

PRODUCTION PRIMAIRE EN CONTINU POUR LA NUTRITION  
DE PELECYPODES EPIGES

par

R. FAVERIS +, Pr. P. LUEET ++

+ Laboratoire Maritime - 14530 Luc-sur-Mer  
++ Directeur du Laboratoire de Zoologie  
de l'Université de Caen - 14032 Caen Cédex

R E S U M E

Nous avons cultivé quatre espèces d'algues unicellulaires euryhalines (Monochrysis lutheri, Isochrysis galbana, Tetraselmis suecica, Chlorella sp) dont nous avons étudié la dynamique de population cellulaire en fonction de la salinité et déterminé l'optimum ( $S = 22 \text{ O/00}$ ). Ces espèces ont été cultivées sur milieu témoin stérile et sur milieu "résiduel" constitué par un mélange de 2/3 d'eau de mer et 1/3 d'effluent de station d'épuration. Ce milieu est plus pauvre en nitrate que le milieu témoin, mais plus riche en nitrates et en ammonium ; il renferme de nombreuses bactéries qui s'éliminent par vieillissement du milieu résiduaire.

Pendant la durée de la culture, l'évolution chimique et bactériologique des milieux a été étudiée. Le milieu résiduaire subit une autoépuration mais renferme des taux élevés de nitrates et de phosphates alors que le milieu témoin s'appauvrit en ces éléments.

Les rendements algaux sont plus faibles en milieu résiduaire et les algues présentent une teneur moins élevée en azote protéique. Des cultures en grand volume (700 l.) sur milieu résiduaire de Monochrysis et Tetraselmis ont permis la production en continu de phytoplancton pour élever des larves, des individus juvéniles de moules (Mytilus edulis) et d'huîtres (Ostrea edulis).

Les larves de moules ont été alimentées avec les algues produites sur milieu témoin et sur milieu résiduaire. Ces dernières ont une vitesse de croissance plus lente que celle du lot témoin.

Pour les individus juvéniles (moules et huîtres) la différence entre les vitesses de croissance des deux lots s'atténue rapidement. Enfin, le taux de fécondité et de survie des larves de moules et d'huîtres plates obtenues à partir d'adultes nourris avec les algues produites sur milieu "résiduaire" ou témoin sont comparables.

A B S T R A C T

Four species of monocellular euryhalin algae (Monochrysis lutheri, Isochrysis galbana, Tetraselmis suecica, Chlorella sp) had been cultivated on control medium (Conway) and on sewage medium (1/3 sewage water + 2/3 sea water). The cells population dynamics is optimum at salinity of 22 O/00. The rate of nitrates and phosphates is lower in sewage medium than in control medium and sewage medium contains many bacteria gradually destroyed by the action of  $O_2$  during 12 days.

The evolution of bacterial and chemical contents of sewage and control media had been studied through the period of cultivation. Sewage medium shows self-clean sed and the rate of nitrate and phosphates gradually increases and decreases in control medium. Algae productivity and the rate of proteic N lower and sewage medium than in control.

In continous cultures in large batches (700 l.) and in sewage medium, Monochrysis and Tetraselmis produced are given for breeding of larvae and young animals (mussels and oysters).

Mussels larvae were fed with algae produced on two media with sewage medium algae, the larvae growing was less than in control medium.

About young seeds (mussels and oysters) the différence between the growing yield rapidly disappears. At last, fertility and larvae survival was similar in aged molluscs fed with residual or sterile algae.

## INTRODUCTION

L'objet de notre travail était de réaliser des cultures d'algues unicellulaires (Monochrysis, Isochrysis, Tetraselmis, Chlorella) à partir d'eaux résiduaires de stations d'épuration (Milieu avec effluent).

La poursuite des recherches a nécessité l'étude des salinités optimales pour la culture des différentes souches algales utilisées. En effet, le milieu avec effluent est dessalé (19 à 22 ‰) par rapport au milieu de Conway (32 à 34 ‰). Il était donc indispensable de connaître la dynamique des populations cellulaires de chaque espèce à différentes salinités et de comparer les rendements obtenus.

Ces données acquises, il a été procédé pour les différentes espèces algales, à des essais comparables de culture sur milieu témoin de Conway et sur milieu avec effluent.

Pour des salinités égales, la vitesse de croissance et les rendements ont été appréciés. L'évolution des paramètres physico-chimiques et bactériologiques a également été suivie.

La production en grand volume de Tetraselmis (350 l.) en semi-continu a permis de nourrir des Mollusques (adultes, larves et jeunes d'Ostrea edulis, Mytilus edulis et Crassostrea gigas).

Ces expériences ont permis de comparer la valeur alimentaire des algues produites sur effluent avec celle des algues cultivées sur milieu classique de Conway.

### I. PRODUCTION PRIMAIRE

Le programme proposé avait pour but d'étudier les possibilités de production de phytoplancton à partir des rejets des stations d'épuration. Les sels récupérés dans l'effluent permettent d'enrichir l'eau de mer qui constitue alors un milieu de culture abondant et bon marché.



## 1.1. Matériel et Méthodes

### 1.1.1. Espèces étudiées

#### a) Nomenclature

Les études ont été menées sur les espèces d'algues unicellulaires à croissance rapide habituellement utilisées en éclosérie pour l'élevage de larves et du naissain de mollusques filtrants.

Les souches algales étudiées sont :

- Monochrysis lutheri : Chrysophycée monoflagellée 4 u
- Isochrysis galbana : Haptophycée biflagellée, 3 à 4 u
- Tetraselmis suecica : Euchlorophycée ovoïde, munie de 4 flagelles et dont la taille varie entre 6 et 8 u
- Chlorella sp : petite Euchlorophycée de 3 u de diamètre et dépourvue d'appareil locomoteur.

#### b) Croissance et rendement

La multiplication des cellules algales se fait de façon binaire. Nous nous plaçons dans l'hypothèse où les divisions se font à intervalles réguliers. Il est alors facile de calculer la densité au temps t.

Soit  $x_0$  la densité initiale,

Après la 1ère division, la densité est  $x_1 = 2 x_0$   
 " 2ème " "  $x_2 = 2 \times 2x_0$   
 " nème " "  $x_n = 2^n x_0$

Si le taux de croissance r est le nombre de divisions par unité de temps, dans un intervalle de temps t, le nombre de divisions sera  $n = rt$  et la densité cellulaire sera  $x_t = 2^{rt} x_0$ . Sous forme logarithmique, cette fonction sera plus facile à calculer.

$$\frac{x_t}{x_0} = 2^{rt}$$

$$\log_2 \frac{x_t}{x_0} = rt$$

$$\text{ou } r = \frac{1}{t} \log_2 \frac{x_t}{x_0} = \frac{1}{t} (\log_2 x_t - \log_2 x_0)$$

La pente de la courbe représentative de la croissance permet de déterminer graphiquement r. La courbe, représentative de la croissance s'effectuant par divisions binaires à intervalles de temps égaux, sera donc théoriquement une droite :  $r = \text{cte}$ .

