

MISE EN PLACE D'UNE UNITE DE PRODUCTION D'ALGUES

AU CENTRE OCEANOLOGIQUE DE BRETAGNE :

PREMIERS RESULTATS ¹⁾

Par

J.P. FLASSCH et Y. NORMANT ²⁾

INTRODUCTION

Le démarrage des programmes de production artificielle de Mollusques, Crustacés et Poissons a nécessité l'installation d'une salle produisant 300 litres de culture d'algues par jour pendant 6 jours, mais pouvant atteindre les 400 litres 3 jours par semaine.

Les cultures sont monospécifiques ; 98 % des algues produites sont constitués par une Prasinophyceae, *Tetraselmis suecica* Butcher (PARKE et DIXON, 1964) algue verte flagellée mesurant 8 à 10 μ dans sa plus grande longueur.

PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DE LA SALLE

La méthode d'obtention, d'utilisation et de contrôle des cultures est identique à la technique décrite par WALNE (1966) : milieux de culture, étagements successifs des volumes à partir de souches, constitution d'unités de moyenne production (ballons de 20 litres), conditions d'éclairage, alimentation en air et CO₂, assainissement des circuits à la vapeur.

La production est obtenue en qualité à partir des volumes de 20 litres, en quantité par une batterie de grands volumes de 250 litres.

La salle offre une surface de 60 m². Elle est alimentée en air climatisé, ce qui permet de maintenir les cultures autour de 20°C.

1) Cette communication a été présentée une première fois lors du Colloque I.C.E.S. de Vigo, en septembre 1973.

Il est apparu utile de la reprendre in-extenso dans le cadre du présent volume qui regroupe l'ensemble des travaux effectués en France en Aquaculture depuis quelques années.

2) Centre Océanologique de Bretagne - BP. 337 - 29273 BREST.

TECHNOLOGIE, PROTOCOLE EXPERIMENTAL

- Moyens volumes (20 litres)

Les conduites en "pyrex", ordinairement utilisées pour le passage du milieu et de la vapeur, ont été remplacées par des canalisations souples, type rodhorsyl, résistant à 120°C, et reliées entre elles par des raccords "T" ou "Y" en polyéthylène dont la durée de vie est d'environ un an. Le débit d'air, enrichi à 1 % de CO₂, est de 90 litres/heure par ballon.

La vapeur est fournie par un générateur, type Buchi à 1,5 kg/cm².

Le milieu (sels nutritifs, oligoéléments + eau de mer) est filtré en trois stades jusqu'à 0,35 µ.

- Grands volumes (250 litres)

. Description

La plus grande unité de production est constituée par un bac polyester de 300 litres, susceptible de fournir 62 litres par jour à la concentration moyenne de 10⁶ cellules/ml (figure 1). L'énergie lumineuse est apportée au centre par deux lampes au mercure de 250 watts, superposées (le fil de la lampe inférieure étant protégé de la chaleur par du papier d'aluminium) et isolées du milieu par un cylindre de verre pyrex maintenu sur un couvercle d'"altuglass". La réfrigération est assurée par un ruissellement d'eau douce le long de la paroi extérieure grâce à une couronne de distribution. Cette eau est récupérée dans une collerette située à la jonction du tronc de cône et de l'hémisphère.

Pour une réfrigération efficace la température du liquide réfrigérant ne doit pas dépasser les 15°C.

La culture est brassée par une pompe immergée type "Eheim 491", débitant 11,8 l/mn.

Deux aérations différentes fonctionnent simultanément :

- l'une centrale débite de l'air sans CO₂ à 150 l/h ;
- l'autre périphérique distribue un air enrichi à 1 % de CO₂ par 5 orifices régulièrement espacés et situés à environ 15 cm du fond de l'hémisphère (figure 1).

. Préparation

Le récipient est au préalable nettoyé à l'eau douce froide, puis à l'eau chaude additionnée d'eau de javel, et enfin soigneusement rincé à l'eau tiède. Les tuyauteries d'arrivée d'air sont stérilisées à l'autoclave ; le support liquide de la culture est de l'eau de mer à 20°C, filtrée au préalable par deux passages sur cartouches polyéthylène dont la capacité de filtration est de 1 micron à un débit de 2 m³/heure.

