

ECOTRON-EMBIEZ

UTILISATION D'ENGRAIS AGRICOLES COMME SOURCE
DE NUTRILITES POUR LA CULTURE MASSIVE DE
QUELQUES ALGUES MARINES .

par

O. GUERIN-ANCEY, S.Y. MAESTRINI, L. BEKER.

Station marine d'Endoume, 13007 Marseille.

R E S U M E

Treize algues unicellulaires appartenant à des groupes taxonomiques différents ont été cultivées sur : -un milieu de laboratoire (ANTIA et CHENG, 1970) ; - un milieu complexe couramment utilisé en aquaculture pris comme milieu de référence (WALNE, 1970) ; - trois mélanges nutritifs préparés avec des sels minéraux purifiés ; enfin, neuf mélanges préparés à partir d'engrais agricoles.

Les résultats obtenus ont montré qu'aucun engrais binaire ou ternaire prêt à l'emploi n'est favorable à la croissance de ces algues ; les milieux préparés à partir de ces engrais supportent une densité cellulaire qui représente, en moyenne, 37 % seulement de celle que l'on obtient avec le milieu de référence. Les mélanges préparés avec des engrais ne contenant qu'un seul élément chimique sont préférables. L'azote et le phosphore ajoutés seuls, à raison de 10 atomes d'azote pour 1 atome de phosphore, sont suffisants pour fertiliser l'eau de mer. L'addition de fer complexé s'est avéré être inutile. Les densités cellulaires obtenues avec ce mélange d'azote et de phosphore agricole sont, en moyenne, moitié moindres que celles qu'autorise le "milieu de Conway", mais il y a d'importantes variations spécifiques ; les diatomées sont les algues qui l'utilisent le mieux.

Les biomasses maximales sont obtenues avec des concentrations proches de $500 \mu\text{gat.N.l}^{-1}$ et $50 \mu\text{gat.P.l}^{-1}$, mais la meilleure utilisation des sels nutritifs est obtenue pour des concentrations plus faibles.

D'autres expérimentations, effectuées en grand volumes ou en volumes moyens, seraient nécessaires pour estimer la valeur nutritive des algues produites avec les engrais agricoles employés.

A B S T R A C T

The use of agricultural manures for marine algae mass production.

Thirteen marine algal strains belonging to different taxonomic groups have been grown in different artificial media : two culture solutions used for laboratory experiment (ANTIA and CHENG, 1970) or mass culturing (WALNE, 1970), and enriched sea waters prepared with three mixtures of purified nutrients and nine of agricultural manures.

Data obtained show that none of the binary or ternary manures support a good algal growth ; cell densities are generally limited to 37 % of those observed with reference medium ("Conway medium"). Mixtures prepared with agricultural nitrate and phosphate (10 N/1 P) are more convenient for this purpose ; chelated-iron did not enhance algal growth. Cell densities range from 25 to 86 % of reference cultures, with an average of 51 % ; diatoms are the best growing strains.

Maximal biomass is usually obtained with nutrient concentrations close to 500 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$ and 50 $\mu\text{gat.P.l}^{-1}$, but the most efficient assimilation of nutrients is obtained with lower concentrations.

Further experiments are needed to get more informations on the chemical composition of the cells grown in the studied mixtures.

M O T S - C L E S : Aquaculture, algues unicellulaires, engrais agricoles.

K E Y W O R D S : Aquaculture, marine algae, agricultural manures.

INTRODUCTION

La production croissante au cours d'opérations d'aquaculture d'espèces marines utilisées surtout pour nourrir les juvéniles d'espèces herbivores comestibles cultivées, et accessoirement aussi pour l'élevage de Pélécypodes directement comestibles, a eu pour effet d'augmenter considérablement les besoins en algues unicellulaires de tailles diverses servant de "fourrage".

Des masses importantes de cellules algales ont pu être produites au moyen de nutrilités obtenus par recyclage d'effluents domestiques non chlorés (RYTHER et al., 1972) ; toutefois, aucun moyen simple et peu coûteux n'a pu, pour l'instant, être mis au point pour purifier les suspensions algales des bactéries et des virus qui y pullulent (GOLDMAN et RYTHER, communication personnelle). D'une manière générale, c'est d'ailleurs cette nécessité de réduire les populations de micro-organismes indésirables qui constitue la difficulté majeure de la culture massive des algues unicellulaires (UKELES, 1975). Les eaux profondes riches en sels nutritifs constituent une source de sels minéraux à la fois peu coûteuse et presque dépourvue de consommateurs, tout à fait propice à la culture intensive d'algues unicellulaires (OTHMER et ROELS, 1973 . ROELS et al., 1976 ; MOREIRA DA SILVA, 1971 ; CUZON, communication personnelle). Mais ces eaux sont rarement situées à proximité immédiate des côtes et les sites propices à leur utilisation sont assez exceptionnels. L'addition de sels minéraux à l'eau de mer constitue donc, actuellement, le seul moyen pour préparer, en tous lieux et sans difficulté, des milieux pour la culture des algues planctoniques.

Les milieux de culture mis au point pour l'entretien des souches de collection ou des expérimentations de laboratoire sont généralement complexes et utilisent des produits coûteux (PROVASOLI et al., 1957 ; GUILLARD et RYTHÉ, 1962 ; ANTIA et CHENG, 1970). Les cultures massives d'espèces phytoplanctoniques marines sont le plus souvent faites avec des milieux de même type (WALNE, 1970) et, par voie de conséquence, ne correspondent pas à une production rationnelle à l'échelle industrielle.

Dans la perspective d'une production intensive de l'échelon primaire sur le site des Embiez (VICENTE, ce colloque), nous avons comparé les croissances obtenues avec treize espèces d'algues unicellulaires cultivées sur un milieu de laboratoire, un milieu utilisé en aquaculture, trois mélanges de sels minéraux purifiés et neuf mélanges préparés à partir d'engrais agricoles, à différentes concentrations, de façon à pouvoir ultérieurement déterminer la composition d'un mélange simple et peu coûteux pour fertiliser les eaux.

Les expérimentations ont été conduites en trois étapes successives mettant en jeu des espèces algales et des milieux différents :

- (1) essais comparatifs de mélanges binaires et ternaires d'engrais agricoles ;
- (2) essais de milieux composés à partir d'engrais primaires ;
- (3) détermination des concentrations optimales en nutrilites.

MATERIEL ET METHODES

Treize souches en cultures unialgales ont été utilisées : une Rhodophycée : Porphyridium sp. ; six Bacillariophycées : Chaetoceros didymus Ehrenberg, Chaetoceros pseudocurvicetus Mangin, Nitzschia acicularis Smith (Ci), Phaeodactylum tricornutum Bohlin, Skeletonema costatum Cleve et Thalassiosira pseudonana Hasle et Heimal ; une Eustigmatophycée : Monallantus salina Bourrelly ; deux Haptophycées : Isochrysis galbana Parke (Ci) et Pavlova pinguis Green ; une Cryptophycée : Rhodomonas lens Pascher et Ruttner (Ci) ; une Chlorophycée : Chlamydomonas palla Butcher ; une Prasinophycée : Tetraselmis striata Butcher (Ci).

La plupart de ces souches ont été isolées du Golfe de Marseille ; les autres proviennent de diverses collections internationales (Ci). Les cultures mères étaient entretenues sur le milieu ANTIA et CHENG (1970).

L'eau de mer a été reconstituée à partir d'eau distillée dans laquelle on a dissous 34 g.l⁻¹ de sel de Guérande provenant d'un stock dont la composition a été analysée par le Laboratoire central de Chimie analytique de l'I.S.T.P.M. et le Service de Chimie pharmaceutique de l'Université de Nantes, de façon à avoir une eau de mer de composition constante pour les diverses expérimentations.