Cette courbe est généralement incurvée vers l'axe des abscisses et exprime une croissance qui ralentit progressivement.

Le temps de génération :  $t_g$  (temps moyen de division cellulaire) est l'intervalle pendant lequel  $\log_2 x$  s'accroît d'une unité.

Les phases de la croissance théorique d'une culture en milieu non renouvelé sont schématisées par la fig.2.

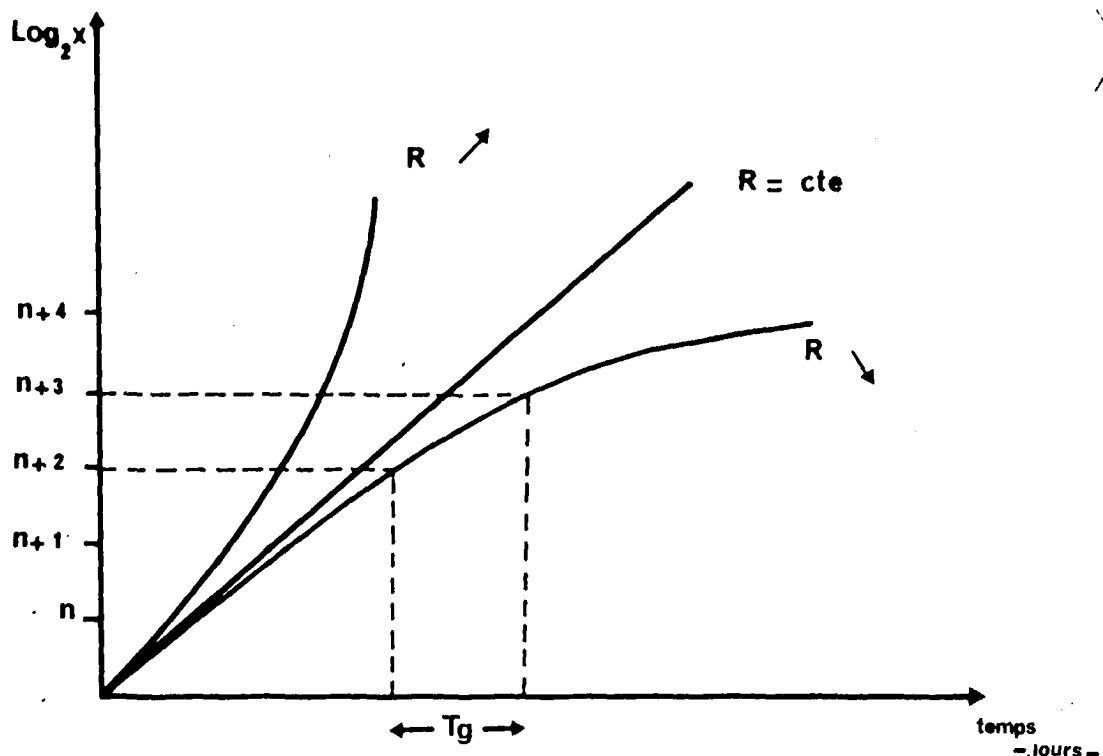


Fig.1 : Représentation semi-logarithmique de la croissance.

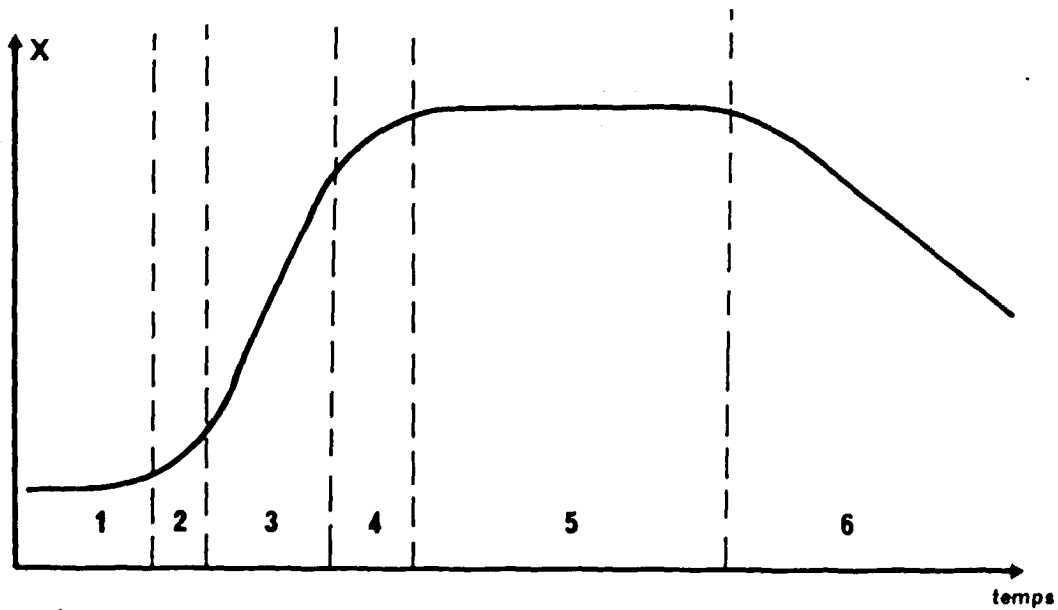


Fig.2 : Phases de la croissance en milieu non renouvelé.

- |    |                     |                  |
|----|---------------------|------------------|
| 1. | Phase de latence    | $r = 0$          |
| 2. | " d'accélération    | $r \nearrow$     |
| 3. | " exponentielle     | $r \text{ max.}$ |
| 4. | " de ralentissement | $r \searrow$     |
| 5. | " stationnaire      | $r = 0$          |
| 6. | " de déclin         | $r < 0$          |

X

Les trois premières phases sont les plus importantes pour l'étude de la croissance. Le temps de latence  $T_l$  est le retard de la croissance réelle sur la croissance théorique. On le détermine graphiquement (fig.3) à partir de la différence entre la croissance réelle  $x_0$  et la croissance théorique  $x_i$ .

