate, Report Series No. 20, Ottawa, 33 p.
- CONTOIS, D.E. (1959). Kinetics of bacterial growth-relationship between population density and specific growth rate of continuous cultures. *J. Gen. Microbiol.*, 21: 40.
- DALE, N.G. (1974). Bacteria in intertidal sediments: factors related to their distribution. *Limnology and Oceanography*, 19(3): 509-518.
- DÖHLER, G. (1963). *Planta*, 60: 158.
- DUPRAW, E.J. (1968). *Cell and molecular biology*. New York, Academic Press, 739 p.
- EVANS, J.H. et MCGILL, S.M. (1970). An investigation of the Coulter Counter in "Biomass" determinations of natural freshwater Phytoplankton populations. *Hydrologia*, 35 (34).
- FIORENTINA, H. (1971). La granulométrie des poussières aux postes de travail. *La tribune du CEBEDEAU*, 337: 547-552.

- FOGG, G.E. (1965). Algal cultures and phytoplankton ecology. The athlone Press, University of London, 126 p.
- FULTON, J. (1972). Trials with an automated plankton counter. Journal of Fisheries Research Board of Canada, 29(7): 1075-1078.
- HAMILTON, P.J. et DAVIDSON, R.L. (1973). The interrelationships and stability of Coulter S-determined blood indices. J. Clin. Path., (26): 700-705.
- HOBSON, L.A. (1967). The seasonnal and vertical distribution of suspended particulate matter in an area of the Northeast Pacific ocean. Limnology & Oceanography, 12(4): 642-649.
- HUTCHINSON, T.C. (1973). Comparative studies of the toxicity of heavy metals to phytoplankton and their synergistic interactions. Water Pollution Research in Canada, 8: 68-90.
- KNIGHT, G. (1972). A simple method for determining size distribution of airborne dust by its settling velocity. American Industrial Hygiene Association Journal, 33(8): 526-532.
- LEWIN, R.A. (1962). Physiology and biochemistry of algae. Academic Press, New York, Chap. 40, 929 p.
- McCAVE, I.N. et JARVIS, J. (1973). Use of the Model T Coulter Counter in size analysis of fine to coarse sand. Sedimentology, 20: 305-315.
- McDONALD, D.J., PRONI, O. et KISHPAUGH, J. (1968). Analysis of particule size distribution in concentrations at various ocean depth. Coulter electronics Inc, Canada, 4 p.
- MALONEY, T.E., DONOVAL, E.J. jr. et ROBINSON, E.L. (1962). Determination of numbers and sizes of algal cells with an electronic particle counter. Phycologia, 2: 1-8.
- MANUEL D'INSTRUCTION MODELE TA ET ACCESSOIRES. (1974). Coultronics France. S.A.

- MATTERN, C.F.T., BRACKETT, F.S. et OLSON, B. (1957). Determination of number and size of particles by electrical gating: blood cells. *Journal of Physiology*, 18(1): 56-70.
- MICHAELIS, L. et MENTEN, M.L. (1913). Die kinetik der invertinwirkung. *Biochem. Z.*, 49: 333.
- MONOD, J. (1942). *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*. Hermann et Cie, Paris, 210 p.
- MONOD, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Ann. Rev. Microbiology*, 3: 371.
- MORRISON, G.A. et TOMKINS, A.L. (1973). Determination of mean cell size of *Tetrahymena* in growing cultures. *Journal of General Microbiology*, (77): 383-392.
- MOSER, H. (1958). The dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat. Carnegie Institute of Washington, Publication No 614, p.
- E.P.A. (1971). Algal assay procedure bottle test. National Eutrophication Research Program. Publié pour la première fois en février 1969.
- PAYNE, A.G. (1975). Responses of the three test algae of the algal assay procedure: bottle test. *Water Research*, 9: 437-445.
- RENDALL, R.E.G. et VAN SITTERT, G.C.H. (1972). The determination of the size distribution of mine dusts using the Coulter Counter. Dans: Inhaled particles III, Vols. I et II. Proc. of an Int. Symp., London, England; Un. Win., Brotherl Ltd.: 801-809.
- RIED, A., SOEDER, C.J. et MÜLLER, J. (1963). *Arch. Microbiol.*, 45: 343.
- RUKAVINA, N.A. et DUNCAN, G.A. (1970). Fast analysis of sediment texture. Dans: Proc. 13th Conf. Great Lakes Res. Internat. Assoc. Great Lakes Res: 274-281.