Les cultures expérimentales ont été faites en tubes à essais 22 x 220 mm, contenant 20 ml de solutions nutritives à pH = 7,8, incubées à 18°C et en éclairage artificiel avec un rythme nyctéméral de 10 heures de nuit et 14 heures de jour. La croissance des algues a été estimée par mesure journalière de la densité optique des cultures à 600 nm.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Comparaison des croissances obtenues avec dix espèces d'algues unicellulaires cultivées sur le milieu de ANTIA et CHENG (1970), le "milieu de Conway" (WALNE, 1970), sur trois mélanges de nitrates et phosphates purifiés et neuf engrais binaires ou ternaires agricoles.

Pour les solutions de référence préparées avec des produits purs, la concentration de l'azote est de $500 \mu\text{gat.l}^{-1}$ et celle du phosphore de $50 \mu\text{gat.l}^{-1}$. Avec les engrais agricoles, la préparation a été faite de manière à obtenir une concentration finale de $500 \mu\text{gat.l}^{-1}$ d'azote ;

Tableau 1 : Composition des mélanges d'engrais agricoles et de produits purs binaires ou ternaires, utilisés pour la culture d'algues unicellulaires marines. % : pourcentage en poids, de l'élément dans le composé ou le mélange.

Dénomination	Composition en éléments nutritifs							
	N-NO ₃ % $\mu\text{gat.l}^{-1}$		N-NH ₄ ⁺ % $\mu\text{gat.l}^{-1}$		P-PO ₄ ⁻⁻⁻ % $\mu\text{gat.l}^{-1}$		$\Sigma\text{N/P-PO}_4$	K ⁺ %
KNO ₃ Prolabo	14	500			22	50		39
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O Prolabo					22	50		
KNO ₃ NaHPO ₄ .H ₂ O Prolabo	25	500			22	50	10	
Donnat-vert	25	500			4	179	2,8	
Dupré					11	50		22
Gardinier			18	500	46	2750	0,2	
O.N.I.A.	6	250	6	250	6	555	0,9	20
Phosamo 1			5	500	7	1667	0,3	12
Phosamo 2	3,5	175	6,5	325	10	1111	0,5	10
Phosamo 3			4	500	20	5555	0,1	15
Sainflor-été	24	500	4	183	4	183	2,7	16
Sainflor-hiver	20	500			4	217	2,3	27

de ce fait, les concentrations des autres éléments, notamment celles du phosphore, sont variables (tableau 1). Pour toutes les solutions préparées avec ces produits, les rapports N/P (atome/atome) diffèrent grandement du rapport de REDFIELD (1943).

La comparaison des biomasses algales obtenues avec ces différents milieux (tableau 2) montre qu'aucun des engrais agricoles utilisés n'est aussi favorable à la croissance des algues que les milieux de laboratoire. En effet, les meilleures croissances moyennes obtenues avec ces produits ne représentent que 37 % de celles obtenues avec le "milieu de Conway", ce qui est même inférieur à la biomasse moyenne (44 %) que supporte le mélange nitrate + phosphate préparé à partir de produits purs. Il y a toutefois quelques exceptions, ainsi, la diatomée Chaetoceros pseudocurvicetus pousse bien dans les milieux préparés avec les engrais Dupré et ONIA et la Chlorophycée Chlamydomonas palla se développe assez bien dans la solution nutritive préparée avec les engrais Donnat-vert et Phosamo 3.

Encore que la composition des engrais employés soit assez mal connue, de l'utilisateur tout au moins, il semble donc que les éléments présents dans les engrais sous la forme d'impuretés ou d'excipients ne constituent pas un facteur favorable à la croissance des algues. Ces engrais ne sont pas toxiques non plus, sauf, peut-être, pour la diatomée Phaeodactylum tricornutum pour qui la croissance nitrate + phosphate purifiés est de 92 % et seulement de 34 % avec l'engrais le plus favorable. Cette bonne croissance de P. tricornutum sur le mélange de produits purifiés qui constitue un milieu relativement pauvre en oligo-éléments n'est cependant pas pour étonner, car cette espèce est connue pour son autotrophie marquée, notamment envers les vitamines.

Dans l'ensemble, les diatomées sont les algues qui utilisent le mieux les engrais binaires ou ternaires ; trois des quatre espèces de ce groupe donnent une biomasse qui représente plus du tiers de celle obtenue avec le milieu de référence. Parmi les souches appartenant aux autres groupes, seule l'Haptophycée Pavlova pinguis donne des croissances du même ordre de grandeur ; par contre, c'est la deuxième Haptophycée : Isochrysis galbana qui utilise le moins bien ces engrais et donne la croissance moyenne la plus faible (14 %). Il faut donc se garder de toute généralisation hâtive à ce sujet.

Par ailleurs, bien qu'étant le plus souvent utilisé en aquaculture, ce qui justifie que nous l'ayons pris comme milieu de référence, le "milieu de Conway" apparaît néanmoins comme étant moins bon que le milieu de ANTIA et CHENG, en petits volumes tout au moins. Compte tenu de ce fait, il nous semble évident, en tout état de cause, qu'aucun des engrais binaires ou ternaires testés ne puisse être retenu pour la préparation d'un milieu d'utilisation générale destiné à la culture massive des algues unicellulaires. C'est pourquoi nous avons entrepris de comparer la croissance de quelques algues sur des mélanges préparés à partir de produits industriels ne contenant qu'un seul élément nutritif, espérant pouvoir définir ensuite un mélange simple qui permettrait d'obtenir des croissances proches de celles qu'autorisent les milieux de laboratoire les plus efficaces. De plus, l'azote et le phosphore ne sont certainement pas les seuls éléments nécessaires aux algues utilisées, car la seule addition d'un mélange de sels de ces deux éléments est insuffisante pour obtenir des densités cellulaires du même ordre que celles que supporte le milieu de référence ; nous avons donc inclus un engrais contenant du fer complexé dans la liste des produits employés, car l'addition de cet élément et d'un agent complexant améliore généralement la fertilité des eaux marines (BARBER et RYTHÉ, 1969 ; BARBER et al., 1971 ; BERLAND et al., sous presse ; CHARPY et al., sous presse).

Tableau 2 : Utilisation d'engrais agricoles comme source de nutrilités pour quelques algues marines. Croissance de dix souches tests cultivées sur neuf solutions nutritives préparées avec des engrais binaires ou ternaires et sur des solutions contenant des produits purs. Les croissances sont exprimées en pourcentage par rapport à celles obtenues avec le "milieu de Conway" (WALNE, 1970).
 Antia : milieu ANTIA et CHENG(1970) ; Conway : "milieu de Conway" ; Don.v : Donnat-vert ; Gard. : Gardinier ; Phos. : Phosamo ; Sain.e : Sainflor-été ; Sain.h : Sainflor-hiver ; C.m. : croissance moyenne sur engrais.