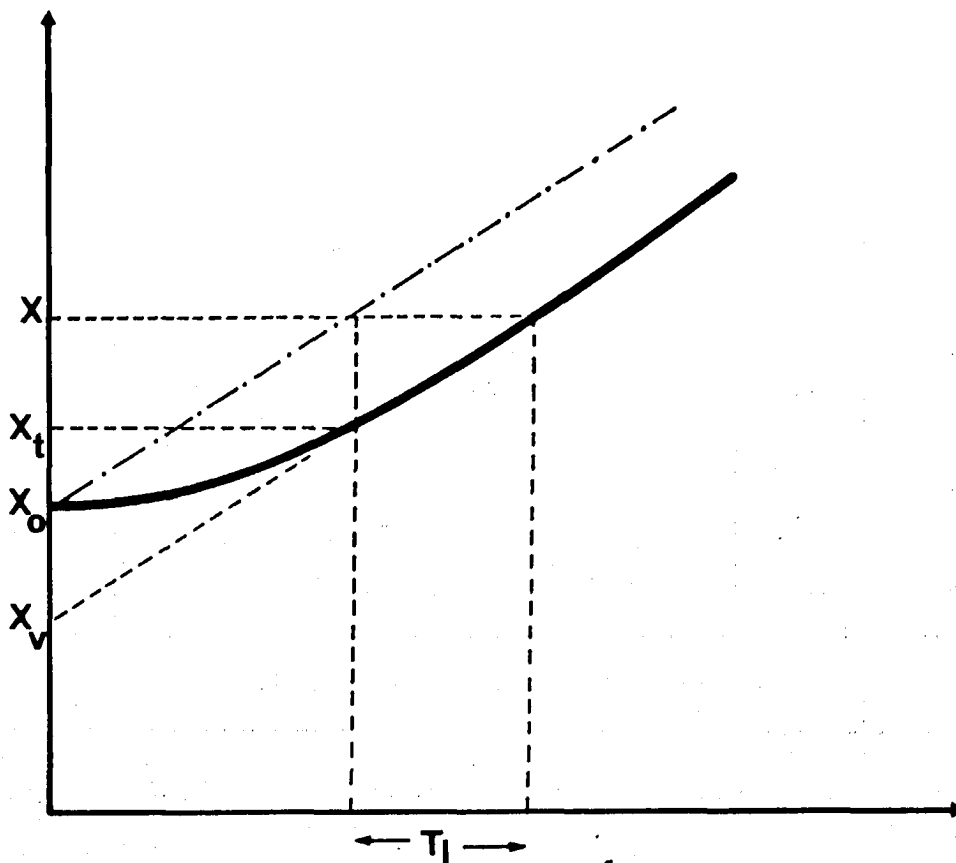


Fig.3 : Détermination graphique de la latence.

Cette phase de latence varie avec l'âge de l'inoculum. Un inoculum provenant d'une vieille culture contient une proportion très élevée de cellules non viables de sorte que même si les cellules viables  $x_v$  commencent aussitôt à se développer de façon exponentielle, leur prolifération passe inaperçue et ne s'exprime sur la courbe qu'après quelques divisions.

#### Rendement

La différence entre la population initiale du milieuensemencé et la population finale ( $x-x_0$ ) est la croissance totale  $\Sigma$  exprimée en nombre de cellules par microlitre. Cette estimation n'est pas rigoureuse lorsque nous comparons la productivité de milieux n'ayant pas la même salinité. Par ailleurs, la taille des cellules décroît avec l'âge de la culture. Aussi, nous exprimerons ce rendement en poids sec par litre de culture. L'analyse minérale a également été effectuée sur les échantillons recueillis, la proportion des principaux éléments C, H, N, est exprimée en pourcentage de poids sec.

#### c) Dynamique de population cellulaire en fonction de la salinité

La culture sur effluent nécessitant un abaissement de la salinité de l'eau de mer, différents tests ont été effectués entre les salinités 16 et 32 o/oo. Pour chaque espèce, l'inoculum provient toujours d'une culture récente de façon à sélectionner des cellules jeunes ou en cours de division, pour réduire au maximum le taux de latence.

+ Isochrysis galbana. La densité cellulaire maximale se situe à une salinité 16 o/oo. Pour les autres tests à 32, 25 et 19 o/oo, nous avons une croissance importante, mais il faut toutefois remarquer qu'elle est nulle pour une salinité de 29 o/oo.

Salinités	32	29	25,5	22	19	16
7.10.75	940	940	940	940	940	940
8.10.75	1600	1080	1530	1960	1870	1630
9.10.75	3120	2640	3290	4060	3310	3450
10.10.75	6180	1430	1810	5420	4240	4460
11.10.75	5730	1780	4300	4240	4120	5620
13.10.75	10000	1300	11000	11500	10000	11400
14.10.75	13200	2100	5400	6000	12800	16200
15.10.75	5100	2000	8100	12700	11300	8200
DATES	NOMBRE de CELLULES par MICROLITRE					

Tableau 1 : Croissance de Isochrysis galbana pour diverses salinités.

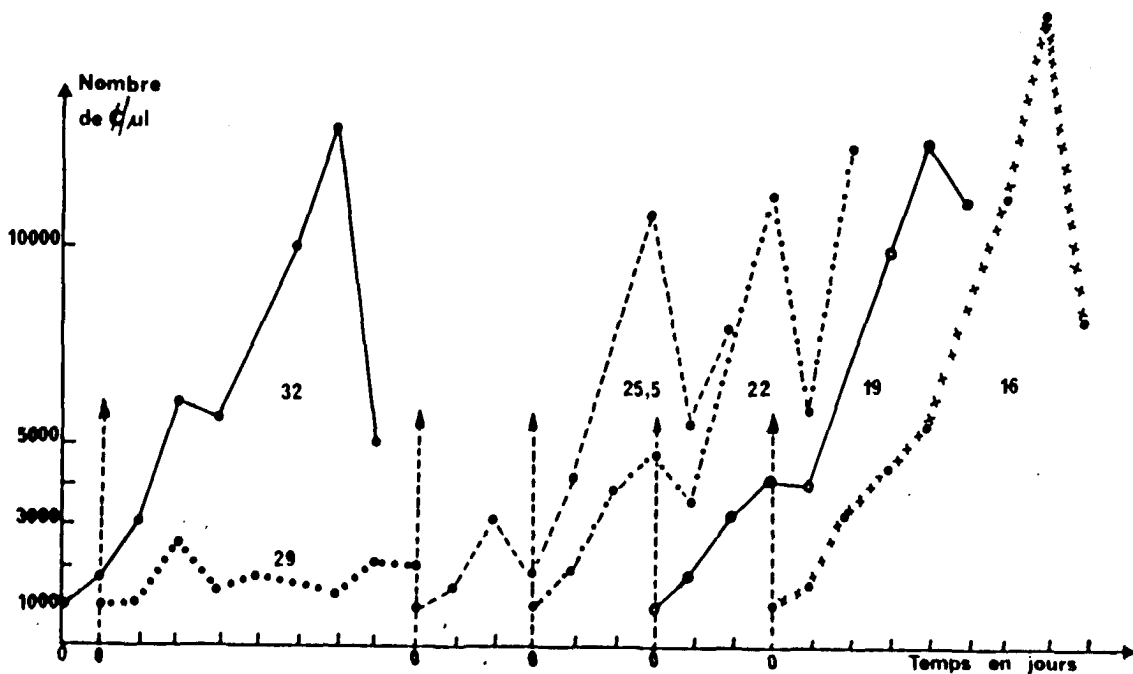


Fig. 4 : Croissance de Isochrysis galbana à différentes salinités.

