



CENTRE NATIONAL POUR L'EXPLOITATION DES OCEANS - C N E X O

PRODUCTION CONTROLEE
DES ALGUES MONOCELLULAIRES
AU CENTRE OCEANOLOGIQUE
DU PACIFIQUE

par Y. NORMANT

CENTRE OCEANOLOGIQUE
DU PACIFIQUE

B.P. 7004 TARAVAO
TAHITI - POLYNESIE FRANCAISE
TEL: 7 12 74 VAIRAO
TELEX: OCEANEX 094 FP

CENTRE NATIONAL POUR L'EXPLOITATION
DES OCEANS
DELEGATION DU CNEOX POUR L'OCEAN PACIFIQUE
CENTRE OCEANOLOGIQUE DU PACIFIQUE

VAIRAO, le 8 septembre 1978

COP/1/AQ 78.201

PRODUCTION CONTROLEE
DES ALGUES MONOCELLULAIRES
AU CENTRE OCEANOLOGIQUE
DU PACIFIQUE

par Y. NORMANT

S O M M A I R E

INTRODUCTION

I - DESCRIPTION DES SALLES

- 1 - Disposition
- 2 - Thermorégulation
- 3 - Eclairage artificiel
- 4 - Réseau eau de mer
- 5 - Réseau d'air
- 6 - Matériel divers

II - VOLUMES DES CULTURES

- 1 - Petite verrerie
- 2 - Ballons réacteurs de 20 litres
 - Améliorations
- 3 - Cuves cylindroconiques de 100 litres
 - Améliorations
- 4 - Cuves rectangulaires de 300 litres

III - MILIEUX DE CULTURES

- 1 - Milieu de Conway (Walne, 1966)
- 2 - Milieu pour diatomées
- 3 - Mise au point d'une nouvelle solution de sels

IV - NOMENCLATURE DES ALGUES CULTIVEES

- 1 - Dans la salle à 25°
- 2 - Dans la salle à 20°

V - TECHNIQUE D'ISOLEMENT ET DE CULTURES DES SOUCHES

- 1 - Milieu gélosé
- 2 - Milieu liquide

VI - METHODOLOGIE DE PRODUCTION

- 1 - Erlenmeyer de 250 ml
- 2 - Erlenmeyer de 5 litres
- 3 - Ballon ou cuve cylindroconique de 20 litres
- 4 - Cuve cylindroconique de 200 litres
- 5 - Précautions générales
- 6 - Récapitulatif des opérations

VII - TECHNIQUE PARTICULIERE POUR LES DIATOMEES

- 1 - Culture de la souche en salinité 23 o/oo
- 2 - Brassage et intensité lumineuse
 - a) Brassage
 - b) Intensité lumineuse
- 3 - Aspect des cultures dans le temps
- 4 - Culture en volume de 200 et 300 litres
 - a) Cuve cylindroconique de 200 litres
 - b) Cuve rectangulaire de 300 litres
- 5 - Sels nutritifs

VIII - CENTRIFUGATION ET CONGELATION DES ALGUES

- 1 - Description de l'appareil
- 2 - Fonctionnement
- 3 - Congélation

IX - RESULTATS

- 1 - Concentration des cultures
- 2 - Production journalière
- 3 - Production maximale

X - CONCLUSION

INTRODUCTION

Les algues monocellulaires utilisées comme nourriture par les larves de bivalves et de Pénéides doivent répondre à plusieurs critères et principalement : multiplication rapide, tailles assez petites pour être ingérées, cultures ne formant pas d'amas.

Ce présent rapport décrit l'unité de production contrôlée d'algues au Centre Océanologique du Pacifique, la méthodologie appliquée pour les différentes algues, les nouveaux milieux mis au point.

I - DESCRIPTION DES SALLES

1 - Disposition

L'unité de production est composée de deux salles attenantes et d'un petit local réservé aux souches. La superficie de l'ensemble est de 45 m². La première salle est maintenue à 25° (algues locales), la deuxième à 20° (algues de pays tempérés). La salle à 25° est équipée d'une paillasse et d'un bac recevant de l'eau chaude (55°). Leur aménagement est identique en ce qui concerne l'éclairage artificiel, la thermorégulation et les réseaux air et eau de mer.

2 - Thermorégulation des salles

La régulation de la température est assurée par deux ventilo-convecteurs à l'intérieur desquels circule l'eau glacée provenant d'un groupe frigorifique.

Un thermostat commande ces appareils qui maintiennent une température constante dans chaque salle.

Deux climatiseurs de secours à démarrage manuel sont installés dans la salle à 20°.

Le local souche est doté d'un climatiseur à déclenchement automatique.

Les deux salles sont pourvues d'un dispositif de sécurité éteignant les lumières en cas de panne de la thermorégulation.

3 - Eclairage artificiel

Les cultures sont réalisées sous éclairage artificiel produit par 52 tubes fluorescents de 40 watts. La lumière émise est du type "lumière de jour" et son intensité de 2 600 lux.

Les ballasts sont placés à l'extérieur des salles.

Des expériences réalisées en utilisant des spectres lumineux différents ont montré que les tubes "lumière de jour" donnaient de meilleurs résultats que les "GROLUX" précédemment utilisés et non commercialisés sur le Territoire.

4 - Réseau eau de mer

L'eau de mer traverse une série de 4 filtres à porosité décroissante (25, 10, 5 et 1 microns) avant d'être distribuée. Elle est canalisée dans un tuyau en PVC de 30 mm de diamètre. Un raccordement au circuit d'air surpressé permet la purge complète du réseau. Pour les repiquages en erlenmeyers et en ballons, l'eau de mer est filtrée sur Millipore (membrane cellulosique de 0,2 micron de porosité).

5 - Réseau d'air

L'air surpressé a un débit maximum de 7 000 l/heure. Un capteur d'humidité limite les apports d'eau douce dans les cultures. Le gaz carbonique est introduit dans le circuit à raison de 0,5 l par minute. Le mélange gazeux est injecté dans les cultures au moyen des tubes de verre de 8 mm de diamètre.

6 - Matériel divers

- 1 générateur de vapeur
- 2 pompes péristastiques
- 1 centrifugeuse décanteuse ROBATEL
- 1 autoclave de 100 litres
- 1 microscope

II - VOLUMES DE CULTURES

1 - Petite verrerie

Les tubes à essais et les erlenmeyers de 250 ml sont bouchés au coton cardé recouvert d'une feuille d'aluminium.

Les erlenmeyers de 5 litres sont munis d'un bouchon en caoutchouc traversé par un tube de verre de 8 mm de diamètre.