Espèces	NO ₃	PO ₄	NO ₃ + PO ₄	Antia	Conway	Don.v	Dupré	Gard.	ONIA	Phos.1	Phos.2	Phos.3	Sain.e	Sain.h	C.m.
	<u>Chaetoceros didymus</u>	22	44	44	161	100	39	29	27	35	48	23	35	44	37
<u>Chaetoceros pseudocurvicetus</u>	30	40	53	187	100	60	96	44	81	55	43	60	51	34	35
<u>Phaeodactylum tricornutum</u>	16	18	92	106	100	22	34	24	31	23	21	28	18	22	25
<u>Skeletonema costatum</u>	42	42	58	384	100	50	27	54	35	35	50	38	19	50	40
<u>Monallantus salina</u>	32	31	29	161	100	42	31	29	32	29	26	32	29	33	31
<u>Pavlova pinguis</u>	43	37	41	143	100	41	39	30	41	35	37	41	32	50	38
<u>Isochrysis galbana</u>	20	18	15	77	100	13	9	13	12	17	13	17	11	17	14
<u>Rhodomonas lens</u>	35	37	33	185	100	30	26	20	17	11	39	30	35	37	27
<u>Chlamydomonas palla</u>	20	22	48	145	100	9	28	23	29	28	36	37	33	20	27
<u>Tetraselmis striata</u>	21	25	27	187	100	23	21	23	25	25	34	47	12	25	26
\bar{x}	25	31	44	174	100	33	34	29	34	31	31	37	28	33	

2. Croissance de dix espèces d'algues unicellulaires cultivées sur le milieu de ANTIA et CHENG (1970), le "milieu de Conway", (WALNE, 1970) et cinq mélanges de nitrate, phosphate et fer complexé préparés à partir de produits purifiés et d'engrais agricoles.

Ces différents mélanges ont été préparés de façon à ce que la concentration en azote soit de $500 \mu\text{gat.l}^{-1}$, celle du phosphore de $50 \mu\text{gat.l}^{-1}$ et celle du fer de $10 \mu\text{gat.l}^{-1}$ (tableau 3).

La comparaison des biomasses algales obtenues avec ces différents milieux (tableau 4) montre que, si le développement des algues est, comme précédemment, toujours plus important sur les milieux de laboratoire, il n'y a pas de différence significative entre les croissances supportées par les mélanges de produits purs et de produits agricoles. La moyenne des croissances obtenues avec les divers mélanges est un peu supérieure à la moitié de celle que supporte le milieu de référence ; mais il y a des variations importantes (valeurs extrêmes : 17 % et 92 %).

Tableau 3 - Composition des mélanges de nitrate, phosphate et fer complexé préparés à partir de produits purifiés et d'engrais agricoles. Les concentrations des éléments sont exprimées en $\mu\text{gat.l}^{-1}$.

Produits utilisés	mélanges				
	(N + P) purs	(N + P) agricoles	(N + P + Fe) purs	(N + P) (Fe) agricole	(N + P + Fe) agricoles
KNO ₃ Prolabo	500		500	500	
NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O Prolabo	50		50	50	
Na ₂ EDTA-Fer			10		
Nitrate d'ammonium 33,5 % C.O.F.A.M.		500			500
Superphosphate (18 % ac.phosphorique du phosphate de chaux)		50			50
Sequestrene-fer 138 Fredilon (EDDHA-Fe) 6 % fer.				10	10

Les diatomées sont encore les algues qui poussent le mieux ; toutes les croissances moyennes sont, en effet, comprises entre 59 % et 86 % de la croissance des témoins. L'une d'elle, Thalassiosira pseudonana, montre une croissance de 92 % avec le mélange nitrate + phosphate préparé avec des produits purifiés et 93 % quand le fer complexé de même nature est ajouté.

Tableau 4 : Croissance de dix algues tests cultivées sur cinq solutions nutritives préparées avec des produits agricoles et sur des solutions contenant des produits purs. Les croissances sont exprimées en pourcentages par rapport à celles obtenues avec le "milieu de Conway"(WALNE, 1970). Antia: milieu ANTIA et CHENG (1970) ; Conway : "milieu de Conway" ; C.m. : Croissance moyenne. Composition des mélanges : voir tableau 3.

Espèces	Conway	Antia	(N + P) purs	(N + P) agricoles	(N + P + Fe) purs	(N + P) purs + (Fe) agricole	(N + P + Fe) agricoles	C.m.
<u>Porphyridium sp.</u>	100	66	66	55	45	43	59	54
<u>Nitzschia acicularis</u>	100	106	88	87	71	66	63	75
<u>Phaeodactylum tricornutum</u>	100	106	67	63	68	67	65	66
<u>Skeletonema costatum</u>	100	133	57	53	62	61	62	59
<u>Thalassiosira pseudonana</u>	100	130	92	77	93	82	86	86
<u>Monallantus salina</u>	100	145	28	24	31	38	40	32
<u>Isochrysis galbana</u>	100	73	17	23	17	22	25	21
<u>Pavlova pinguis</u>	100	135	39	39	39	40	39	39
<u>Rhodomonas lens</u>	100	192	33	30	36	38	35	34
<u>Chlamydomonas palla</u>	100	118	60	49	53	54	56	54
- x	100	120	55	50	52	51	51	51

Les substances complexantes semblent donc être présentes en quantité suffisante dans l'eau de mer utilisée pour la préparation des milieux, encore que BARBER et al. (1971) montrent que les sels minéraux fraîchement ajoutés sont immédiatement utilisables par les algues alors que les mêmes composés issus d'une régénération naturelle ancienne ne sont assimilés qu'après un "conditionnement" organique. Cette espèce étant connue pour avoir besoin de vitamine B 12 exogène (HASTING et THOMAS, 1977), il est plus surprenant de remarquer que les cultures expérimentales ont pu satisfaire leurs besoins sans qu'aucune substance ait été ajoutée. Il faut se souvenir, toutefois, que l'eau de mer reconstituée que nous avons utilisé pour ces expériences a été préparée avec un sel provenant de marais riches en substances organiques. C'est peut-être dans cette origine qu'il faut rechercher les causes de la présence probable de substances de croissance, encore qu'il ne faille pas surestimer la richesse de cette eau en oligo-éléments organiques, car la densité cellulaire de T. pseudonana obtenue sur l'eau enrichie seulement avec de l'azote et du phosphore ne représente que 70 % de celle du milieu de ANTIA et CHENG. D'autres algues, appartenant à d'autres groupes, montrent également de bonnes croissances : ce sont la Rhodophycée Porphyridium sp. et la Chlorophycée Chlamydomonas palla, qui dépassent 50 % de la croissance des témoins. Les autres souches, par contre, croissent peu sur les mélanges ternaires préparés, les croissances estimées étant comprises entre 39 % et 21 % de la croissance des témoins.

La présence de fer et de substance complexante ne semble pas avoir augmenté notablement la fertilité des solutions nutritives, tant pour celles ayant reçu le fer-EDTA que pour celles où l'on a ajouté du séquestrène-fer-Fredilon-138. L'azote et le phosphore semblent donc être les seuls éléments qu'il soit vraiment indispensable d'ajouter à l'eau de mer pour la rendre fertile pour les algues unicellulaires. Comme, de plus, les produits agricoles sont en général aussi satisfaisants que les produits de laboratoire, il n'y a pas lieu, à notre avis, de continuer à préparer les milieux pour cultures massives avec des produits purs et coûteux, dans la mesure où le prix de ces derniers primerait sur l'amortissement des équipements de culture.

Le "milieu de Conway", que nous avons pris comme référence, se différencie du mélange N + P + Fe-EDTA non seulement par la présence d'un mélange d'oligo-éléments minéraux, d'un mélange vitaminique et par un pH maintenu proche de 7,8 par la présence de TRIS, mais encore par une concentration en azote et en phosphore deux fois supérieure ($1170 \mu\text{gat.N.l}^{-1}$ et $130 \mu\text{gat.P.l}^{-1}$). Comme les oligo-éléments semblent ne pas avoir un rôle très grand, on pouvait s'attendre, à priori, à obtenir la croissance la plus importante sur ce milieu. Certes, comme nous venons de le voir, les divers mélanges de nitrate et de phosphate préparés supportent une croissance algale qui est, en moyenne, moitié moindre de celle que l'on peut obtenir sur le "milieu de Conway" ; mais, du fait que les algues croissent mieux encore sur le milieu de ANTIA et CHENG, dont la teneur en nitrilites est moitié moindre que celle du "milieu de Conway", on doit admettre que les éléments ou substances deviennent limitant dans ce milieu, avant que toute la réserve en azote et phosphore puisse être épuisée. C'est précisément, pour éviter un tel gaspillage de nitrilites que nous avons jugé indispensable de déterminer les concentrations des mélanges de nitrate et phosphate agricoles les plus favorables à une utilisation complète.