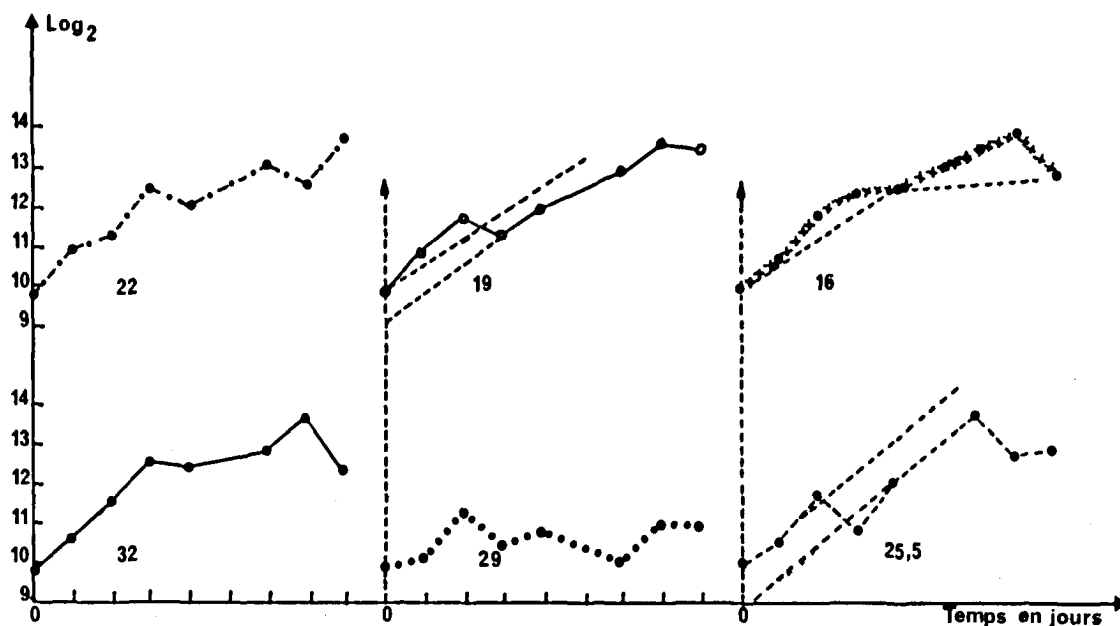


Fig. 5 : Croissance de Isochrysis galbana pour différentes salinités (Représentation semi-logarithmique)

Dans chaque type de culture, la courbe représentant la croissance cellulaire est caractérisée par deux pics, traduisant la présence probable de deux types de cellules (fig. 4 et 5)

- un type à temps de latence court, à croissance rapide, arrivant tôt à la phase stationnaire.

- un type cellulaire interférant avec l'évolution du premier type, à temps de latence long, la durée de croissance dépasse largement celle du premier type qui se trouve alors en phase de déclin.

La courbe obtenue est la somme des deux courbes de croissance.

Pour chacune des salinités, un type de cellules prédominerait, tandis qu'à la salinité 29 o/oo, les deux types seraient également inhibés.

Il est donc possible de cultiver Isochrysis sur milieu dessalé par un apport d'eau riche en substances nutritives constitué par l'effluent domestique dans une proportion pouvant atteindre 50%.

+ Monochrysis lutheri supporte également une forte dessalure, les optimum salins étant 16 et 22 o/oo. Toutefois, si le nombre de cellules est comparable au bout de 10 à 12 jours, à 22 o/oo, la phase stationnaire semble précoce et de durée appréciable tandis qu'à la salinité 16 o/oo celle-ci paraît inexistante.

L'optimum salin retenu est 22 o/oo, car à 16 o/oo la salinité de l'eau d'élevage des animaux marins se trouverait trop abaissée.

Salinités	32	29	25,5	22	19	16
6.11.75	3520	2200	1400	2720	1680	2360
7	4260	3440	3300	5420	4280	4420
8	5640	4480	3840	5440	4000	2240
10	6680	5440	5600	6760	5800	4480
11	9920	8160	7280	10400	8400	6560
12	10080	7920	8400	11600	8960	7360
13	11200	8640	9200	11120	7200	10480
14.11.75	9200	6640	7360	7840	5200	7040
DATES	NOMBRE DE CELLULES PAR MICROLITRE					

Tableau 2 : Croissance de Monochrysis lutheri pour diverses salinités.

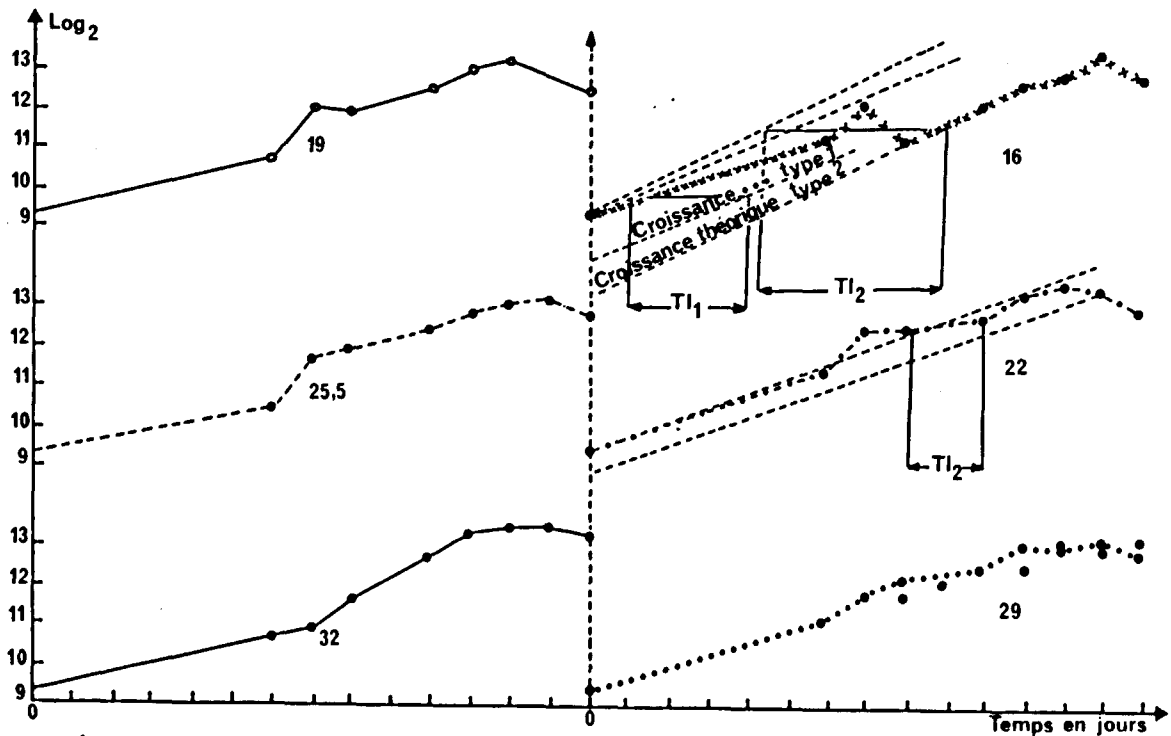


Fig. 6 : Représentation semi-logarithmique de la croissance de Monochrysis lutheri à diverses salinités.