. Ensemencement

L'ensemencement s'effectue à partir de volumes de 20 litres à la concentration moyenne de 2.10⁶ cellules au ml. L'inoculum, prélevé dans des récipients stériles, est dilué aux 3/4 de façon à ce que la concentration initiale soit de l'ordre de 0,5.10⁶ cellules au ml.

Au début, l'énergie lumineuse est fournie par une seule lampe au mercure de 250 watts.

La collerette de récupération du réfrigérant se trouvant à la jonction du tronc de cône et de l'hémisphère (figure 1), il faut un volume de départ d'environ 140 l dont 35 d'inoculum pour que la réfrigération par ruissellement soit efficace (20°C).

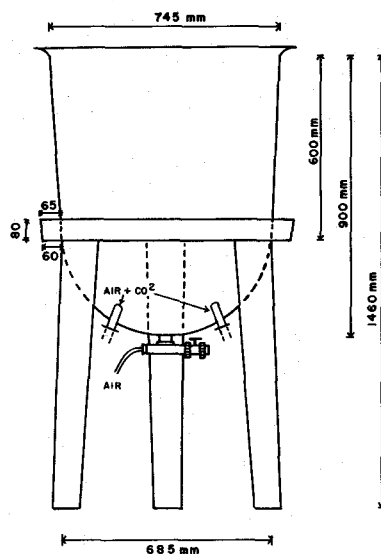


Figure 1 - Schéma d'une cuve

Lorsque la concentration atteint 10^6 cellules au ml, le niveau est monté, et la deuxième lampe allumée.

Le milieu, stérilisé et conservé au réfrigérateur, peut être mis (après adjonction des vitamines), soit directement dans la cuve, soit filtré en même temps que l'eau de mer.

Maintenance

Dès que la culture atteint la concentration de 10^6 cellules au ml, 1/4 du volume peut être soutiré journallement, mais avant chaque prélèvement il faut effectuer les manipulations suivantes :

- si des déchets se sont déposés à la périphérie en surface, les prélever à l'aide d'un tampon alcoolisé ;
- nettoyer les parois du volume et du tube central du plat de la main en ayant pris soin de respecter les conditions sanitaires d'usage, lavage des mains prolongé, passage à l'alcool ;
- remettre en suspension les cellules sédimentées à l'aide de la pompe (qui devra être nettoyée tous les 2 jours) ;
- effectuer les mesures de température et de pH, ces deux paramètres pouvant

respectivement varier entre 18 et 23°C et 6,5 et 8,5.

Ces opérations terminées, la culture peut être soutirée, mais la remise en eau doit se faire le plus rapidement possible.

RENDEMENT

La quantité moyenne d'azote minéral apportée aux cultures est de 16 mg par litre d'eau de mer.

La production quotidienne est de $370 \cdot 10^9$ cellules de *T. suecica* (pour 300 litres de culture). Ce nombre est estimé d'après les comptages effectués chaque jour.

Les valeurs en poids sec ont été obtenues compte-tenu du liquide nutritif (eau de mer + sels), dont les constituants sont susceptibles de se déposer sur les filtres, un rinçage à l'eau distillée, ne pouvant se faire sans risque d'éclatement de cellules.

Les filtres (millipore $0,45 \mu$) sont pesés après passage en étuve à 60°C pendant 24 h. Les échantillons de 20 cm^3 sont alors filtrés, témoins compris, le tout est remis à l'étuve dans les mêmes conditions ; les pesées finales sont alors effectuées après 24 h.

L'azote organique a été dosé sur analyseur CHN, pendant cinq jours sur 3 échantillons par prélèvement, dans les conditions normales de fonctionnement (ballon de 20 litres, 5 litres de prélèvement quotidien).

L'unité de référence choisie est de 10^6 cellules, leur poids sec est de 0,16 mg, la quantité d'azote organique variant entre 0,07 et 0,09 mg, ce qui correspond à un pourcentage de 5,4 % d'azote.