3. Détermination des concentrations optimales en azote et phosphore des mélanges nutritifs préparés avec des engrais agricoles.

Pour cette étude, nous avons comparé les croissances de six algues cultivées sur le "milieu de Conway" (WALNE, 1970) à cinq concentrations différentes (585, 1170, 1750, 2340, 3500 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$) à celles obtenues sur un mélange d'engrais agricoles contenant de l'azote également, à cinq concentrations différentes (250, 500, 750, 1 000 et 1 500 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$) et du phosphore. Les deux éléments sont présents dans les milieux en quantités telles que l'on a toujours 10 atomes d'azote pour 1 atome de phosphore.

Les six souches retenues pour cette étude appartiennent toutes à des groupes taxonomiques différents et sont de petite taille : Phaeodactylum tricornutum, Monallantus salina, Isochrysis galbana, Pavlova pinguis, Rhodomonas lens et Chlamydomonas palla.

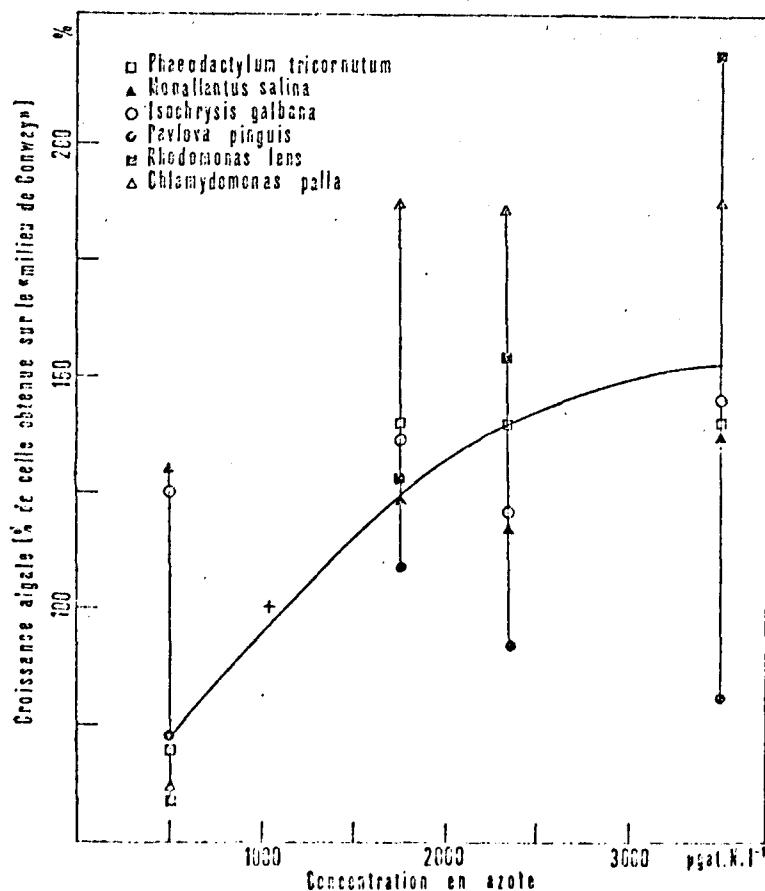


Figure 1 : Croissance (exprimée en pourcentage) par rapport au "milieu de Conway" normal, de six algues cultivées sur le "milieu de Conway" à des concentrations variables.

La comparaison des biomasses algales (figure 1) obtenues avec les cinq concentrations du "milieu de Conway" montre, tout d'abord, que la production d'algues augmente généralement avec la concentrations en nitrilites. Toutefois, si l'on rapporte la densité cellulaire à la concentration en sels nutritifs, par exemple, à l'azote, on remarque à nouveau que les fortes concentrations correspondent à une utilisation très partielle de la réserve nutritive des milieux (figure 2). De plus, l'augmentation de croissance due aux quantités élevées de nitrilites varie avec les espèces algales. Ainsi, pour la Cryptophycée *Rhodomonas lens*, l'augmentation de la biomasse est régulière de 585 à 3500 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$ et peut-être au delà (figure 1) ; il n'y a donc ni saturation ni inhibition et, pour cette espèce, la décroissance du rendement de l'utilisation des nitrilites est faible (figure 2). Par contre, pour l'Haptophycée *Pavlova pinguis*, les concentrations supérieures à 1750 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$ sont inhibitrices. Pour les autres espèces utilisées, il y a saturation de la croissance à partir de cette même concentration mais non inhibition ; de plus, le nombre de cellules produites pour un même nombre d'atomes d'azote et de phosphore présents diminue très fortement pour les concentrations supérieures à 500 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$ et 50 $\mu\text{gat.P.l}^{-1}$.

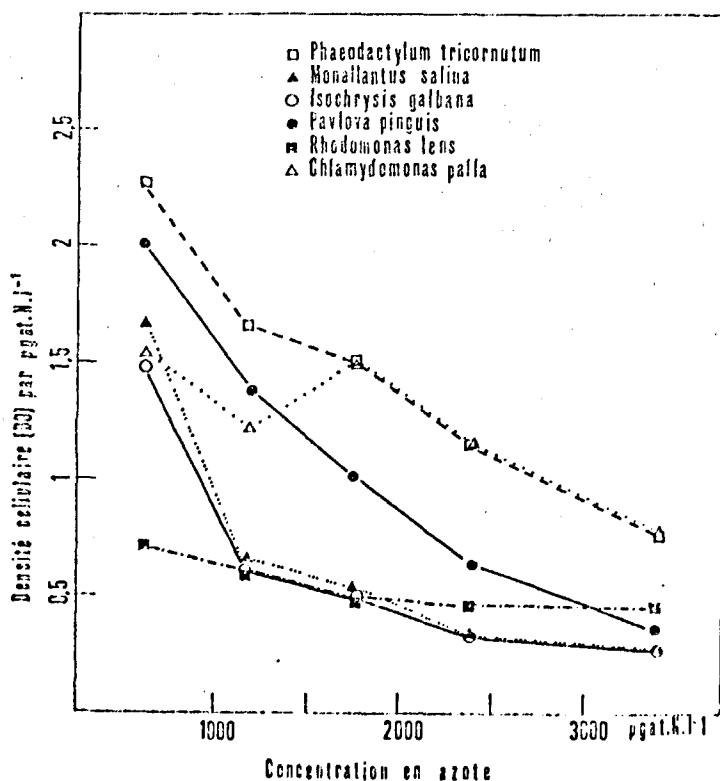


Figure 2 : Variation de la densité cellulaire obtenue par $\mu\text{gat N.l}^{-1}$ en fonction de la concentration du "milieu de Conway" .

Le mélange nutritif préparé avec des engrais agricoles est moins favorable à la croissance des algues que le "milieu de Conway", puisque les biomasses moyennes obtenues sont généralement de l'ordre de 50 % à 60 % de celles que supporte ce milieu (figure 3). Quelques espèces, cependant, peuvent y croître aussi bien, sinon mieux. C'est notamment le cas de la Chlorophycée *Chlamydomonas palla*, pour qui, toutefois, la valeur maximale du rapport densité cellulaire / teneur en nutrilités est observée pour le mélange contenant 500 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$ (figure 4). Pour toutes les autres souches utilisées, sauf la Cryptophycée *Rhodomonas lens*, c'est la concentration la plus faible qui autorise la meilleure assimilation des nutrilités, sans que ceux-ci soient pour autant épuisés car, comme nous l'avons dit précédemment, les croissances sont inférieures à celles des milieux de référence contenant respectivement une quantité identique d'azote et de phosphore.