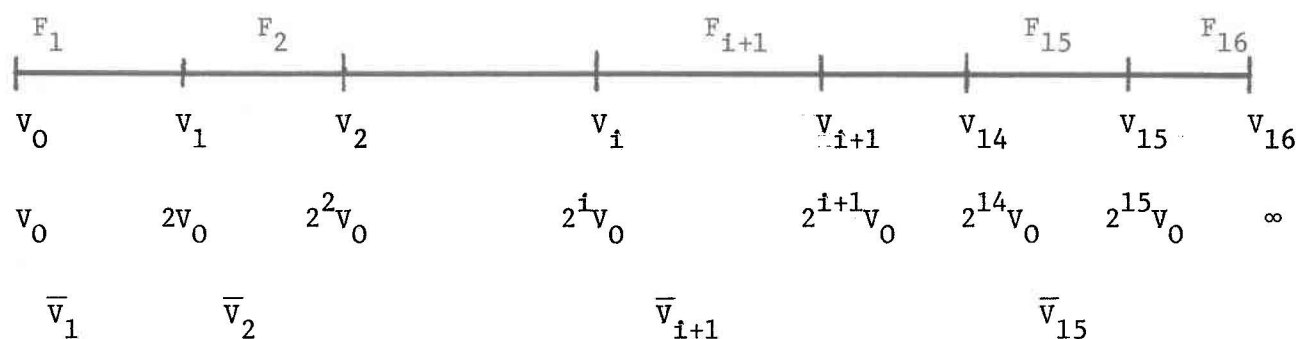
- SANTORO, T. et STOTZKY, G. (1967). Effect of electrolyte composition and pH on the particle size distribution of microorganisms and clay minerals as determined by the electrical sensing zone method. Archives of Biochemistry and biophysics, (122): 664-669.
- SCHMITZ, J.E. (1973). Particle size analysis of oil samples with a Coulter Counter. Filtration and separation, 10(4): 426-428.
- SCHULZE, K.L. et LIPE, R.S. (1964). Relationship between substrate concentration, growth rate, and respiration rate of *Escherichia coli* in continuous culture. Archiv. Mikrobiol., 48: 1.
- SHELDON, R.W. et PARSONS, T.R. (1967). A practical manual on the use of the Coulter Counter in marine research. Coulter electronics sales co., Canada, 66 p.
- SHELDON, R.W., PRAKASH, A. et SUTCLIFFE, W.H. jr. (1972). The size distribution of particulates in the ocean. Limnology and Oceanography, 17(3): 327-340.
- SHELEF, G., OSWALD, W.J. et GOLUEKE, C.G. (1968). Kinetics of algal systems in waste treatment - light intensity and nitrogen concentration as growth limiting factors. SERL Report No. 68-4, Univ. of California, Berkeley.
- SOEDER, C.J. (1965). Some aspects of phytoplankton growth and activity. Mem. Ist. Ital. Idrobiol., 18, suppl.: 47-59.
- SPENCER, C.P. (1954). Studies on the culture of a marine diatom. Journal Mar. Biol. Ass. U.K., 33: 285.
- STANGE, L., KIRK, M., BENNETT, E.L. et CALVIN, M. (1962). Biochimi. Biophys. Acta, 61: 681.

- SUBCOMMITTEE ON SEDIMENTATION OF THE INTER-AGENCY COMMITTEE ON WATER RESOURCES. (1964). A study of methods used in measurement and analysis of sediment loads in streams. Report R. Federal Inter-Agency Sedimentation Project, Minnesota, 80 p.
- SUTCLIFFE, W.H., SHELDON, R.W. et PRAKASH, A. (1970). Certain aspects of production and standing stock of particulate matter in the surface waters of the Northwest Atlantic ocean. Journal Fisheries Research Board of Canada, 27(11): 1917-1926.
- SWIFT, D.J.P., SCHUBEL, J.R. et SHELDON, R.W. (1972). Size analysis of fine-grained suspended sediments: a review. Journal of Sedimentary Petrology, 42(1): 122-134.
- TAMIYA, H. (1963). Cell differentiation in *Chlorella*. Symp. Soc. Exp. Biol., 17: 193.
- TEISSIER, G. (1936). Les lois quantitatives de la croissance. Ana. Physiol. Physiochim. Biol., 12: 527.
- TOERIEN, D.F. et HUANG, C.H. (1973). Algal growth prediction using growth kinetic constants. Water Research, 7: 1673-1681.
- TOERIEN, D.F., HUANG, C.H., RADIMSKY, J., PEARSON, E.A. et SCHERFIG, J. (1971). Provisional algal assay procedures - Final report. SERL Report No. 71-6, Uni. of California, Berkeley, 211 p.
- TSOGLIN, L.N. (1973). Analysis of physiological characteristics of a population of micro-algae on the basis of the life cycle and age distribution of the cells. Fiziologiya rastenii, 20(3): 532-538.
- VON FOERSTER, H. (1959). The kinetics of cell proliferation. F. Stohlman, editor: 382.