Toute cette verrerie est stérilisée.

2 - Ballons réacteurs de 20 litres

Les ballons PYREX à col large sont fermés par un couvercle en verre

comportant 4 orifices. Les 2 orifices du couvercle laissent passer 2 tubes de verre bouchés au coton cardé. L'un sert à l'arrivée de l'air surpressé, l'autre à son évacuation. L'ensemble est démontable et stérilisé à l'autoclave (25 mm à 125°) avant emploi.

Amélioration

Les ballons de 20 litres sont remplacés par des cuves cylindroconiques de même volume dont le cône présente une pente de 60° par rapport à l'horizontale.

Les bacs sont de réalisation récente et expérimentés sur 3 espèces d'algues (Tetraselmis tetraathele, Isochrysis sp. et Skeletonema costatum).

Caractéristiques : hauteur 60 cm, diamètre 25 cm, hauteur du cône 20 cm. Matériau : feuille scobalit de 1 mm d'épaisseur.

Le bac est entouré de 2 collerettes en bois distantes de 30 cm où se fixent 3 pieds en PVC pour soutenir l'ensemble. Leur manipulation et leur lavage sont aisés. La stérilisation du bac s'effectue à l'eau chaude javalisée puis à la vapeur.

Prix de revient du ballon et du couvercle : 1 550 FF. Prix de revient de la cuve réalisée au GOP : 66 FF.

Les cultures expérimentées dans ces cuves présentent une vitesse de croissance analogue à celles obtenues dans les ballons.

3 - Cuves cylindroconiques de 100 litres

- Hauteur : 125 cm
- Diamètre : 35 cm
- Hauteur du cône : 15 cm
- Capacité totale : 110 litres
- Matériau : feuille scobalit de 1 mm d'épaisseur
- Nombre de bacs par salle : 7

Les cuves reposent sur un support de 40 cm de haut. Un tuyau traverse le couvercle de bois et assure le bullage des cultures.

Les bacs sont espacés de 15 cm et éclairés par 4 tubes fluorescents. La culture est prélevée par siphonnage.

Amélioration

Caractéristiques des nouveaux bacs :

- nombre : 7
- hauteur : 150 cm

- diamètre : 45 cm
- hauteur du cône : 20 cm
- matériau : feuille scobalit de 1 mm d'épaisseur
- capacité totale : 215 litres

Un bouchon en caoutchouc muni d'un robinet est placé à 25 cm de la base. L'ensemble est démontable et de lavage aisé. Prix de revient : 156,75 FF.

Les prélèvements d'algues sont effectués au robinet, ce qui élimine les risques de pollutions bactériennes souvent dûs au manipulateur.

Les espaces entre cuves sont réduits au minimum. La production a été doublée sans modifier les circuits air et eau et l'installation électrique.

L'aménagement d'une plate-forme centrale avec un dispositif électrique de 28 lampes porte la capacité de production d'une salle à 2 600 litres.

Des expériences réalisées avec des cuves plus grandes n'ont pas donné de bonnes cultures. Causes : brassage insuffisant, faible pénétration de la lumière.

4 - Cuves rectangulaires de 300 litres

Caractéristiques

- nombre : 4
- longueur : 103 cm
- largeur : 80 cm
- hauteur : 60 cm

Matériau : plastique blanc de forte épaisseur (5,5 mm)

Les bacs reposent sur le sol et sont éclairés par 6 tubes fluorescents suspendus au-dessus des cultures :

- intensité lumineuse reçue par la culture : 1 000 lux
- brassage modéré des cultures
- utilisation des cuves pour les cultures de diatomées (Skeletonema costatum)

III - MILIEUX DE CULTURES

1 - Milieu de Conway (Walne, 1966)

Solution n° 1 :

- Na₂ EDTA : 45 g
- H₃ BO₃ : 33,6 g

- Na NO₃ : 100 g
- NaH₂ PO₄, 2H₂O : 20 g
- MnCl₂, 4H₂O : 0,36 g
- FeCl₃, 6H₂O : 1,3 g
- traces métal : 1 ml
- eau distillée : 1 ml
- dosage : 1 ml/1 eau de mer

Traces de métaux :

- ZnCl₂ : 2,1 g
- CoCl₂, 6H₂O : 2,0 g
- (NH₄)₆ MO O₂₄, 4H₂O : 0,9 g
- CuSO₄, 5H₂O : 2,0 g
- eau distillée : 100 ml

Hcl en quantité suffisante pour acidifier et dissoudre les sels et clarifier la solution.

Solution n° 2

- vit. B1 : 200 mg
- vit. B12 : 10 mg
- eau distillée : 100 ml

Soit pour 1 litre d'eau de mer : 1 ml de solution n° 1 et 0,1 ml de solution n° 2.

Modification

Le Na NO₃ de la solution n° 1 est remplacé par du KNO₃ qui améliore sensiblement la vitesse de croissance des algues.

2 - Milieu pour diatomées

Les milieux utilisés pour les cultures de diatomées sont nombreux, complexes et très différents les uns des autres.

Un milieu simplifié a été expérimenté sur deux diatomées et a donné entièrement satisfaction pour la croissance des algues.

Composition du milieu

Solution n° 1 : le milieu de Conway (Walne) : modifié (KNO₃)

Solution n° 2 : KNO₃ = 150 g par litre d'eau distillée

Solution n° 3 : $\text{Na}_2 \text{SiO}_3 = 40 \text{ g}$ par litre d'eau distillée

Solution n° 4 : complexe vitaminique Polymicrine = 12,5 ml par litre d'eau distillée

Composition pour 100 ml :

- vitamine A : 6 000 000 UI
- vitamine D : 600 mg
- vitamine K : 120 mg
- vitamine B1 : 600 mg
- vitamine B2 : 360 mg
- vitamine B3 : 600 mg
- vitamine B6 : 300 mg
- vitamine B12 : 600 mg
- vitamine PP : 1 800 mg
- méthionine : 600 mg

Dosage : 1 ml/l d'eau de mer pour les 3 premières solutions et 0,1 ml/l d'eau de mer pour la 4ème.

3 - Mise au point d'une nouvelle solution de sels nutritifs

La production journalière de 1 500 litres d'algues représente une consommation de 1,5 litre de Conway soit 45 l/mois.

Le milieu est composé de 10 produits chimiques dont les principaux sont les nitrates, les phosphates, l'acide de EDTA et l'acide borique.

Trois solutions de sels ont été testées sur Tetraselmis tetraathele pour tenter d'obtenir des résultats semblables à ceux du témoin Conway.