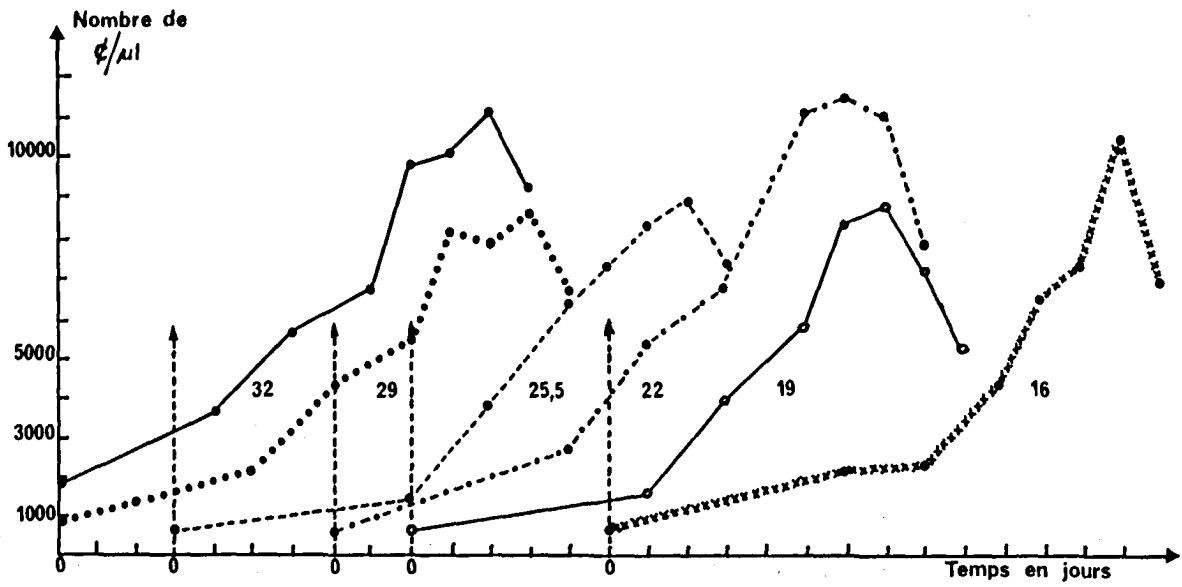


Fig. 7 : Croissance de Monochrysis lutheri différentes salinités.

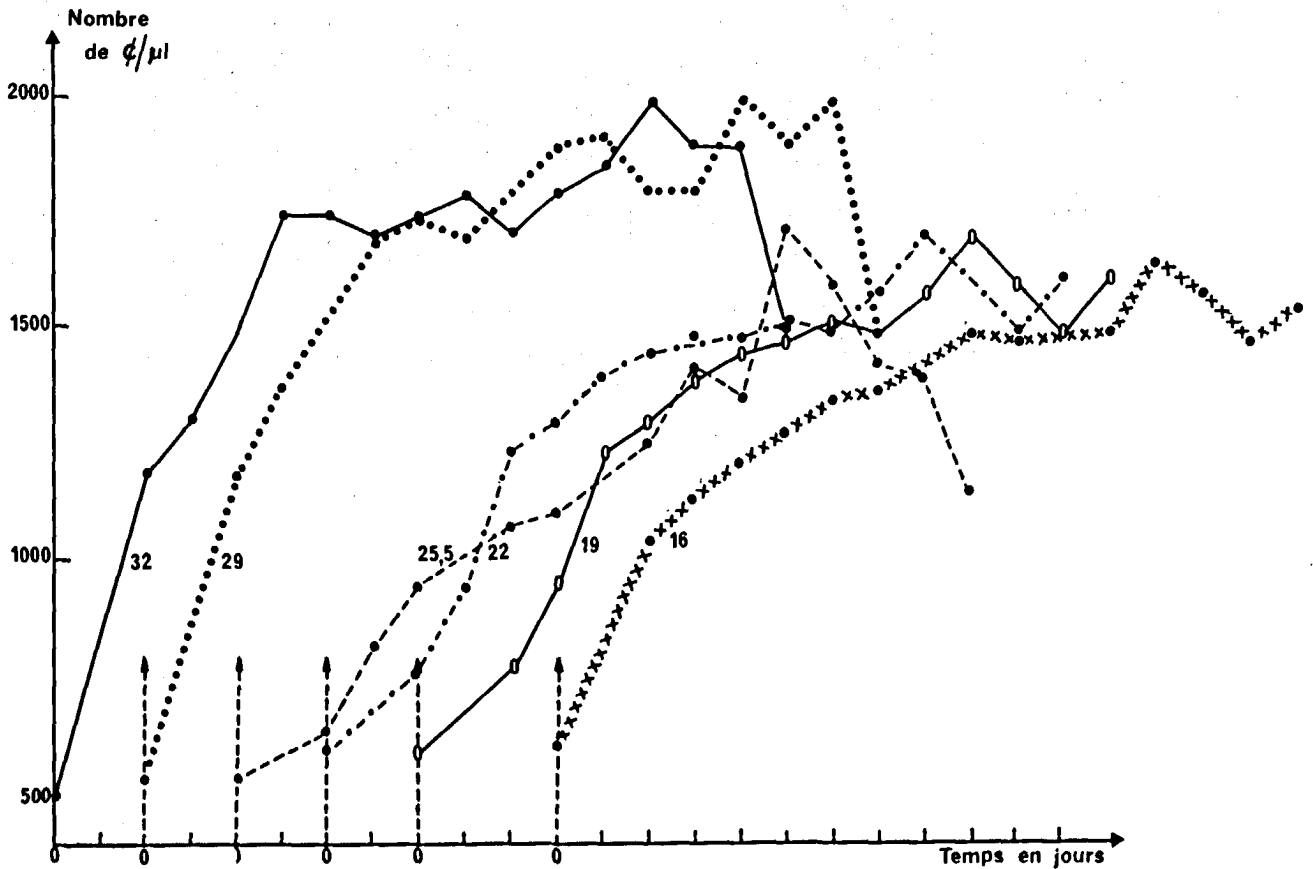


Fig. 8 : Multiplication des Chlorella sp à différentes salinités.

+ La croissance des Chlorelles est peu affectée par la salinité. Dans tous les cas, la densité cellulaire est comparable. Seul le temps de latence s'allonge lorsque la salinité décroît.