ANNEXE

Cette annexe présente la méthode d'estimation du nombre et du volume des particules dans chaque canal à partir du nombre total de particules mesurées et d'une partition du volume total des particules mesurées par le compteur Coulter.

Soit N le nombre total de particules comptées et la partition $\{F_i\}$ du volume total occupé par celles-ci:



où

- F_{i+1} = portion du volume total représentant les particules situées dans l'intervalle de volume $[V_i, V_{i+1}[$ et $\sum_{i=1}^{16} F_i = 1$
- V_i = borne d'un intervalle de volume (ou canal) en μ^3
- \bar{V}_{i+1} = volume moyen géométrique de l'intervalle $[V_i, V_{i+1}[$ et valant $\sqrt{V_i V_{i+1}}$.

En supposant que les billes de polystyrène soient d'une sphéricité parfaite, leur volume moyen sera:

$$V_b = \frac{4}{3} \pi r^3 = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{5,2}{2}\right)^3$$

$$= 73,62 \mu^3$$

Si l'on calibre le compteur pour que le volume de $73,62 \mu^3$ se situe entre le 10ième et le 11ième canal, on a:

$$V_{10} = Z^{10} V_0 = 73,62 \mu^3$$

$$V_0 = 0,072 \mu^3$$

et

V_1	0,144 μ^3	V_9	36,811 μ^3
V_2	0,288 "	V_{10}	73,62 "
V_3	0,575 "	V_{11}	147,24 "
V_4	1,150 "	V_{12}	294,49 "
V_5	2,301 "	V_{13}	588,98 "
V_6	4,601 "	V_{14}	1177,95 "
V_7	9,203 "	V_{15}	2355,91 "
V_8	18,406	V_{16}	∞

On a vu que, par définition, le volume moyen géométrique de l'intervalle $[V_i, V_{i+1}]$ est:

$$\bar{V}_{i+1} = \sqrt{V_i V_{i+1}}$$

mais $V_{i+1} = 2 V_i$ (1)

alors $\bar{V}_{i+1} = V_i \sqrt{2}$ (2)

Pour $i = 0$, on a:

$$\bar{V}_1 = V_0 \sqrt{2} = 0,102 \mu^3$$

et

\bar{V}_2	0,204 μ^3	\bar{V}_9	25,030 μ^3
\bar{V}_3	0,407 "	\bar{V}_{10}	52,06 "
\bar{V}_4	0,813 "	\bar{V}_{11}	104,11 "
\bar{V}_5	1,626 "	\bar{V}_{12}	208,23 "
\bar{V}_6	3,254 "	\bar{V}_{13}	416,47 "
\bar{V}_7	6,507 "	\bar{V}_{14}	832,94 "
\bar{V}_8	13,015 "	\bar{V}_{15}	1665,87 "

Par l'équation (2), on a que:

$$\frac{\bar{V}_{i+1}}{\bar{V}_i} = \frac{V_i}{V_{i-1}}$$

et par l'équation (1), on a que $V_i = 2 V_{i-1}$, alors:

$$\frac{\bar{V}_{i+1}}{\bar{V}_i} = 2 \quad (3)$$

D'autre part, imaginons une suite de $0 \leq P_i < 1$ tels que

$$F_i V = \bar{V}_i P_i, \quad i = 1, 16$$

où V est le volume total occupé par les particules comptées et où:

$$\sum_1^{16} P_i = 1.$$

On vérifie que:

$$\sum_1^{16} F_i V = V \sum_1^{16} F_i = V = \sum_1^{16} \bar{V}_i P_i \quad (4)$$