Compte-tenu de ces résultats, le poids total moyen sec d'algues produit par jour est d'environ 60 g contenant 5,4 % d'azote.

La quantité sèche en protéines correspondante est de 25 g en prenant 6,25 comme coefficient de transformation, valeur qui, bien qu'approximative, donne un ordre de grandeur de l'apport en protéines distribué aux élevages.

CONCLUSION

La mise en place d'un tel type d'unité, orientée vers la production monospécifique d'une espèce facile à cultiver et présentant le maximum de garanties sur le plan nutritif n'avait pour but dans un premier temps que de fournir la nourriture de base nécessaire aux élevages d'animaux herbivores. Certains élevages n'utilisent pas d'intermédiaires, mais assimilent directement les algues (Mollusques adultes, larves et jeunes), d'autres servent à leur tour de nourriture de base à des animaux carnivores (larves de Crustacés et de Poissons Téléostéens, bars, soles et turbots), en l'occurrence un Rotifère, un Copépode et un Branchiopode essentiellement.

Après neuf mois de fonctionnement ininterrompu, les résultats sont tout à fait satisfaisants.

Deux précautions sont à prendre :

- La première est de faire en sorte que les unités de production de moyens et

grands volumes définis plus haut soient très proches l'une de l'autre afin de limiter au possible les pollutions éventuelles au cours des transvasements des inoculums ;

- la seconde est de travailler avec une propreté exemplaire, éviter l'accumulation de cellules mortes à l'intérieur et à l'extérieur des récipients de culture, nettoyer périodiquement toutes les tuyauteries à la vapeur, effectuer un dépoussiérage très fréquent, éviter l'utilisation de chaussures marquant le sol, ce qui facilite le transport des impuretés à partir des autres unités.

D'autre part, certaines améliorations sont à envisager : il faut augmenter l'auto-nettoyage des grands volumes et tenter de se libérer au maximum des servitudes du nettoyage manuel à l'intérieur des cuves de 300 litres.

Les systèmes de filtration ne sont pas encore satisfaisants, parce que trop onéreux et d'utilisation difficile (changement très fréquent des unités de filtration).

En conclusion, il paraît évident que l'unité de production en milieu contrôlé, de cultures d'algues à forte concentration reste la solution d'avenir pour les élevages larvaires quels qu'ils soient.

DISCUSSION

AUDOUIN : Vous avez parlé de grands volumes et dans votre esprit il s'agissait de volume de 250 litres : est-ce que vous avez l'intention de procéder aussi à des expériences sur des volumes encore plus considérables comme ceux utilisés habituellement dans les écloseries, à savoir au moins 1 m^3 et parfois même 50 m^3 ?

FLASSCH : A mon avis un volume de 250 litres, représente la limite de la culture contrôlée en très forte concentration. On obtient en petit volume entre 2,5 et 3,5 millions de cellules par millilitre. Avec 250 litres, on est en général aux alentours de 1,2 million, et le million est la concentration minimale pour qu'un élevage de culture d'algues soit constant. Je parle de *Tetraselmis*, qui fait 10 à 12 microns de long, donc d'une grosse algue. Il faut quand même une concentration minimale pour obtenir un élevage en continu ou semi-continu. Si l'on passe au-delà, on a des problèmes techniques d'éclairage de cultures et on obtient des "blooms" mais on n'obtient pas de cultures en continu. C'est là un autre problème, qui est celui de la manipulation des "blooms" que nous comptons aborder prochainement. En ce qui concerne l'écloserie, pour le moment, nous nous limitons à 250 litres. Nous avons déjà fait des expériences en 48 m^3 , mais ce sont des cultures qui ne sont pas du tout contrôlées, et que l'on doit utiliser immédiatement.

QUESTION (?) : Je voudrais savoir si vous utilisez un éclairage constant ou s'il y a des interruptions ?

FLASSCH : Oui, c'est un éclairage constant pour le moment, sauf quand nous faisons des manipulations ou des expérimentations spéciales. Il faut en tenir compte pour la climatisation des salles, parce que justement cet apport d'énergie a tendance à affaiblir le circuit de climatisation et à diminuer son efficacité.