Salinités	32	29	25,5	22	19	16
28.12.75	360	410	410	410	455	500
29	510	540	540	600	615	615
1.12.75	1190	1190	640	770	1120	1050
2	1300	1375	820	950	1200	1140
3	1500	1520	950	1240	1300	1220
4	1750	1700		1300	1400	1280
5	1750	1750	1080	1400	1520	1350
6	1700	1700	1100	1450	1450	1370
8	1800	1900	1260	1480	1650	1500
9	1700	1920	1420	1510	1580	1480
10	1800	1800	1350	1500	1630	1500
11	1850	1800	1720	1580	1680	1500
12	2000	2000	1600	1710	1750	1650
13	1900	1900	1425	1600	1780	1580
15	1900	2000	1400	1500	1500	1475
16.12.75	1500	1500	1160	1620	1750	1550
DATES	NOMBRE DE CELLULES PAR MICROLITRE					

Tableau 3 : Croissance de Chlorella sp en fonction de la salinité.

+ Tetraselmis suecica a une bonne croissance pour les diverses salinités testées. L'optimum serait 29 o/oo, mais nous ne pouvons pas retenir ce taux car il nous faut diluer l'eau de mer au maximum, de façon à enrichir le plus possible le milieu en effluent. La salinité 19 o/oo a donc été retenue.

Salinités	32	29	25,5	22	19	16	13
20.11.75	129	143	166	248	24	128	151
21	163	114	101	106	67	122	156
22	205	540	220	400	430	220	300
24	670	2230	900	690	1100	1380	690
25	1250	1430	1720	1000	1400	500	700
26	1300	1510	1670	920	1350	320	600
27	1210	1420	1500	810	1100	200	450
DATES	NOMBRE DE CELLULES PAR MICROLITRE						

Tableau 4 : Croissance de Tetraselmis suecica pour diverses salinités.

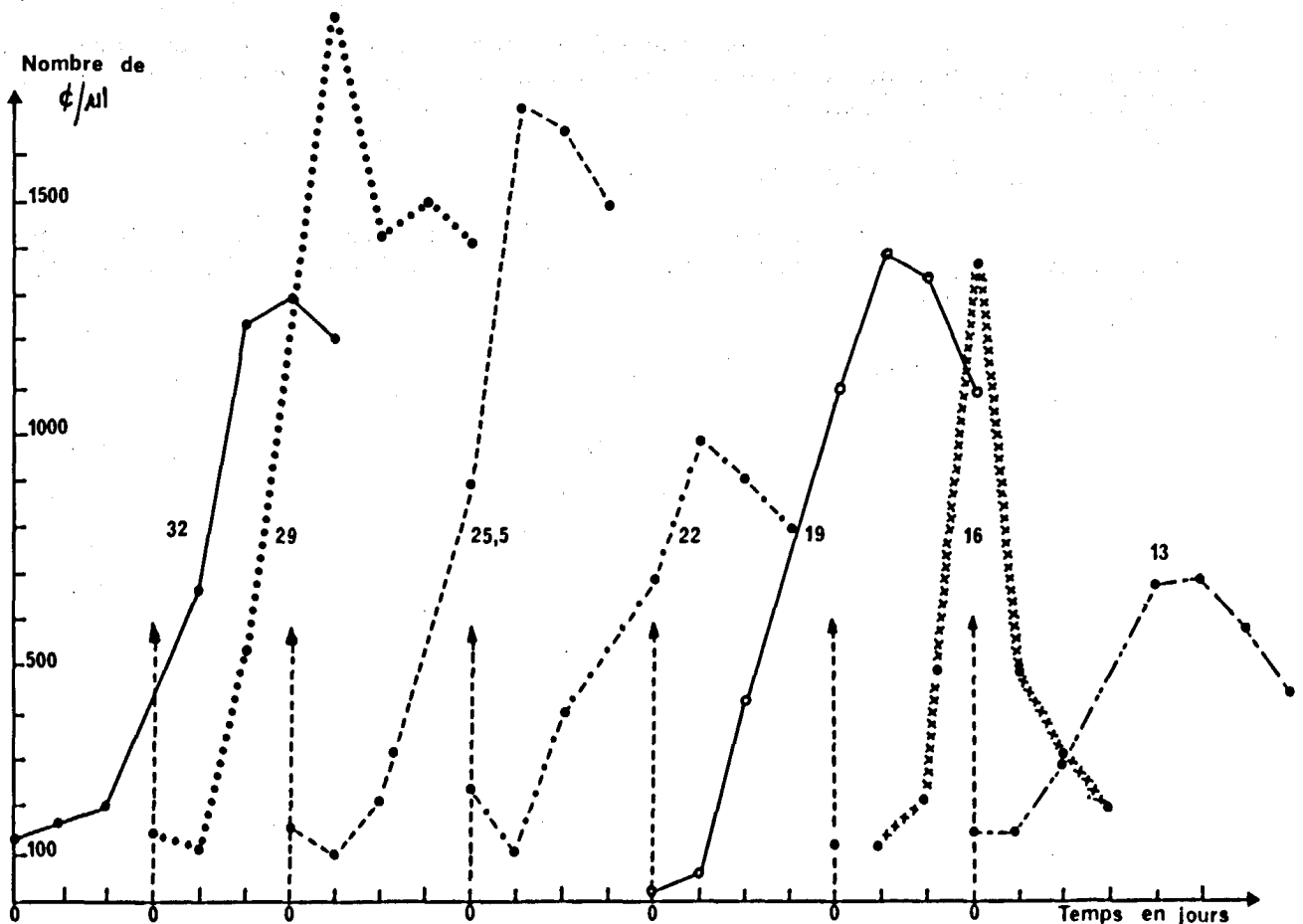


Fig. 9 : Multiplication de Tetraselmis suecica à différentes salinités.

Ces tests de salinité nous ont permis de déterminer l'optimum salin pour chacune des espèces ; il est d'environ 22 o/oo, ce qui nous permet de diluer l'eau de mer (32 o/oo) par un tiers d'effluent domestique.

### 1.1.2. Milieux employés

a) Le milieu de référence est le milieu mis au point par Walne à Conway en 1966.

Na <sub>2</sub> E.D.T.A.	45 mg/l.	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33 mg/l.	
NaNO <sub>3</sub>	100 mg/l.	16,5 mg N = 1180 µatg/l.
NaHPO <sub>4</sub> , 2 H <sub>2</sub> O	20 mg/l	12,2 mg PO <sub>4</sub> = 130 µatg/l.
MnCl <sub>2</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	0,36 mg/l.	
FeCl <sub>3</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	1,3 mg/l.	0,27 ppmFe
ZnCl <sub>2</sub>	21 µg/l	
CoCl <sub>2</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	20 µg/l	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	9 µg/l	0,5 ppb
Cu SO <sub>4</sub> , 5 H <sub>2</sub> O	20 µg/l	0,5 pp <sup>b</sup>

Tous les éléments indispensables à la croissance sont présents (nitrates, phosphates, chélateurs, vitamines et oligo-éléments). Ce milieu est stérilisé à 120°C pendant une heure.