En définitive, avec le mélange employé, la biomasse algale obtenue en fin de croissance est généralement peu différente avec 250 ou 500 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$ et, dans l'ensemble, le nombre de cellules obtenues par atome-gramme de nutrilité est d'autant plus grand, avec la gamme utilisée, que la concentration est faible, tant pour le "milieu de Conway" que pour le mélange d'engrais agricoles. Par voie de conséquence, pour obtenir un rendement économique optimal, il convient d'utiliser des concentrations assez faibles par rapport aux milieux utilisés en laboratoire pour maintenir des souches de collection ou pour effectuer des expérimentations en petits volumes.

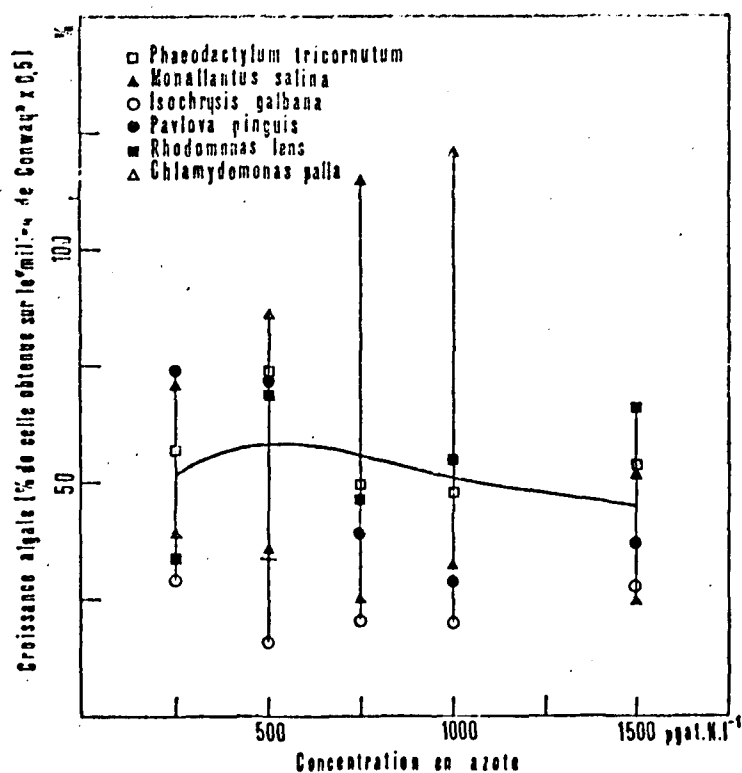


Figure 3 : Variation de la croissance (exprimée en pourcentage de celle obtenue avec le "milieu de Conway" à 585 $\mu\text{gat.N.l}^{-1}$) en fonction de la concentration des mélanges d'engrais agricoles élémentaires.

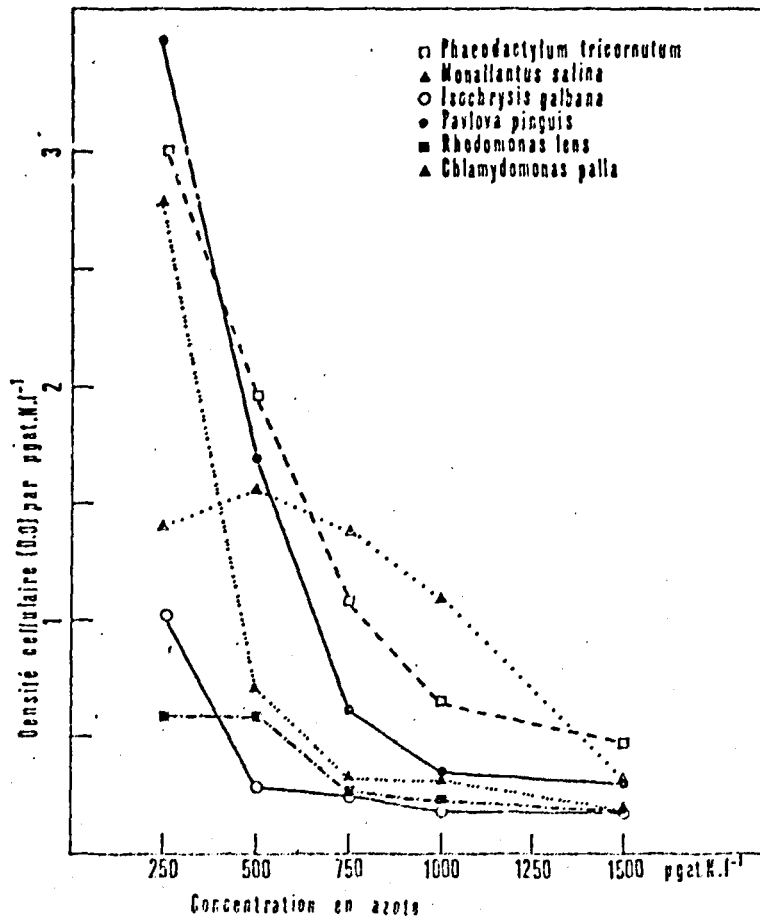


Figure 4 : Variation de la densité cellulaire obtenue par $\mu\text{gat N.l}^{-1}$ en fonction de la concentration du "milieu de Conway".

CONCLUSION

Les milieux préparés avec des engrais binaires ou ternaires prêts à l'emploi et conçus pour enrichir les sols terrestres permettent très rarement d'obtenir une croissance algale aussi importante que celle supportée par les milieux complexes utilisés en laboratoire. Pour la culture massive d'algues unicellulaires, il est préférable d'utiliser les engrais ne contenant qu'un seul élément et de préparer un mélange contenant de l'azote et du phosphore dans les proportions de 10 atomes d'azote pour 1 de phosphore.

Comme les produits purs ne sont pas plus efficaces que les produits agricoles équivalents, il paraît inutile d'employer les premiers, qui sont évidemment plus coûteux. Nous pensons même, que les solutions nutritives servant à l'entretien de routine ou aux expérimentations pour lesquelles les algues ne constituent qu'un aliment pourraient être préparées avec des engrais agricoles et que les composés très purs, donc très onéreux, pourraient être réservés aux expérimentations écophysiologicals concernant les algues elles-mêmes.

Dans l'ensemble, les biomasses maximales sont obtenues avec les engrais agricoles à des concentrations proches de $500 \mu\text{gat.N.l}^{-1}$ et $50 \mu\text{gat.P.l}^{-1}$; toutefois, la meilleure utilisation des sels nutritifs est obtenue pour des concentrations plus faibles. Il convient donc d'adopter des concentrations modérément élevées, d'autant plus que les fortes densités cellulaires sont à l'origine d'une limitation de la photosynthèse par absorption du rayonnement lumineux, à moins que l'on n'utilise des bassins ou des récipients où l'épaisseur d'eau est particulièrement faible. Comme, de plus, des cellules se divisant très rapidement ne sont pas les plus favorables à une utilisation comme "fourrage", car leur richesse en éléments de réserve est faible (BERLAND et al., 1970), une vitesse de croissance modérée peut être souhaitable.