Sels nutritifs utilisés pour l'expérience : $\text{KNO}_3 - \text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2 - \text{CaPO}_4$.

Methodologie appliquée aux expériences

- dissolution des sels à différentes concentrations
- absence de vitamines sauf dans le témoin
- inoculum de 15 litres par bac
- volume des cultures : 100 litres
- comptage journalier des algues à la cellule de Malassez

Expérience n° 1

	1	2	3	4	5	CONWAY
SO ₄ (NH ₄) ₂	200 mg/l	150 mg/l	100 mg/l	50 mg/l	0	
KNO ₃	0	50 mg/l	100 mg/l	150 mg/l	200 mg/l	
Ca PO ₄	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	
(C) x 10 ⁶ J1	0,137	0,129	0,158	0,144	0,157	0,158
" J2	0,338	0,367	0,308	0,315	0,308	0,273
" J3	0,622	0,742	0,595	0,530	0,648	0,433
" J4	0,918	0,948	0,843	0,569	0,891	0,513
" J5	1,06	1,12	0,907	0,797	1,09	0,734

Expérience n° 2

						CONWAY
SO ₄ (NH ₃) ₂	100 mg/l	75 mg/l	50 mg/l	25 mg/l	0 mg/l	
KNO ₃	0 mg/l	25 mg/l	50 mg/l	75 mg/l	100 mg/l	
Ca PO ₄	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	
(C) x 10 ⁶ J1	0,120	0,109	0,126	0,189	0,137	0,160
" J2	0,227	0,297	0,263	0,363	0,265	0,267
" J3	0,504	0,630	0,670	0,584	0,660	0,574
" J4	0,646	0,967	0,867 ⁷	0,866	0,853	0,806
" J5	0,880	1,12	1,18	0,96	1,02	1,14

Expérience n° 3

						CONWAY
SO ₄ (NH ₄) ₂	50 mg/l	37,5 mg/l	25 mg/l	12,5 mg/l	0 mg/l	
KNO ₃	0 mg/l	12,5 mg/l	25 mg/l	37,5 mg/l	50 mg/l	
Ca PO ₄	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l	
(C)x10 ⁶ J1	0,170	0,170	0,160	0,200	0,200	0,180
" J2	0,290	0,280	0,360	0,340	0,324	0,326
" J3	0,592	0,560	0,676	0,520	0,550	0,700
" J4	0,790	0,810	0,820	0,970	0,710	0,770
" J5						

Expérience n° 4

SO ₄ (NH ₄) ₂	25 mg/l	25 mg/l	25 mg/l	25 mg/l
KNO ₃	25 mg/l	25 mg/l	25 mg/l	25 mg/l
Ca PO ₄	40 mg/l	30 mg/l	10 mg/l	5 mg/l
(C)x10 ⁶ J1	0,190	0,180	0,180	0,180
" J2	0,313	0,373	0,406	0,360
" J3	0,447	0,629	0,691	0,595
" J4	0,566	0,814	0,855	0,709