### b) Milieu résiduaire

L'effluent prélevé à la sortie de la station municipale d'épuration a une composition assez variable due essentiellement à la variation saisonnière de la population.

#### - Composition chimique

Nitrates	0,1 à 0,3 mg/l. N	= 7 à 21 µatg/l.N
Nitrites	0,01 à 0,03 mg/l.N	0,7 à 2 µatg/l.N
Ammoniaque	20 à 40 mg/l.N	1430 à 2860 µatg/l.N
Phosphates	2 à 20 mg PO <sub>4</sub>	20 à 200 µatg/l.P
Phosphore	15 à 20 ppm	
Cuivre	1000 à 1300 ppb	
Fer	4 à 5 ppm	

Le taux des détergents anioniques est compris entre 40 et 200 µg/l. Ces variations aussi grandes qu'imprévisibles sont sous la dépendance de la fréquentation touristique de la ville.

- Caractéristiques bactériologiques

Les principaux germes terrigènes ont été dénombrés dans le milieu résiduaire ; leur taux très élevé ne permet pas la culture d'algues unicellulaires.

Bactéries aérobies/ lml .....	1 890 000
" anaérobies/ lml.....	114 000
coliformes/ 100 ml.....	2 500 000
Escherichia coli/ 100 ml.....	2 500 000
Streptocoques fécaux/ 100 ml.....	600 000
Clostridium sulfito réducteurs/ 100 ml.....	17 000

- Vieillessement du milieu

Pour limiter l'abondance de ces germes, nous avons été amenés à réduire le nombre de germes dans le milieu constitué par un mélange d'eau de mer et d'effluent, en le soumettant à une oxygénation à saturation pendant une dizaine de jours.

	t <sub>0</sub>	t + 7 jours	t + 12 Jours
Bactéries aérobies .....	1 890 000	9 600	3 000
anaérobies.....	114 000	49	88
coliformes .....	2 500 000	250	25
Escherichia coli .....	2 500 000	6	10
Streptocoques fécaux .....	600 000	130	0
Clostridium sulfito-réducteurs	17 000	1 000	2 500

Pendant le même temps, la composition minérale du milieu a sensiblement évolué.

	t <sub>0</sub>	t + 7 jours	t + 12 jour
Nitrates .....	0,70 mg.	0,54 mg.	1,20 mg/l.
Nitrites.....	0,03mg/l.	0,085 mg.	0,35 mg/l
Ammoniaque .....	14 mg/l.	0,10 mg/l.	0,03 mg/l.
Phosphates .....	8,8mg/l.	0,21 mg/l.	0,72 mg/l.

c) Comparaison des deux milieux

Les mêmes éléments se retrouvent dans les deux milieux, mais leur taux est très différent. Le milieu témoin, stérile, contient environ 1,2 matg/l. d'azote alors que le milieu résiduaire, au moment de son utilisation n'en contient que 80 matg/l, soit 15 fois moins.

Pour les phosphates, nous enregistrons la même différence : 130matg/l. P. alors que le milieu "résiduaire" n'en renferme que 34,7 matg/l. soit 4 fois moins.

1.2. Etude comparée de la production primaire sur milieu témoin et sur milieu résiduaire.

1.2.1. Milieu témoin.

Les différentes souches d'algues ont été cultivées simultanément sur milieu de Conway et sur milieu résiduaire, à la salinité de 22 o/oo avec les mêmes conditions d'éclairement et d'oxygénation.

a) Paramètres physico chimiques

Au cours de la culture le pH s'élève progressivement alors que les substances minérales N et P diminuent lentement. Cette évolution est conforme à l'accroissement de la culture d'algues qui absorbent ces substances (Tableau n° 5).

b) Paramètres bactériologiques

Nous dénombrons une quantité importante de germes aérobies dans le milieu témoin qui a été stérilisé avant sa mise en culture. Ces germes proviennent de l'inoculum car nous ne possédons pas de culture bactéria-free.

Le taux des bactéries reste sensiblement stable au cours de la culture.

Temps en jours	MILIEU TEMOIN:		
	1	3	5
Bactéries aérobies / 1 ml	1040	200	2000
anaérobies / 1ml.	10	0	60
coliformes/100ml.	6	0	25
Escherichia coli/100 ml.	6	0	25
Streptocoques fécaux/100 ml.	0	0	0
Clostridium sulfito-réducteurs /100 ml.....	5	0	0
Cellules algales	846	7400	7260
pH	8,20	8,80	9,2
Nitrates mg N/l.	17	14,5	10,5
Nitrites mg N/l	0,10	0,07	0,05
Ammoniaque mg N/l.	0,32	0,04	0,70
Phosphates mg PO <sub>4</sub> /l.	13,90	12,30	5,62

Tableau n° 5 : Evolution bactériologique et variations physico-chimiques d'une culture de Monochrysis lutheri sur milieu de Conway.

c) Productivité

La productivité a été calculée en poids sec pour les salinités fournissant une grande densité de cellules.

Salinité	Densité g/pl.	Poids frais mg/l.	Poids sec mg/l.	% du poids frais	Poids sec (1000 g/pl) mg/l
19	2 100	2 950	750	25	357
25,5	2 300	2 150	600	28	260
32	5 400	2 000	500	25	92

Tableau n° 6 : Productivité algale sur milieu témoin.

La productivité est en rapport inverse avec la salinité. Il est donc préférable d'utiliser un milieu dilué produisant une plus grande quantité de substances organiques utilisée pour l'alimentation..

Analyse minérale.

	C %	H %	N %
Monochrysis	51	6,5	6,7
Tetraselmis	42	6,3	7,7

Une différence importante est enregistrée entre les deux espèces d'algues pour les taux en carbone et en azote.

1.2.2. Milieu résiduaire

a) Petits volumes (10 à 20 l.)

- Paramètres physico-chimiques

Le pH des cultures en milieu résiduaire augmente de la valeur 8 jusqu'à un maximum de 8,8 pour diminuer jusqu'à 8,1 au moment de la mort des cellules. Comme l'ont démontré Cramer et Meyers (1948) cette augmentation de pH est consécutive à la destruction des nitrates. La réduction du taux des nitrites et de l'ammoniaque n'intervient qu'après épuisement des nitrates.

- Paramètres bactériologiques

Au cours de la culture, la densité de tous les germes régresse sauf au début, car nous avons un apport de germes par l'inoculum.

Les Clostridium sulfito-réducteurs sont de beaucoup les plus résistants. Malgré une oxygénation importante les germes aérobies sont également en régression importante.