En définitive, le rendement optimal d'une installation de production massive d'algues unicellulaires est le résultat d'un compromis entre une bonne utilisation des nutrilites, une vitesse de croissance convenable et l'obtention de cellules constituant une bonne nourriture pour les herbivores. Ce dernier aspect n'est pas le moins important pour le choix final d'équipements à construire. Comme peu d'informations existent à ce sujet, sur des algues cultivées sur un milieu nutritif préparé avec des engrais agricoles, nous avons complété les travaux que nous venons d'exposer par une étude de la composition chimique de trois algues cultivées de cette manière en volume moyen ; les résultats obtenus en seront exposés ultérieurement.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient très vivement Monsieur FRAYSSINET, responsable de la coopérative C.O.F.A.M., la Calade, Aix-en-Provence, pour la fourniture gracieuse des produits utilisés.

BIBLIOGRAPHIE

- ANTIA N.J. et CHENG J.Y. -1970- The survival of axenic cultures of marine phytoplanktonic algae from prolonged exposure to darkness at 20°C . Phycologia, 9, p. 179-183.
- BARBER R.T., RYTHER J.H. -1969- Organic chelators : factors affecting primary production in the Cromwell current upwelling. J. exp. mar. Biol. Ecol., 3, p. 191-199.
- BARBER R.T., DUGDALE R.C., MAC ISAAC J.J., SMITH R.L. -1971- Variations in phytoplankton growth associated with the source and conditioning of upwelling water. Inv. Pesq., 35, p. 171-193.



- BERLAND B.R., BONIN D.J., DAUMAS R.A., LABORDE P.L., MAESTRINI S.Y. -1970- Variation du comportement physiologique de l'algue Monallantus salina (Xantophycée) en culture. Mar. Biol., 7, 1, p. 82-93.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., MAESTRINI S.Y. Facteurs limitant la production primaire des eaux oligotrophes d'une aire côtière méditerranéenne (Calanque d'EN Vau, Marseille). Intern. Rev. ges. Hydrobiol. (sous presse).
- CHARPY-ROUBAUD C.J., CHARPY L.J., MAESTRINI S.Y. Etude de la production primaire des eaux des golfes nord-patagoniques (Argentine). Détermination des facteurs nutritionnels limitant la fertilité du phytoplancton du golfe "San Jose". C. R. Acad. Sc. Paris, sér. D (sous presse).
- GUILLARD R.R.L., RYTHER J.H. -1962- Studies on marine planktonic diatoms. I. Can. J. Microbiol., 8, p. 229-239.
- HASTING J.L., THOMAS W.H. -1977- Qualitative requirements and utilisation of nutrients : algae ; p. 87-163, in : RECHCIGL M., ed., Handbook series in nutrition and food, sect. D : nutritional requirement, vol. 1, C.R.C. Press, Cleveland Ohio, U.S.A.
- MOREIRA DA SILVA P. de C. -1971- Fertilization of the sea as a by-product of an industrial utilization of deep water. In : Fertility of the Sea, ed. by COSTLOW J.D. jr., Gordon and Breach Sc Publish., New York, 2, p. 622.
- OTHMER D.F., ROELS O. -1973- Power, fresh water, and food from cold, deep sea water. Science, 182, 4108, p. 121-125.
- PROVASOLI L., MAC LAUGHLIN J.J.A., DROOP M.R. -1957- The development of artificial media for marine algae. Archiv. Mikrobiol., 25, p. 392-428.
- REDFIELD A.C. -1934- On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. p. 176-192, in : James Johnstone memorial volume, Liverpool.
- ROELS O.A., LAURENCE S., FARMER M.W., VAN HEMELRYCK L. -1976- Organic production potential of artificial upwelling marine culture. p. 69-81, in : Microbial energy conversion, ed. by SCHLEGEL H.G. and BARNEA J., Goltze E.K.G., publish., Göttingen.
- RYTHER J.H., DUNSTAN W.M., TENORE K.R., HUGUENIN J.E. -1972- Controlled eutrophication. Increasing food production from the sea by recycling human waste. Bioscience, 22, 3, p. 144-152.
- UKELES R. -1975- Views on bivalve larvae nutrition. Proceed. first internat. conf. on aquaculture nutrition, october 1975, p. 127-162.
- VICENTE N. Conditions de production du phytoplancton et de son utilisation par des bivalves filtreurs dans les salines de l'île des Embiez (Var, France). Colloque Ecotron, Brest, 3-6 juillet 1978.
- WALNE P.R. -1970- Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera Ostrea, Crassostrea, Mercenaria and Mytilus. Minist. Agric. Fish Food ; Fish investigation 2 (G.B.), 26, 5, p. 62.