Expérience n° 2

1,5
Nombre d'algues en millions par ml

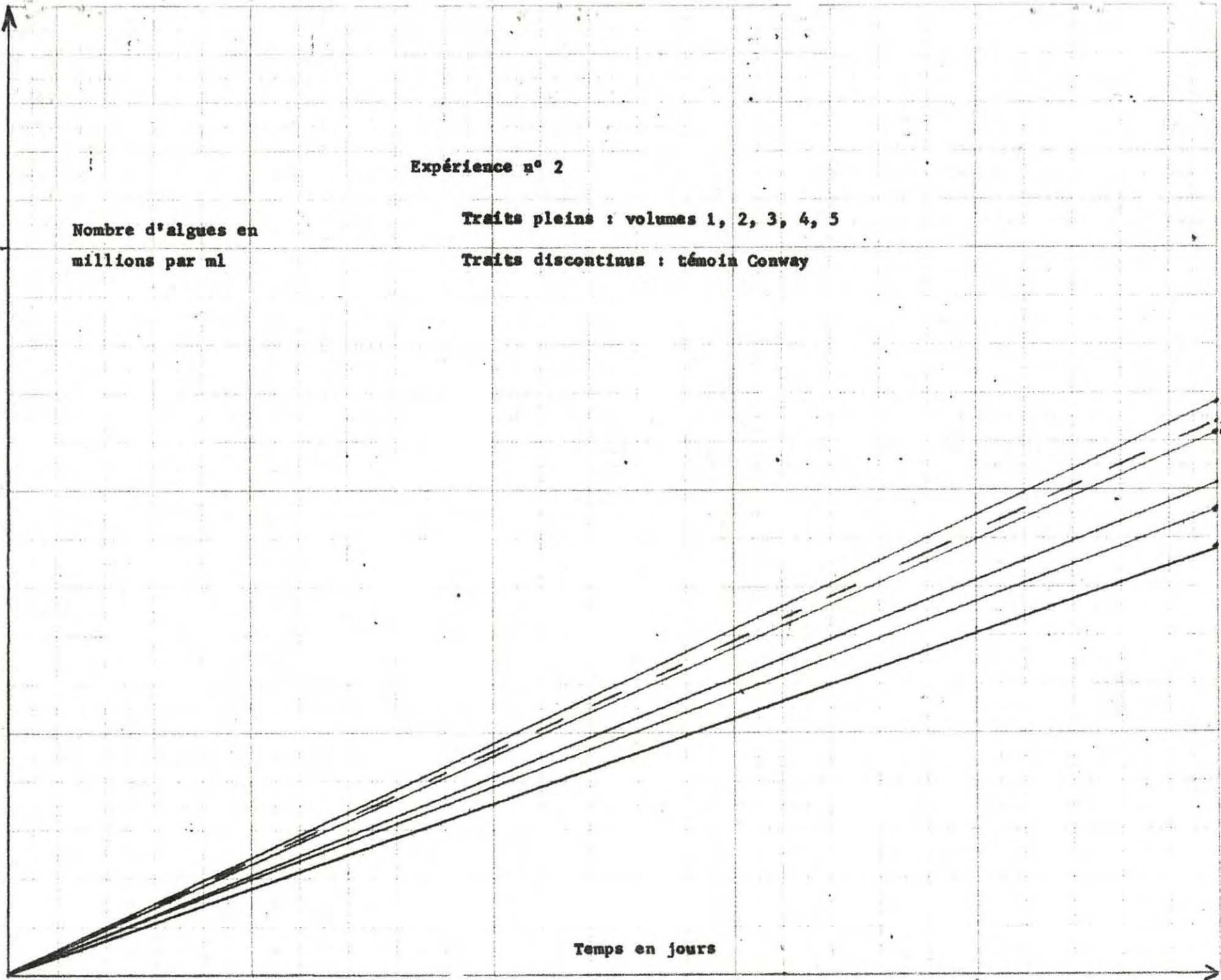
Traits pleins : volumes 1, 2, 3, 4, 5

Traits discontinus : témoin Conway

1

0,5

Temps en jours



Expérience n° 3

Traits pleins : volumes 1, 2, 3, 4, 5

Traits discontinus : témoin Conway

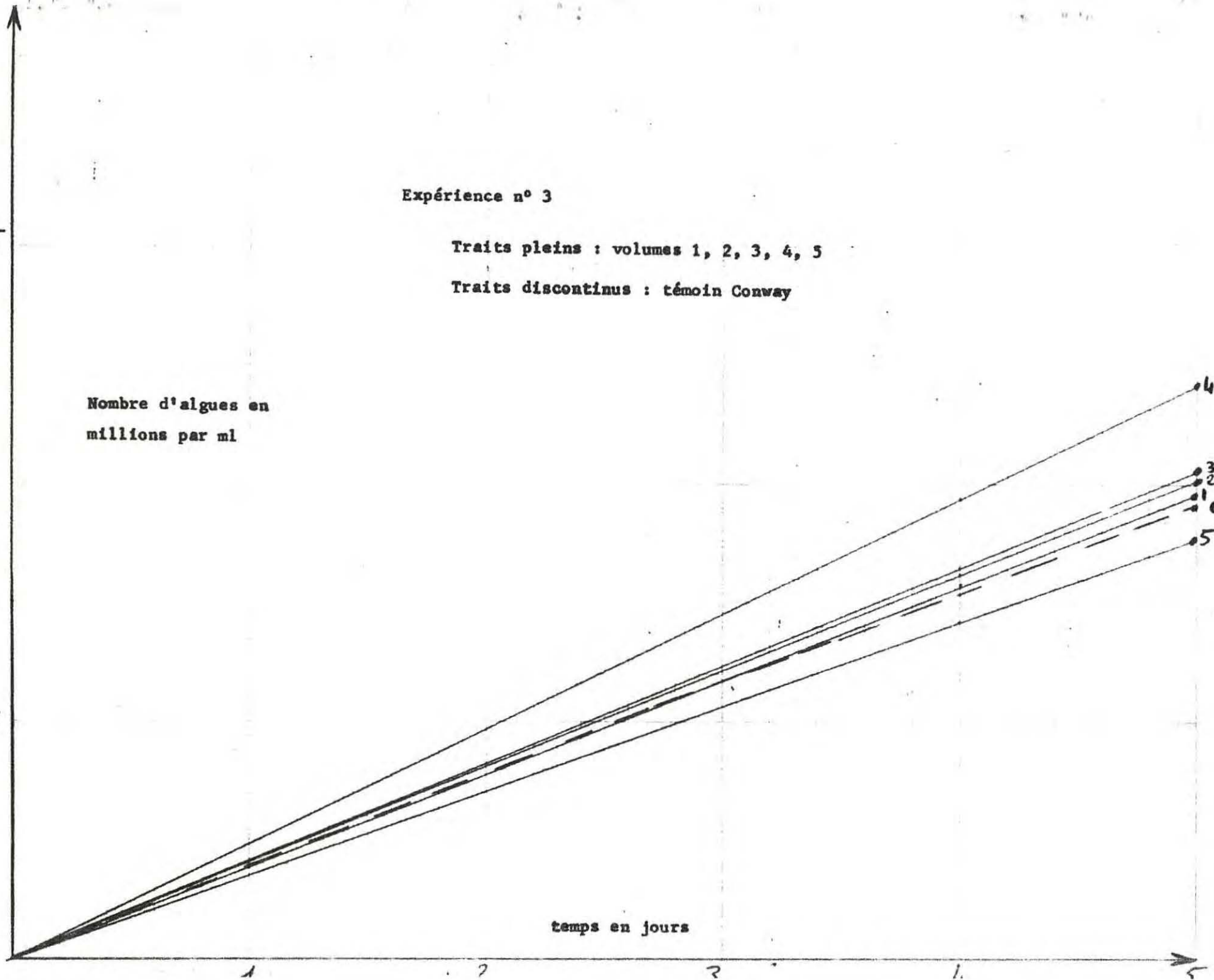
Nombre d'algues en millions par ml

1,5

1

0,5

temps en jours



Expérience n° 4

Traits pleins : volumes 1, 2, 3, 4

1,5

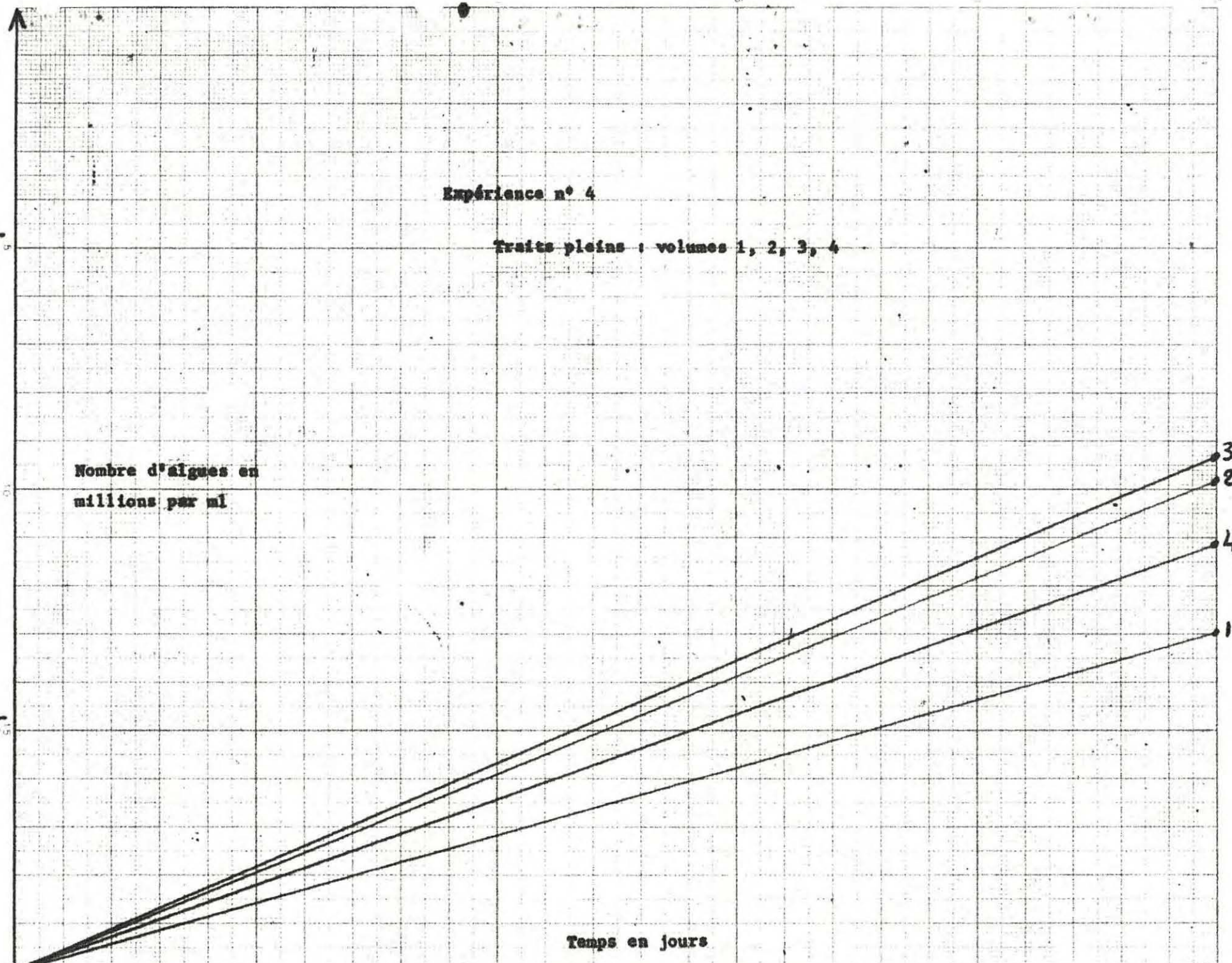
1

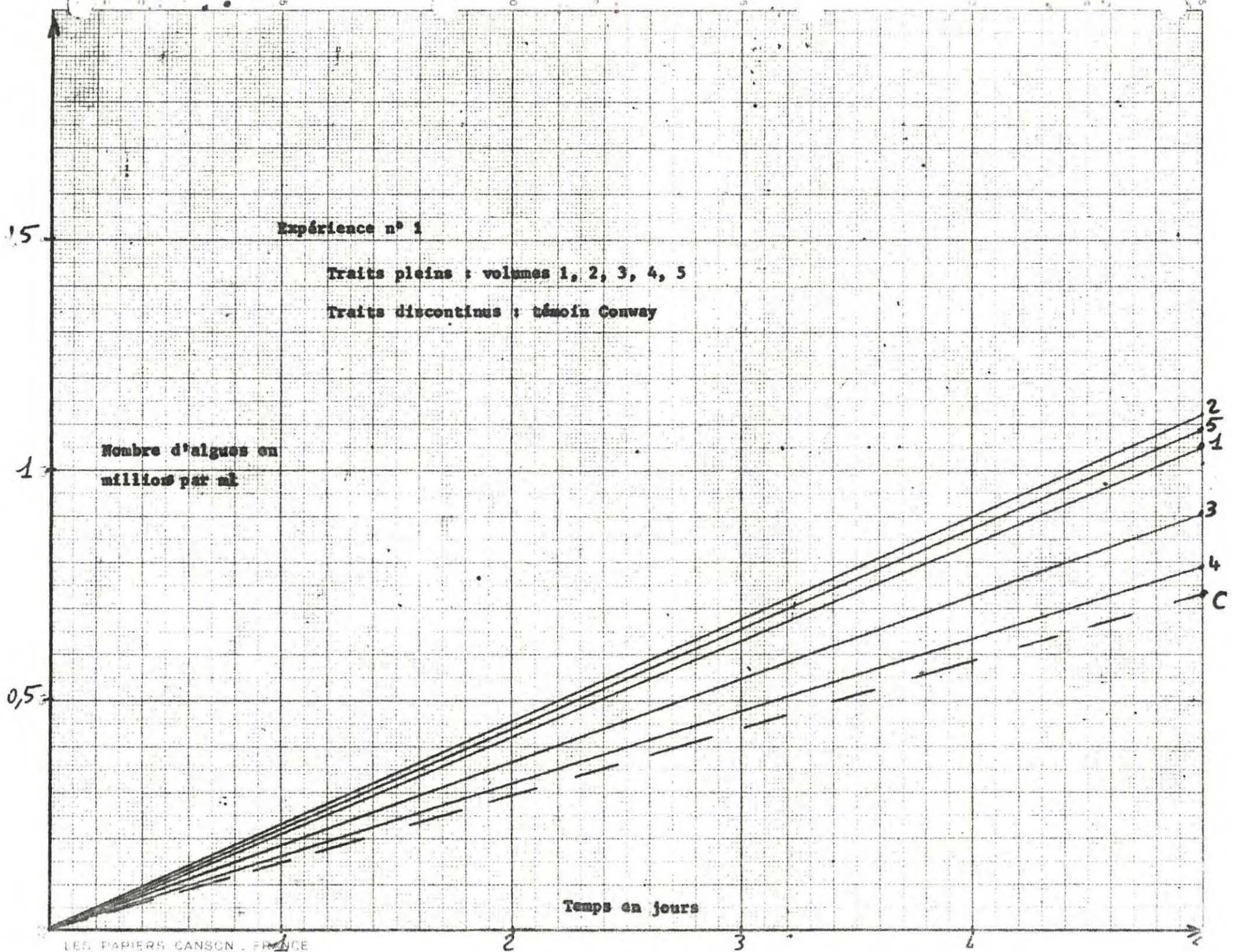
0,5

Nombre d'algues en millions par ml

Temps en jours

LES PAPIERS GANSON - FRANCE 2 3 4





A la suite des différents résultats, les solutions suivantes sont retenues :

- KNO₃ : 50 mg/l d'eau de mer
- SO₄ (NH₄)₂ : 50 mg/l d'eau de mer
- Ca PO₄ : 20 mg/l d'eau de mer
- soit : 120 mg de sels par litre d'eau de mer

Par contre, la solution de Conway utilise 200 mg de sels par litre d'eau de mer en ne tenant compte que des 4 sels principaux.

De préparation simple et d'un coût moins élevé, cette nouvelle solution satisfait pleinement la croissance des algues monocellulaires et celle des diatomées (elle remplace alors la solution n° 1) en volumes de 100, 200 et 300 litres.