MARTEIL : J'aimerais connaître l'opinion des professionnels d'écloseries de type commercial sur ce problème.

LE BORGNE : Il semble que les limites indiquées par FLASSCH puissent être dépassées pour ce qui est des volumes avec le même résultat, les mêmes caractères, jusqu'à 5 m^3 .

FLASSCH : A quelle concentration ? Ces volumes durent combien de temps ? En continu, le même volume produit-il le quart du contenu total chaque jour ? Pendant combien de temps ?

LE BORGNE : Si vous avez une rotation à l'intérieur de vos récipients, c'est-à-dire si vous prélevez 5 litres par jour, cela dure une certaine période puis il faut faire un nettoyage. Ce n'est pas un prélèvement continu, alors qu'il y a d'autres systèmes où on prélève la totalité du récipient qui a servi à la culture.

FLASSCH : C'est cela. Sur le plan main-d'oeuvre, on pourrait comparer au point de vue chiffres. En général, les besoins en main-d'oeuvre des blooms sont beaucoup plus importants que dans le cas des cultures en continu.

LE BORGNE : Combien de temps conservez-vous le récipient dans lequel s'effectue la culture sans nettoyage complet ?

FLASSCH : Cela peut durer jusqu'à deux mois à 60 litres. En moyenne 1 mois et demi, c'est-à-dire qu'on a tourné cette année sur 6 cuves de 250 litres ; en changeant une cuve toutes les semaines, cela fait 6 semaines de production par cuve.

LE BORGNE : En écloserie, on a besoin de quantités proches de 10 à 15 m³ de nourriture par jour.

FLASSCH : Non, ou bien lorsque la concentration en cellules n'est pas très importante. Sinon, avec des densités de l'ordre de 1 million de cellules par millilitre on produit une quantité importante.

LE BORGNE : Est-ce que vous envisagez une distribution en continu par pompage de nourriture à partir de ces cuves de 250 litres ?

FLASSCH : Non, pas pour le moment : cela peut être envisagé, mais n'a pas été fait jusqu'à présent au COB.

LE BORGNE : Vous verrez alors que les volumes nécessaires sont nettement plus grands, et qu'il est difficilement envisageable avec des unités de production de 250 litres de satisfaire aux besoins.

FLASSCH : Sur le plan maturation de géniteurs de mollusques, ou sur le plan croissance des larves et du naissain ?

LE BORGNE : Sur les deux plans : parce qu'on peut envisager de mettre une pompe dans un grand bac avec système de régulation du pompage, mais dans le cas des petites unités, c'est sûrement beaucoup plus difficile.

FLASSCH : Non, car on peut soutirer les petites cuves de culture, et envoyer les prélèvements dans des volumes plus importants qui se trouvent au-dessus des bacs larvaires. Cela aussi a été fait.

LE BORGNE : Vous augmentez le risque de contamination en utilisant un récipient supplémentaire où doit s'accumuler la nourriture.

FLASSCH : Cela dépend à quel stade on intervient. Au moment de la métamorphose, il y a un grand risque, mais on n'a pas besoin de milliers de litres à ce moment là, puisqu'on utilise en moyenne 50 cellules d'*IsochrYSIS* et 5 cellules de *Tetraselmis* par microlitre. Les élevages larvaires, juste au moment de la métamorphose ne demandent pas beaucoup d'algues : c'est après et pour la maturation des géniteurs, qu'il y a des problèmes.

LE BORGNE : Ma question portait simplement sur l'entretien des unités que vous avez décrites.

FLASSCH : Nous avons obtenu en production continue avec 6 volumes de 250 litres, 360 litres de culture par jour, ce qui demande un entretien de 3 à 4 heures de travail par jour, sur l'ensemble de l'unité de production.

SERENE : La production moyenne journalière en poids sec paraît très élevée. Si on retient un poids sec de 0,16 mg par 10^6 cellules, il doit y avoir une erreur dans les calculs.

LUBET : Nous avons fait le même calcul que celui présenté par FLASSCH, sur de plus petites cultures, et nous retompons sur une valeur de 0,20 mg de poids sec pour 10^6 cellules.

FLASSCH : C'est une excellente confirmation.