

## Eau de lessive et algue verte

*Quels sont les effets des eaux de lessive sur la croissance d'une algue verte ?*

*On peut montrer de façon simple mais quantifiable comment le rejet des eaux usées humaines peut modifier la croissance des algues dans une rivière ou une étendue d'eau, provoquant ainsi leur eutrophisation.*

*On étudie la croissance de l'algue verte unicellulaire *Scenedesmus suspicatus* (*Chlorophycée d'eau douce*) sur différents milieux :*

- milieu de référence (norme AFNOR) ;
- eau du robinet ;
- milieu contenant des lessives à diverses concentrations.

### MATÉRIEL

- Eau distillée, eau du robinet ;
- lessives, par exemple une lessive X «ordinaire», et une lessive Y dite «sans phosphates» ;
- balance de précision ;
- portoirs plastiques de couleur (repérage facile) ;
- tubes à essais à vis, à bouchon PVC/ou tubes avec coton cardé ;
- marqueur indélébile ;
- four à micro-ondes/ou autocuiseur pour stérilisation ;
- pipette automatique (pour dilutions) et micropipette automatique (pour distribuer l'algue) ;
- colorimètre pour mesurer la DO ;
- cellule de Malassez ;
- microscope.

### ALGUES ET MILIEU DE CULTURE

#### Souches d'algues

– *Scenedesmus* : on peut se les procurer au Muséum national d'histoire naturelle, à Paris, ou bien, par exemple, au laboratoire de biologie marine (algologie) 39, rue Desmoueux 14000 Caen (100f la souche).

– Chlorelles ou autres : voir les laboratoires d'universités.

#### Préparation des solutions mères

- solution n°1 : nitrate de calcium 4 g + eau distillée 100 ml
- solution n°2 : nitrate de potassium 10 g + eau distillée 100 ml
- solution n°3 sulfate de magnésium 3 g + eau distillée 100 ml
- solution n°4 : monohydrogénophosphate de potassium anhydre 4 g + eau distillée 100 ml
- solution n°5 : sulfate de cuivre 30 mg + heptamolybdate d'ammonium 60 mg + sulfate de zinc 60 mg + chlorure de cobalt 60 mg + nitrate de manganèse 60 mg + acide citrique 60 mg + acide borique 60 mg + eau distillée 1000 ml
- solution n°6 : citrate de fer III 1,625 g + sulfate de fer II 0,625 g + chlorure de fer III 0,625 g + eau distillée 1000 ml

#### Préparation du milieu de culture

Prendre :

- solution n°1 : 1 ml
- + solution n°2 : 1 ml
- + solution n°3 : 1 ml
- + solution n°4 : 1 ml
- + solution n°5 : 0,5 ml
- + solution n°6 : 0,5 ml

- Puis compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.
- Stériliser, puis vérifier que le pH est de  $7,1 \pm 0,1$ .
- NB : le matériel et les produits chimiques peuvent être achetés, par exemple, chez Prolabo, éventuellement chez Jeulin ou Pierron.

## PROTOCOLE

- 1.- Préparer 2 séries de 24 tubes + 6 autres tubes (tubes pyrex)
- 2.- Numérotter les tubes de  $I_1$  à  $I_{24}$  et  $II_1$  à  $II_{24}$ .  
 $III_r$  et  $III_d$ ,  $IV_d$  et  $IV_r$ , ainsi que  $V_s$  et  $V_r$  seront des tubes témoins.
- 3.- Mettre dans les séries I, II,  $III_r$  : 20 ml d'eau du robinet,  
les tubes  $IV_d$  : 20 ml d'eau distillée,  
les tubes  $V_s$  : 20 ml de milieu *Scenedesmus*.
- 4.- Ajouter dans le tube  $I_1$  : 2 g de lessive X, dans le tube  $II_1$  : 2 g de lessive Y. Cela va constituer les solutions mères des séries I et II. Bien agiter.
- 5.- A partir de ces solutions mères faire des dilutions décimales au moyen de la pipette automatique.  
Par exemple :
  - Prendre 2 ml dans le tube  $I_1$  homogénéisé, les mettre dans le tube  $I_2$  ; agiter
  - prendre 2 ml du tube  $I_2$  homogénéisé, les mettre dans le tube  $I_3$ ; agiter
  - prendre 2 ml du tube  $I_3$  homogénéisé etc.
  - enfin prendre 2 ml dans le tube  $I_{24}$  et les jeter.
  - Faire les mêmes opérations avec les tubes de la série II.
- 6.- Visser les bouchons, sans les bloquer (ou bien boucher avec du coton cardé les tubes à essais «classiques»).
- 7.- Stériliser tous les tubes au four à micro-ondes : 5 min à 650 watts ; surveiller l'ébullition (ou bien stériliser à l'autocuiseur 30 min à  $100^\circ\text{C}$  sous pression).
- 8.- Après refroidissement, mettre avec la micropipette automatique (à embout stérilisé) 100  $\mu\text{l}$  de culture mère *Scenedesmus* dans tous les tubes (augmenter le volume si la culture n'est pas très dense).
- 9.- Vérifier la fermeture des tubes, les agiter, puis les placer à la lumière.
- 10.- Avec la cellule de Malassez compter le nombre de cellules algaires pour un volume précis de la culture. (Ceci permettra de calculer combien de cellules algaires auront été inoculées par tube).
- 11.- Mener la culture 10 à 15 jours selon la température ambiante. Agiter chaque jour les tubes.
- 12.- Mesurer alors la DO de chaque tube avec un colorimètre. Parallèlement établir une courbe étalon  $DO = f[C]$  à partir d'un peu de culture (mère) de *Scenedesmus*.

## RÉSULTATS

- Croissance de la culture nulle sur l'eau distillée.
- Croissance mesurable sur l'eau du robinet.
- Croissance forte sur les eaux enrichies en lessives, surtout celles qui sont avec phosphates.
- Croissance ralentie puis arrêtée si la concentration en lessive est trop forte.

[Voir plus loin, dans l'article «Effet des eaux de lessive sur la croissance des algues vertes», les résultats détaillés et leur interprétation]