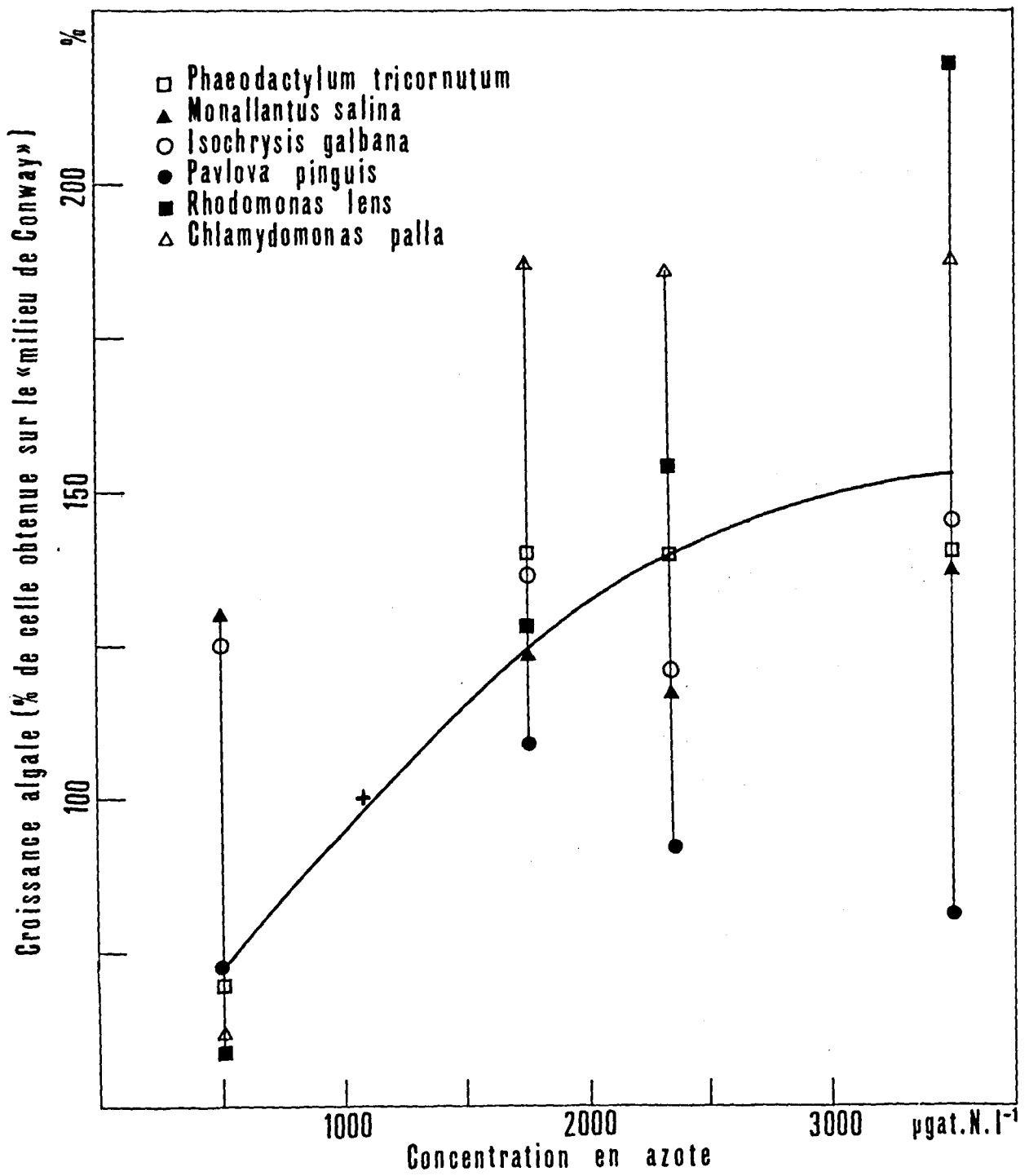


FIGURE 1

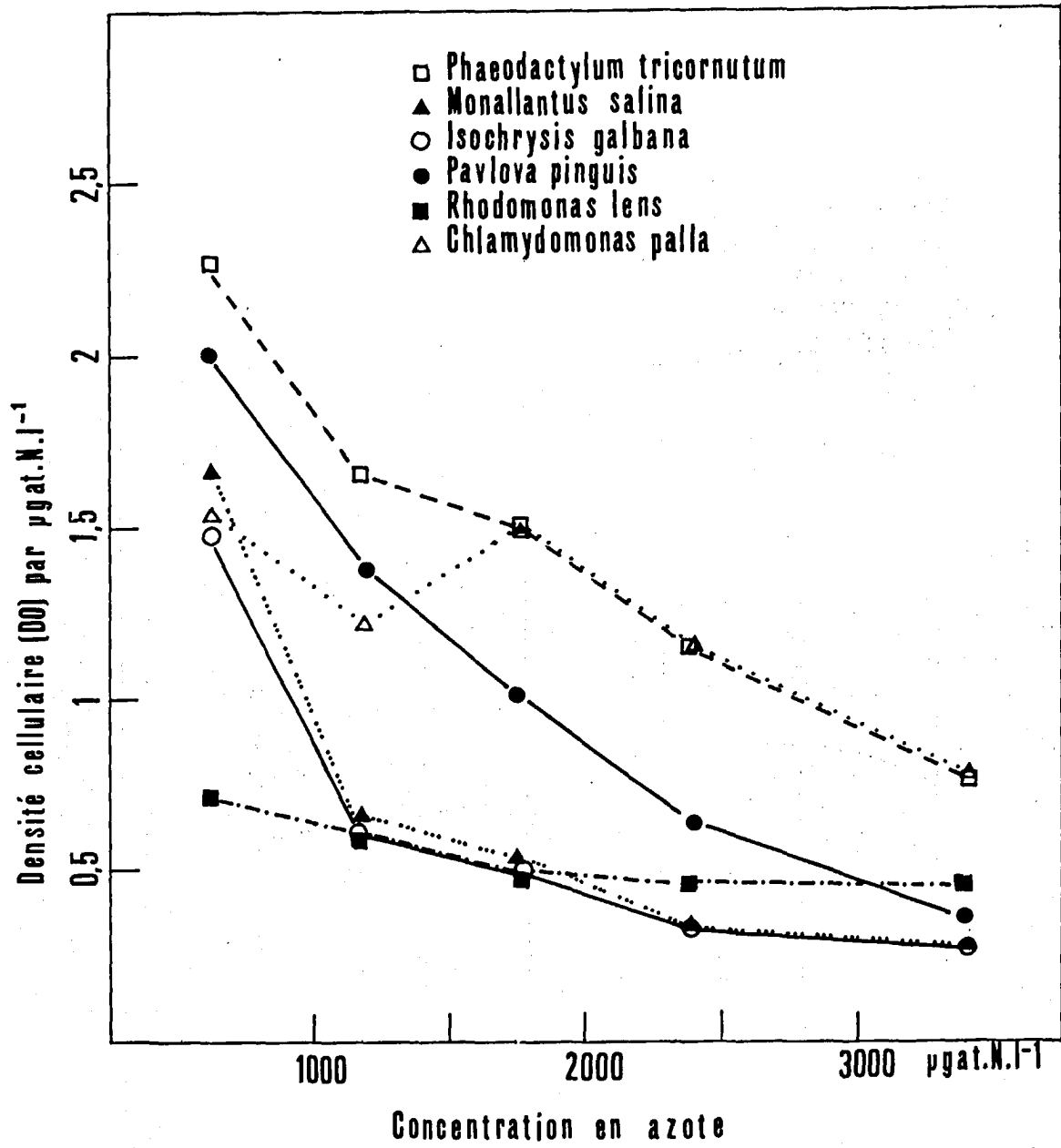


FIGURE 2

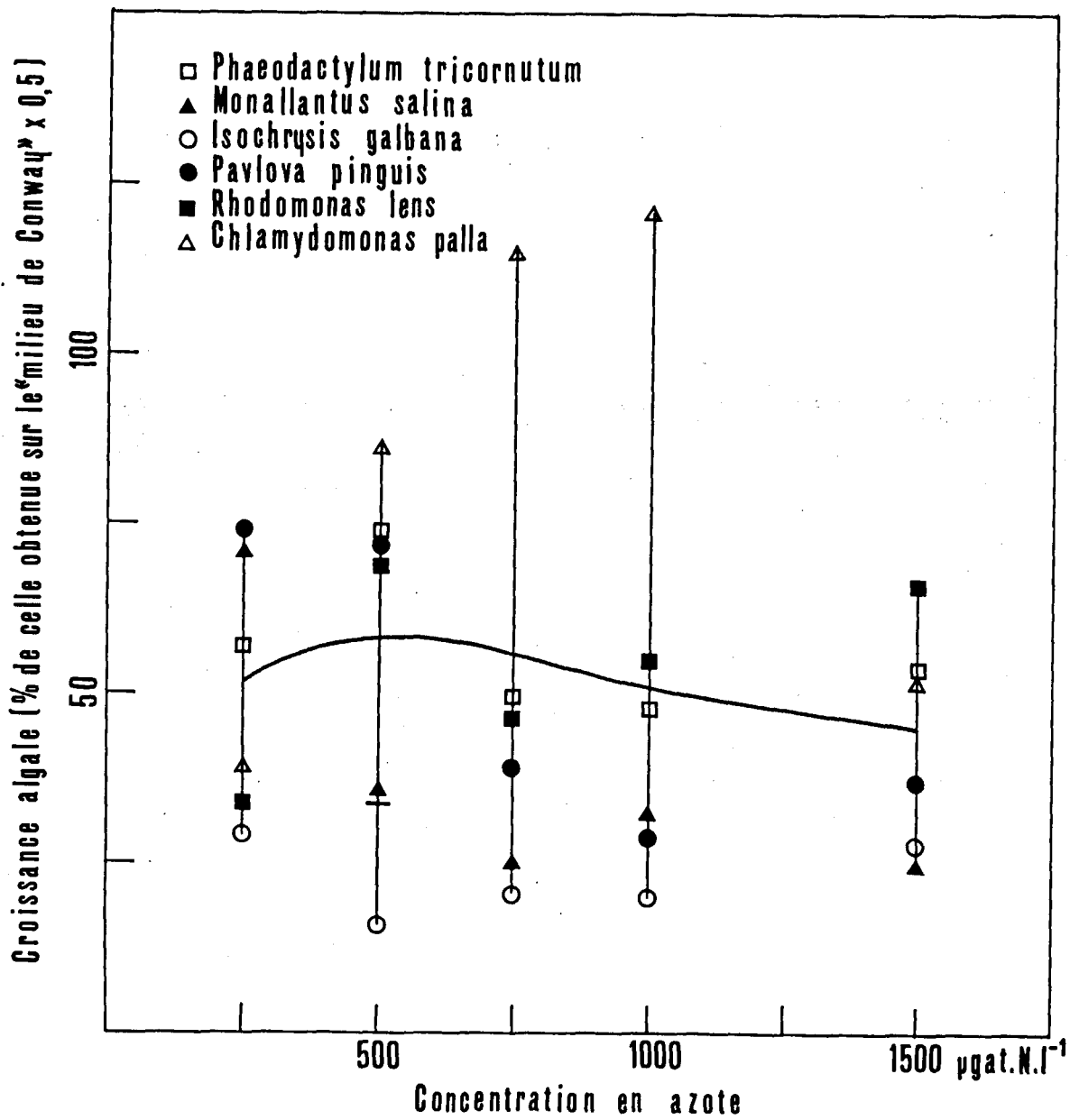


FIGURE 3

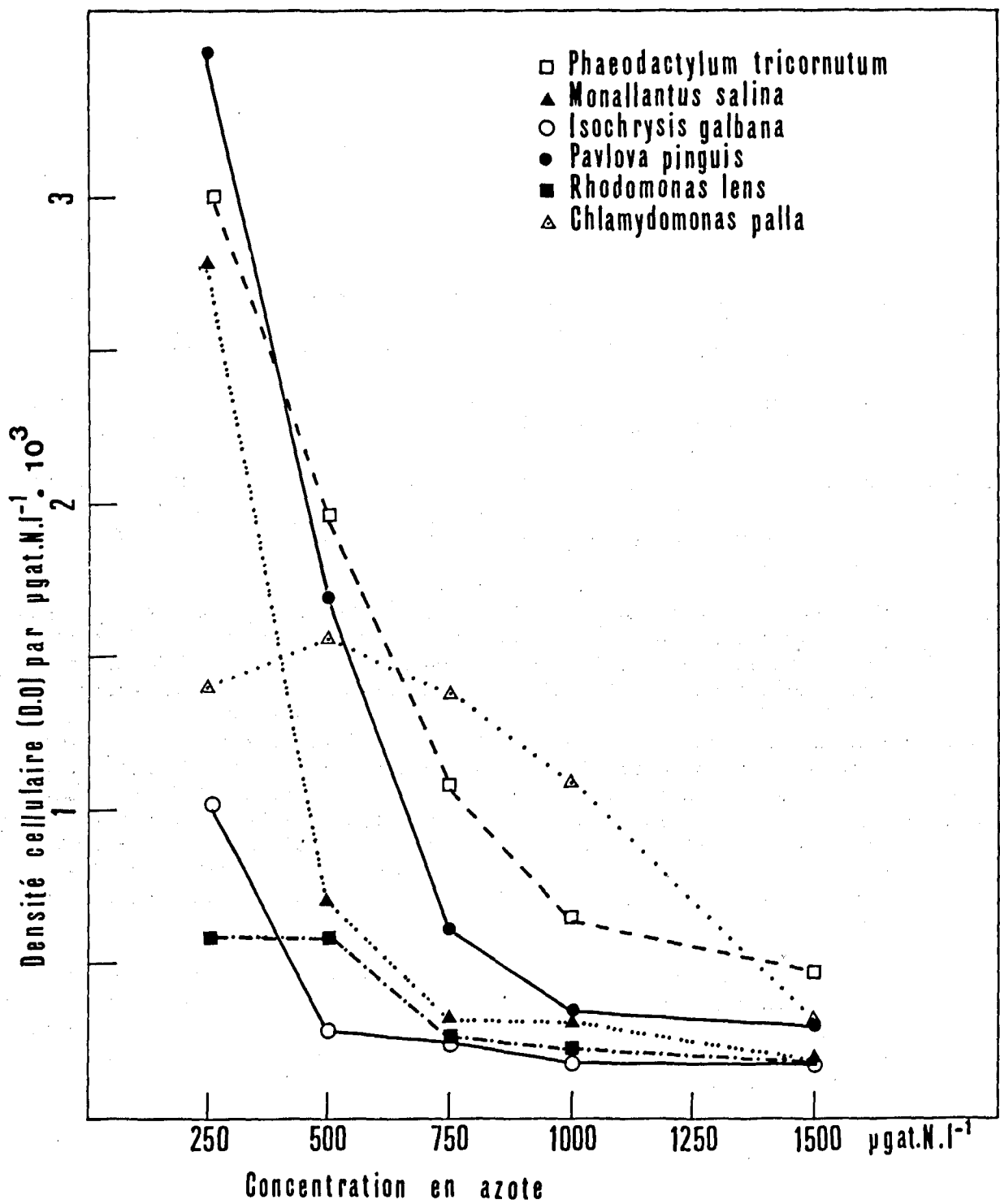


FIGURE 4

Communication : O. GUERIN-ANCEY, S. MAESTRINI & L. BEKER. Utilisation d'engrais agricoles comme source de nutrilités pour la culture massive de quelques algues marines.

Q: JACQUES : Pourquoi n'y-a-t-il jamais de silice dans vos milieux d'enrichissement?

R: MAESTRINI : Il est très difficile d'ajouter de la silice en utilisant des produits industriels. La silice n'est pas un facteur très limitant pour des espèces comme Phaedactylum.

Q: : Les ammonitrates provenant d'engrais terrestres se dissolvent-ils bien dans les milieux ?

R: MAESTRINI : Il y a un problème de solubilité car il reste des excipients. Je n'ai pas utilisé l'eau de la Méditerranée car elle est impropre aux cultures. J'ai reconstitué l'eau de mer avec du sel de Guérande.

Q: DUFOUR : Vos cultures sont-elles abactériennes ? Si non, prenez-vous en compte la croissance des bactéries dans les mesures de densité optique ?

R: MAESTRINI : Les cultures ne sont pas axéniques. Les lectures de densité optique sont faites à une longueur d'onde de 600 nm et les bactéries n'ont pas une concentration suffisante pour avoir une influence sur les lectures de densité optique.

Q: DUFOUR : N'y-a-t-il pas une habitude nutritive des algues en fonction de leur passé nutritif ? Les algues sont généralement cultivées à de hautes concentrations en nutrilités. Ne réagissent-elles pas faiblement quand on les teste à de faibles concentrations en sels minéraux ?