alors
$$F_i = \frac{\bar{V}_i P_i}{V}, \quad i = 1, 16$$

et

$$\frac{F_{i+1}}{F_i} = \frac{\bar{V}_{i+1} P_{i+1}}{\bar{V}_i P_i}$$

Par l'équation (3) on a :

$$\frac{F_{i+1}}{F_i} = 2 \frac{P_{i+1}}{P_i}$$

ou

$$P_{i+1} = \frac{F_{i+1}}{2F_i} P_i \quad (5)$$

Les P_i seraient tels que :

$$P_i N = N_i \quad , \quad i = 1, 16 \quad (6)$$

où N_i est le nombre de particules dans le canal i et :

$$\sum_1^{16} P_i N = N \sum_1^{16} P_i = N = \sum_1^{16} N_i$$

Par (6), (5) devient :

$$N_{i+1} = \frac{F_{i+1}}{2F_i} N_i \quad (7)$$

Exprimons la somme des N_i en fonctions uniquement de N_1 à l'aide de (7) :

$$N_1 + N_2 + N_3 + \dots + N_{16} = N$$

$$N_1 + \frac{F_2}{2F_1} N_1 + \frac{F_3}{2F_2} \frac{F_2}{2F_1} N_1 + \dots + \frac{F_{16}}{2F_{15}} \frac{F_{15}}{2F_{14}} \dots \frac{F_3}{2F_2} \frac{F_2}{2F_1} N_1 = N$$

$$N_1 \left(1 + \frac{F_2}{2F_1} + \frac{F_3}{2^2 F_1} + \dots + \frac{F_i}{2^{i-1} F_1} + \dots + \frac{F_{16}}{2^{15} F_1} \right) = N$$

$$N_1 = \frac{F_1 N}{\left(F_1 + \frac{F_2}{2} + \frac{F_3}{2^2} + \dots + \frac{F_i}{2^{i-1}} + \dots + \frac{F_{16}}{2^{15}} \right)}$$

Ayant trouvé la valeur de N_1 , on calcule celle des autres N_i par (7).
Un raisonnement similaire à partir de (5) nous aurait conduit aux P_i , qui, par (6), nous auraient donné les N_i .

Prenons un exemple. Lors du comptage d'un échantillon d'algues, l'appareil après 9 secondes d'aspiration affiche un nombre N d'algues comptées de 15000 ainsi que la distribution suivante:

F_5	F_6	F_7	F_8	F_9	F_{10}	F_{11}	F_{12}	F_{13}	F_{14}	F_{15}
0,001	0,004	0,026	0,087	0,422	0,271	0,124	0,031	0,017	0,009	0,008

où F_1 à F_4 ainsi que F_{16} sont nuls. On vérifie que $\sum_1^{16} F_i = 1$.

Exprimons N_5 à N_{15} en fonction de N_5 à l'aide de (7) et faisons la somme:

$$N_5 \left(F_5 + \frac{F_6}{2} + \frac{F_7}{2^2} + \frac{F_8}{2^3} + \frac{F_9}{2^4} + \frac{F_{10}}{2^5} + \frac{F_{11}}{2^6} + \frac{F_{12}}{2^7} + \frac{F_{13}}{2^8} + \frac{F_{14}}{2^9} + \frac{F_{15}}{2^{10}} \right) = F_5 N_5$$

$$N_5 = \frac{(0,001) (15\ 000)}{0,057} = 261$$

$$\text{Alors } N_6 = \frac{F_6}{2F_5} N_5 = \frac{(0,004) \cdot 261}{2(0,001)} = 522$$

et

N_5	N_6	N_7	N_8	N_9	N_{10}	N_{11}	N_{12}	N_{13}	N_{14}	N_{15}
261	522	1696	2837	6882	2210	506	63	17	5	2

La somme des N_i calculés étant 15001, on peut dire que la partition des N_i est satisfaisante.

On peut maintenant estimer les volumes réels R_i dans chaque canal par:

$$R_i = N_i \bar{V}_i$$

Alors:

R_5	R_6	R_7	R_8	R_9	R_{10}
424,39 μ^3	1698,59	11035,87	36923,56	179138,46	115052,6

R_{11}	R_{12}	R_{13}	R_{14}	R_{15}
52679,7	13118,5	7080,0	4164,7	3331,7

Après une calibration préalable de l'orifice de 50 μ du tube d'aspiration, on trouve que cet orifice aspire un volume de 0,01169 ml par seconde. Pour 9 secondes, on a donc un volume aspiré V_A de 0,10521 ml.