IV - NOMENCLATURE DES ALGUES CULTIVEES

Les algues cultivées pour les besoins des différents élevages larvaires et post-larvaires sont :

1 - Dans la salle à 25°

- 3 espèces isolées localement : Tetraselmis tetrathele, Isochrysis sp. et Chlorella sp.
- 1 espèce Tchadienne : Spirulina platensis

2 - Dans la salle à 20°

- Tetraselmis suesica, Monochrysis lutheri
- Cylindrotheca, Skeletonema costatum
- Chaetoceros calcitrans, Cyclotella Nana

V - TECHNIQUE D'ISOLEMENT ET DE CULTURES DES SOUCHES

1 - Milieu gélosé

Les cultures sur gélose sont réalisées dans différents laboratoires depuis de nombreuses années et notamment au COB depuis le 21.01.1975.

Cette technique a été appliquée au COP en septembre 1976 et utilisée pour les souches locales et européennes.

Les colonies d'algues ont un développement lent à la surface des géloses et se conservent très longtemps. Les repiquages hebdomadaires ne sont plus nécessaires. Les contaminations bactériennes sont très limitées.

- Préparation de la gélose

- eau de mer enrichie en Conway : 1 l
- agar-agar 9 g
- mélanger et chauffer au bain marie
- répartir 10 ml par tubes
- stériliser à l'autoclave (125°)
- incliner les tubes
- laisser refroidir la gélose
- conserver les tubes au réfrigérateur

- Ensemencement des géloses

- travailler près d'une flamme
- prélever une goutte de culture au moyen d'une oëse de platine
- ensemercer la gélose en balayant sa surface avec la goutte

La culture se développe en 15 ou 20 jours et se conserve plusieurs mois voire même une année sans ouvrir le tube.

Une culture axénique de la souche se réalise en faisant des repiquages successifs de gélose à gélose.

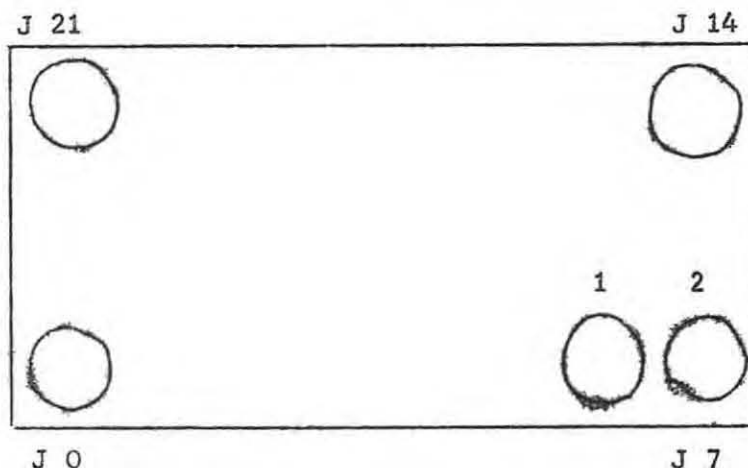
Les souches cultivées sur gélose et présentant des colonies bien séparées sont : Tetraselmis tetrathele, Tetraselmis suesica, Isochrysis sp., Cylindrotheca, Chlorella sp., Skeletonema costatum, Cyclotella Nana, Chaetoceros calcitrans.

Les spirulines ont une forme envahissante.

2 - Milieu liquide

Chaque fin de semaine, les repiquages sont réalisées de la manière suivante :

- placer le portoir près de la flamme
- introduire quelques ml du tube J 7 (7 jours de culture) dans les tubes contenant l'eau de mer stérile mais enrichie
- éviter de poser le bouchon du tube sur la pailleasse
- éliminer le tube J 21 (21 jours de culture)



VI - METHODOLOGIE DE LA PRODUCTION

1 - Erlenmeyer de 250 ml

- Stériliser 2 litres d'eau de mer
- Additionner 2 ml de Conway et 0,2 ml de vitamines
- Verser 150 ml dans chaque erlenmeyer
- Prélever quelques ml du tube J 7 n° 2
- Ensemencer 3 ou 4 erlenmeyers
- Stocker les erlens dans le local à souches

2 - Erlenmeyer de 5 litres

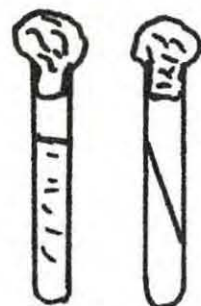
Ces erlenmeyers contiennent 3 litres d'eau filtrée à 0,22 micron enrichie en sels nutritifs et en vitamines.

- Verser la culture de l'erlenmeyer de 250 ml présentant un inoculat suffisamment dense
- Brancher l'arrivée d'air
- Régler le brassage de la culture au moyen d'une petite pince à lames parallèles

3 - Ballon ou cuve cylindroconique de 20 litres

- Verser 15 litres d'eau de mer filtrée à 0,22 micron et enrichie en sels et vitamines
- Ajouter la totalité de la culture contenue dans l'erlen de 5 litres
- Brancher et régler le bullage