R: MAESTRINI : Les algues sont cultivées dans le même milieu. Les différents rendements peuvent dépendre de la cinétique de croissance. En fait il y a deux approches possibles. Ou bien l'on veut obtenir l'algue au maximum de son rendement pour des considérations expérimentales. A ce moment là on équilibre les concentrations de manière à obtenir le Km. Ou bien l'on veut produire les algues en grande quantité et il est indifférent de savoir si l'algue est au maximum de son rendement si le prix de revient de ce qu'on y ajoute est économique.

Q: NIVAL : D'après les travaux de Guillard sur Skeletonema costatum provenant des Bermudes ou de la côte est des Etats-Unis, les différentes valeurs de croissance maximum et les valeurs de Km étaient différentes entre les deux souches. N'y aurait-il pas une adaptation aux milieux de culture très riches ?

R: MAESTRINI : Il semble qu'il y ait une différence de comportement des souches suivant leur origine. Il y aurait des races physiologiques.

Q: DUFOUR : N'envisagez-vous pas de travailler dans des volumes plus importants? Cela permettrait, peut-être, d'éviter les sous-saturations en oxygène ou la limitation du carbone disponible.

R: MAESTRINI : J'ai fait des expériences dans des volumes de 15 à 20 l et je n'obtiens pas tout à fait la même chose. Le but de l'expérience était d'établir la composition d'un produit qu'il suffirait d'ajouter en entier pour obtenir un bon milieu de culture. Le problème de l'échelle de taille n'intervient qu'en deuxième lieu.