Afin de comparer plusieurs échantillons entre eux, il est préférable de diviser les N_i et les R_i par V_A .

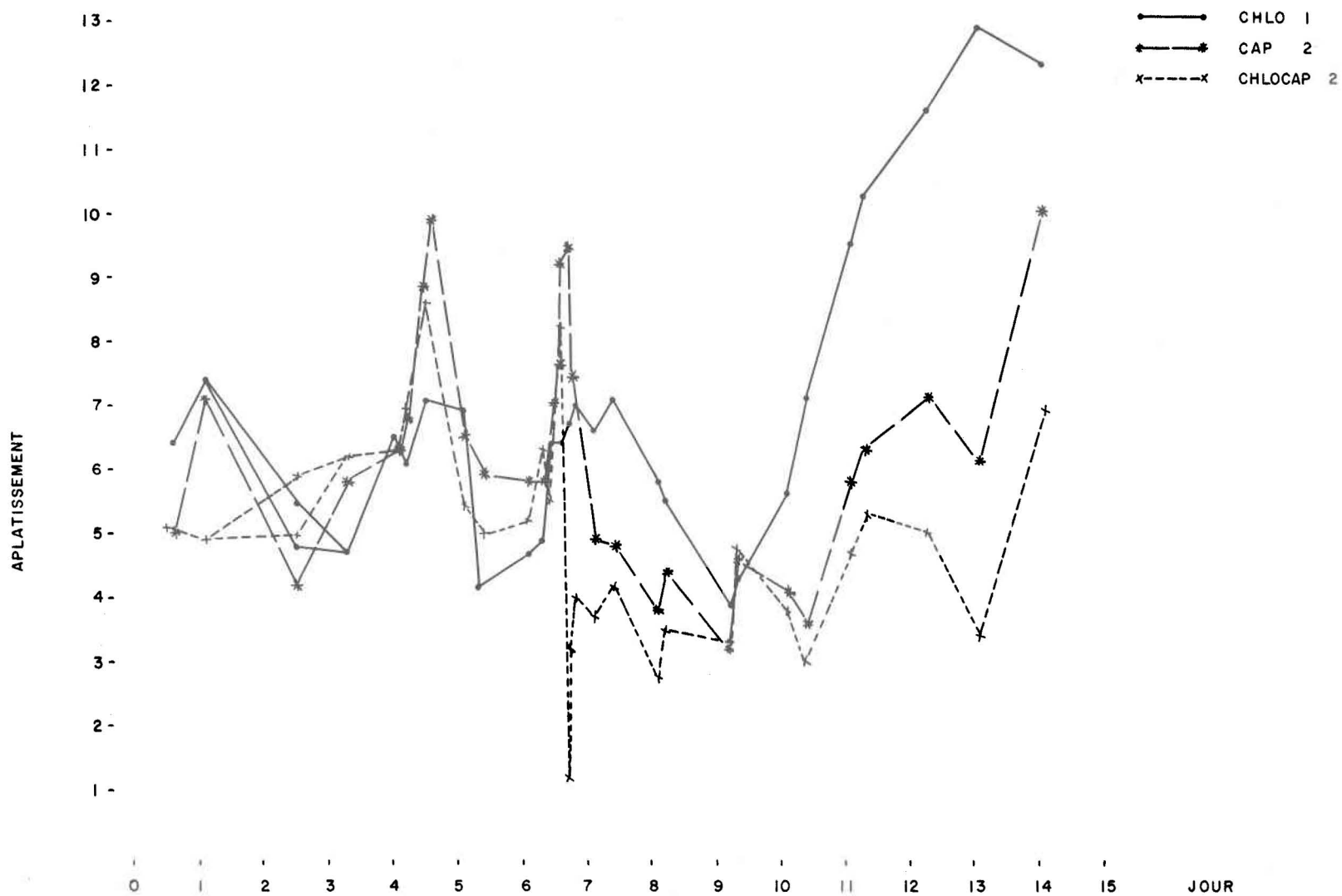


FIGURE 23. LE COEFFICIENT D'APLATISSEMENT EN FONCTION DU TEMPS DU PREMIER TRIPLICATA DE CHLORELLA V., DU DEUXIEME DE SELENASTRUM C. ET DU DEUXIEME DE LA CULTURE MIXTE.