REGAPITULATIF DES OPERATIONS



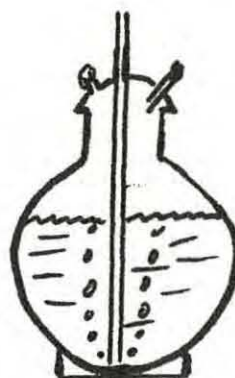
7 jours



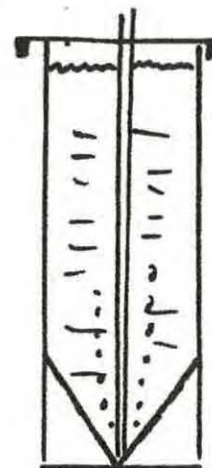
150 ml
4 jours



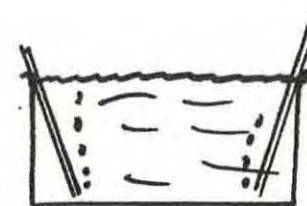
5 l
4 jours



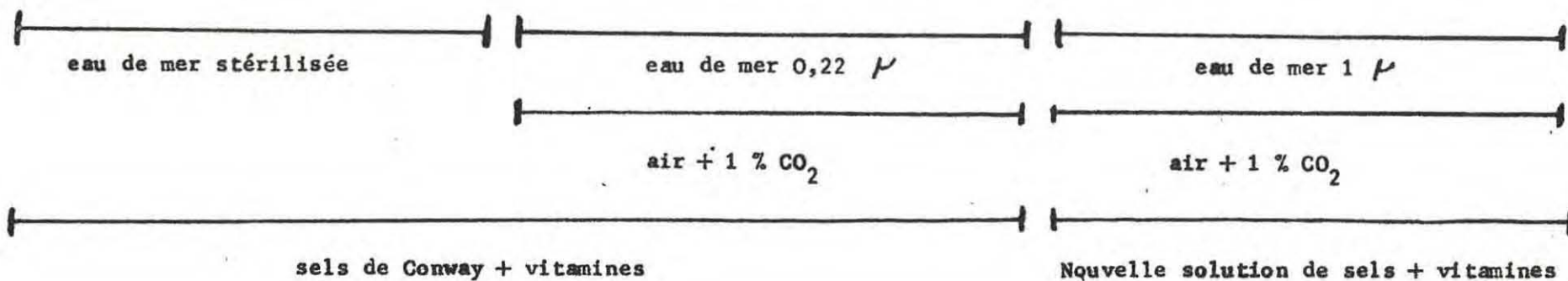
20 l
4 jours



200 l
4 jours



300 l
4 jours



La densité algale à l'ensemencement est de $0,2 \cdot 10^6$ /cellules/ml.
Elle atteint $1,5 \cdot 10^6$ cellules/ml en 4 jours.

4 - Cuve cylindroconique de 200 litres ou rectangulaire de 300 litres

- Verser la totalité de la culture du ballon
- Remplir la cuve avec de l'eau de mer filtrée à 1 micron
- Ajouter les sels nutritifs (200 ml) et les vitamines (20 ml)
- Ouvrir et brancher l'aération
- Temps d'utilisation d'une cuve : 5 jours

Fréquence de travail pour un 200 litres :

- 3 jours de croissance
- 2 jours de prélèvements

5 - Précautions générales

Différents facteurs interviennent dans la maîtrise des cultures d'algues. Le premier et sans doute le plus important est la propreté des salles qui sont lavées quotidiennement à l'eau chaude javalisée. Le deuxième concerne la propreté du matériel et les précautions prises par le manipulateur.

Opérations à respecter :

- purger le circuit d'eau de mer en fin de journée et le rincer à l'eau chaude chaque fin de semaine
- changer les cartouches filtrantes régulièrement
- stériliser le support de filtre Millipore
- changer les membranes filtrantes chaque semaine
- laver les bidons de 50 litres à l'eau chaude et les stériliser à la vapeur
- ajouter les solutions de sels et de vitamines à la mise en service des bidons
- laver et maintenir la petite tuyauterie souple dans un bain d'hypochlorite
- stériliser toute la verrerie
- laver les volumes en scobalit à l'eau de javel
- entretenir les souches régulièrement
- interdire l'accès des salles aux personnes non concernées

6 - Récapitulatif des opérations

Toutes les opérations décrites sont exécutées systématiquement. Une attention toute particulière est accordée aux repiquages et ensemencements.

VII - TECHNIQUE PARTICULIERE POUR LES DIATOMEES

Les diatomées provenant de Galveston (U.S.A.) et élevées suivant la technique américaine n'ont pu être expérimentées à grande échelle.

Actuellement, les diatomées fournies par la SATMAR en septembre 1977 sont cultivées en routine.

La solution de plusieurs problèmes ont été déterminants pour élever ces 3 espèces en milieu tropical.

1 - Culture de la souche en salinité à 28 o/oo

Les diatomées se développent bien en eau saumâtre. La salinité recherchée pour obtenir une bonne culture est de 28 o/oo, soit 600 ml d'eau de mer pour 300 ml d'eau distillée. Cette salinité favorise la croissance des algues en petits volumes. Elle est maintenue jusqu'aux ballons de 20 litres.

2 - Brassage et intensité lumineuse

La diatomée Skeletonema costatum se présente en chaînes de 8 à 10 éléments facilement dissociables. Un fort bullage fait mousser la culture et la détruit en 12 heures.

a) Brassage

Un léger brassage suffit pour la remise en suspension des chaînes et pour éviter la formation d'amas.

b) Intensité lumineuse

Une forte intensité lumineuse ne donne pas une bonne culture. L'intensité utilisée est de 1 500 lux.

3 - Aspect des cultures dans le temps

Les cultures de Skeletonema atteignent leur plateau de croissance en 4 jours et il est en général impossible de les maintenir en bon état au-delà de 6 jours car elles floculent et s'éclaircissent en quelques heures.

Avec une concentration de départ à $1 \cdot 10^5$ cellules/ml, une bonne culture atteint $3 \cdot 10^6$ cellules/ml en 3 jours.

4 - Culture en volume de 200 et 300 litres

a) Culture en cuves cylindroconiques de 200 litres

- Inoculum : ballon de 20 litres

- Concentration de départ : $1 \cdot 10^5$ cellules/ml
- Prélèvements : le 3ème et 4ème jour (C) 3 à $4 \cdot 10^6$ cellules/ml
- Chaînes de diatomées formées de 4 à 6 éléments

b) Cuves rectangulaires de 300 litres

- Inoculum : ballon de 20 litres
- Concentration : $1 \cdot 10^5$ cellules/ml
- Prélèvements : le 3ème et 4ème jour

Les chaînes de Skeletonema sont longues (8 à 12 éléments) et bien pleines.

5 - Sels nutritifs

Ce point ayant été développé précédemment, il suffit de rappeler simplement la composition :

- sol. n° 1 : sol. de Conway modifié 1 ml/litre d'eau de mer
- sol. n° 2 : KNO_3 1 ml/litre d'eau de mer
- sol. n° 3 : Na_2SiO_3 1 ml/litre d'eau de mer
- sol. n° 4 : vitamines 0,1 ml/litre d'eau de mer

La maîtrise des cultures n'a pu se faire qu'en conjugant une recherche au niveau des sels nutritifs et une surveillance attentive de la souche en salinité diminuée.

VIII - CENTRIFUGATION ET CONGELATION DES ALGUES

Les arrêts techniques ou sanitaires des écloséries obligent à la constitution de réserve d'algues sous forme congelées.

Les algues sont concentrées au moyen d'une centrifugeuse décanteuse (Robatel Pilote 320).

1 - Description de l'appareil

- 1 moteur électrique
- 1 bol amovible ayant une rotation de 4 000 tours/minute
- 1 couvercle démontable traversé d'un côté par un tube descendant au fond du bol et de l'autre par un bec suceur réglable

2 - Fonctionnement

La culture arrive dans le fond du bol pour être projetée contre les

parois par la force centrifuge. Le bec suceur évacue l'eau de mer débarrassée de ses algues.

L'appareil peut centrifuger 800 litres de Tetraselmis ou de Skeletonema en 1 heure. Les algues de tailles inférieures (Isochrysis, Chlorelles cylindrotheca et Monochrysis) nécessitent un temps plus long.

Les très petites particules (bactéries) sont éliminées par l'eau du bec suceur.

En fin d'opération, la pâte d'algues est diluée et répartie en doses de $5 \cdot 10^9$ cellules.

3 - Congélation

Les doses sont conservées au congélateur (- 25°) et utilisées suivant les élevages en cours.

Cette forme de stockage permet l'expédition de grandes quantités d'algues vers les centres demandeurs sans problèmes de manutention.

IX - RESULTATS

1 - Concentrations des cultures

Les résultats suivants concernent les volumes de 200 et 300 litres ayant 3 ou 4 jours de culture :

- $1,2 \cdot 10^6$ /ml pour Tetraselmis tetrathele
- $3 \cdot 10^6$ /ml pour Skeletonema costatum
- $5 \cdot 10^6$ /ml pour Isochrysis sp.
- $5 \cdot 10^6$ /ml pour Monochrysis lutheri
- $5 \cdot 10^6$ /ml pour Cylindrotheca
- $8 \cdot 10^6$ /ml pour Cyclotella Nana

2 - Production journalière

La production journalière est la suivante :

- 200 l de Tetraselmis
- 200 l de Isochrysis
- 100 l de Monochrysis
- 100 l de Cylindrotheca
- 300 l de Skeletonema

Volume total : 900 litres de culture

3 - Production maximale

L'utilisation des plates-formes centrales donne au bout de 5 jours les productions supplémentaires suivantes :

- 1 200 l dans la salle à 25°

- 600 l dans la salle à 20°

soit un supplément journalier de 600 litres

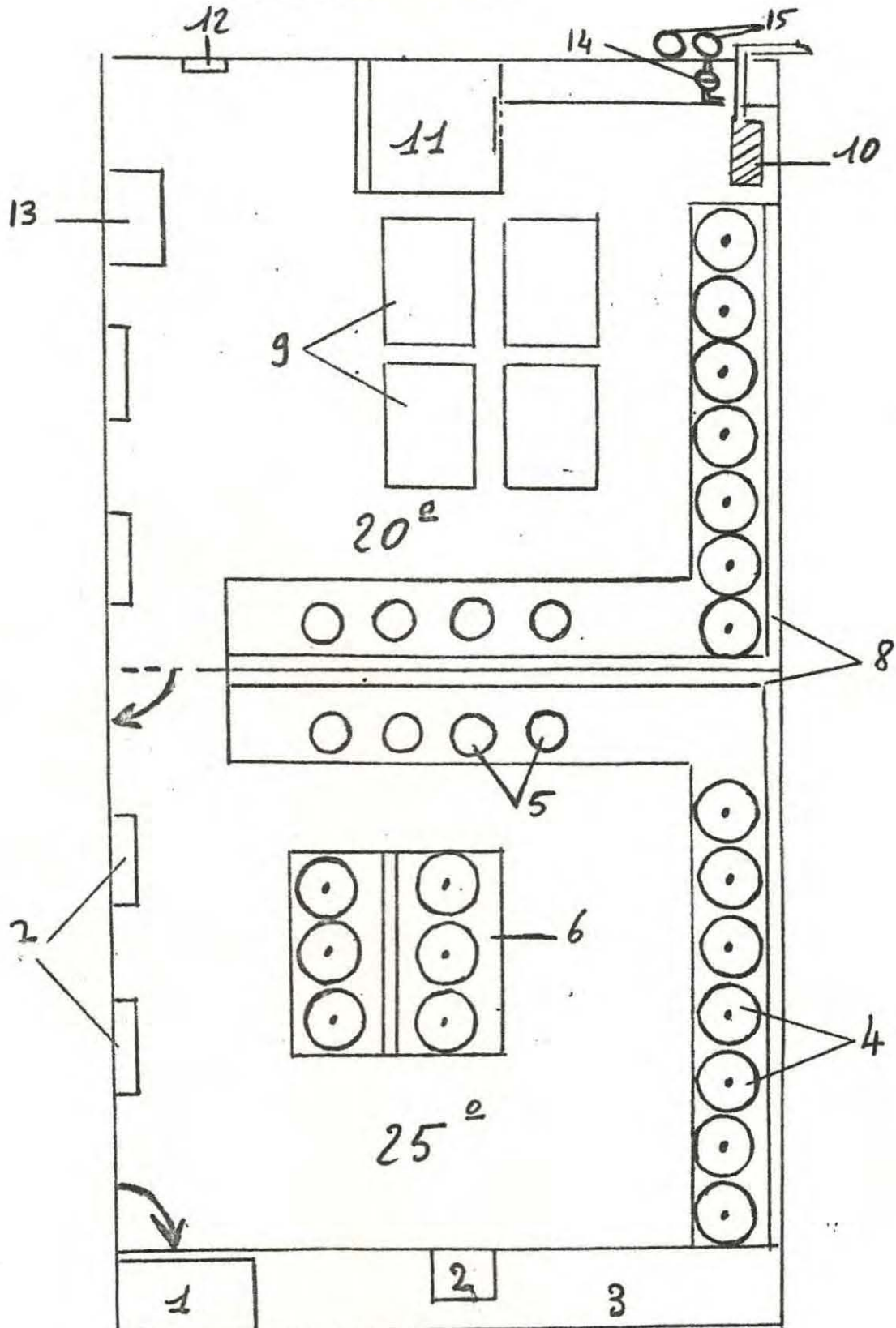
La production maximale est alors de 1 500 litres/jour.

X - CONCLUSION

L'unité de production contrôlée d'algues monocellulaires du Centre Océanologique du Pacifique remplit actuellement son rôle auprès des différents utilisateurs d'algues.

Les progrès importants réalisés sur la capacité de production et la simplification des techniques permettent d'envisager la réalisation et la fiabilité d'unités plus importantes.

LES SALLES D'ALGUES



- 1 - Armoire à souches
- 2 - Bac
- 3 - Paillasse
- 4 - Cuves de 200 l
- 5 - Ballons de 20 l
- 6 - Plate forme centrale
- 7 - Ventilateurs convecteurs
- 8 - Tubes fluorescents

- 9 - Cuves de 250 l
- 10 - Filtre eau de mer
- 11 - Local souches
- 12 - Ventilateur de secours
- 13 - Centrifugeuse
- 14 - Capteur d'eau
- 15 - Bouteilles de CO₂