Temps en jours	1	3	5	13	16	19
Bactéries aérobies/ 1ml.	1120	400	400	512	358	264
anaérobies/1ml.	84	10	10	3	7	26
coliformes/100ml	60	250	0	0	0	0
Escherichia coli/100 ml	6	6	0	0	0	0
Streptocoques fécaux/100 ml.	13	25	0	0	0	0
Clostridium sulfito-réducteurs:100ml.	1000	900	200	25	50	0
Cellules algales	612	2580	3320	7000	2000	1800
pH	8,34	8,50	8,8	8,1	8,1	8,57
Nitrates mg N/l	2,1	6,0	2,2	0	0,1	0,10
Nitrites mgN/l.	0,16	0,14	0,28	0	0	0,04
Ammoniaque mgN/l.	1,4	0,04	0,17	0	0	0,08
Phosphates mgPO <sub>4</sub> /l.	3,2	3,05	4,55	0,54	2,3	3,6

Tableau 7 : Evolution bactériologique et variations physico-chimiques d'une culture de Monochrysis lutheri sur milieu résiduaire.

- Productivité

Sur milieu effluent, une culture de densité 1960  $\text{C}/\mu\text{l}$ . a produit un poids frais de 2 510 mg/l. et un poids sec de 650 mg/l., soit, 330 mg/l pour 1000 cellules/ $\mu\text{l}$ .

Les éléments majeurs ont été dosés sur Monochrysis et Tétraselmis cultivés sur milieu résiduaire :

	C %	H %	N %
Monochrysis	48,7	7,20	7,40
Tétraselmis	41,4	6	4,2

Tableau n° 8 : Productivité sur milieu résiduaire



## b) Culture algale en grands volumes et en continu

Ces cultures sont toujours effectuées à partir d'un mélange d'eau de mer vieillie et de milieu résiduaire frais, oxygéné pendant une semaine pour réduire la densité des bactéries.

- L'espèce Tetraselmis se cultive facilement en grand volume (700 litres) et en éclairage naturel, en période estivale. La densité cellulaire ne dépasse pas 800  $\text{C}/\mu\text{l}$ , mais peut se maintenir très longtemps. Les variations de densité correspondraient à des variations de l'intensité lumineuse.

Cette culture a pu être menée de façon continue en augmentant progressivement le volume, chaque jour un prélèvement de 20 % est compensé par un apport de 30% de milieu neuf.

Tous les essais effectués ont été positifs bien que l'effluent soit très peu épuré à cette époque à cause de la saturation de la station de traitement. Il semble que les rayons U.V. du soleil aient un effet stérilisant, bien que les bacs soient largement ouverts à l'air libre, ils ne sont pas contaminés par les bactéries mais seulement par des diatomées ou des zoospores de Volvocales.

- L'espèce Monochrysis lutheri arrive à une densité cellulaire équivalente à celle obtenue en bonbonnes de 20 litres (1400  $\text{C}/\mu\text{l}$ , mais le maintien au bloom est de faible durée, car le milieu est rapidement envahi par des diatomées (Phaeodactylum, Nitschia, etc.) qui deviennent rapidement dominantes. De même des levures se forment sur les parois et nécessitent de fréquents nettoyages.

### 1.2.3. Discussion

#### a) Comparaison physico chimique

Dans les deux milieux, le pH évolue de la même façon, au cours de la phase exponentielle, le milieu devient plus alcalin, pour diminuer au cours de la phase stationnaire.

Les composés minéraux présents dans le milieu de Conway diminuent progressivement au cours de l'accroissement de la culture. Cette évolution n'est pas aussi régulière dans le milieu résiduaire, car la destruction des germes libère des nitrates et des phosphates.

#### b) Comparaison bactériologique

La densité des germes terrigènes est importante dans la culture test, mais l'oxygénation détruit intensivement leur nombre dans les deux milieux. Seuls, les germes aérobies maintiennent leur densité sans l'accroître malgré l'abondance d'oxygène. Les germes sulfito-réducteurs sont également très résistants.

c) Les rendements en matière sèche sont comparables pour une même densité cellulaire, bien qu'en valeur absolue la production soit inférieure de 13% pour des conditions de culture identiques.

D'autre part, les algues produites sur milieu résiduaire sont moins riches en azote : 9 % pour Monochrysis et 45 % pour Tetraselmis. Cette déficience en azote, donc en protéines, entraîne une réduction de la valeur alimentaire de l'aliment produit.

## CONCLUSION

Le vieillissement du milieu constitué par de l'eau de mer enrichie en effluent constitue un facteur important de l'épuration du milieu. Le taux de germes terrigènes est très réduit et les particules en suspension sédimentent lentement.

Par cette opération, le milieu est enrichi en éléments minéraux N et P provenant de la dégradation des microorganismes. Certaines bactéries marines assureraient la nitrification du milieu. Les éléments limitants seraient principalement la température, l'oxygénation et l'intensité lumineuse.

Les algues produites de cette façon produisent un aliment possédant qualités nutritives à celles des algues cultivées sur milieu témoin, mais ceci est compensé par le fait qu'elles peuvent être produites à bon marché en très grandes quantités.

### 2. PRODUCTION SECONDAIRE

Le but de la culture en masse d'algues unicellulaires sur milieu résiduaire est l'élevage de larves de mollusques filtrants et du naissain qui serait alimenté par une nourriture abondante et peu coûteuse.

#### 2.1. Matériel et Méthodes

Les expérimentations ont été réalisées principalement sur la moule *Mytilus edulis* et les huîtres (*Crassostrea gigas*, *Ostrea edulis*). Les fécondations ont été obtenues après stimulation thermique des géniteurs.

##### 2.1.1. Régime alimentaire des larves

Chaque jour, les larves reçoivent la même quantité d'algues de l'espèce *Monochrysis lutheri* dont la densité cellulaire est voisine du "bloom".

- Le lot témoin est nourri d'algues produites sur milieu de Conway. Les animaux reçoivent les algues et leur milieu de culture.

- un lot test reçoit la même quantité d'algues produites sur milieu résiduaire, mais centrifugées et lavées pour éliminer au mieux les bactéries du milieu résiduaire ayant résisté à la destruction par oxygénation.

- un deuxième lot test est alimenté de la même manière, mais le culot d'algues est complété par un apport de vitamines B<sub>1</sub> et B<sub>12</sub> identique à celui utilisé dans la confection du milieu de Conway. Aucun antibiotique n'a été utilisé pour ces élevages.

##### 2.1.2. Naissain

Après la métamorphose, les algues cultivées sur milieu résiduaire ne sont pas isolées et lavées. La quantité fournie n'est plus constituée d'une seule espèce, mais par un mélange de *Monochrysis lutheri*, *Tetraselmis suecica* et *Phaeodactylum tricornum*. Cette alimentation n'est plus enrichie en vitamines comme dans le cas des larves.

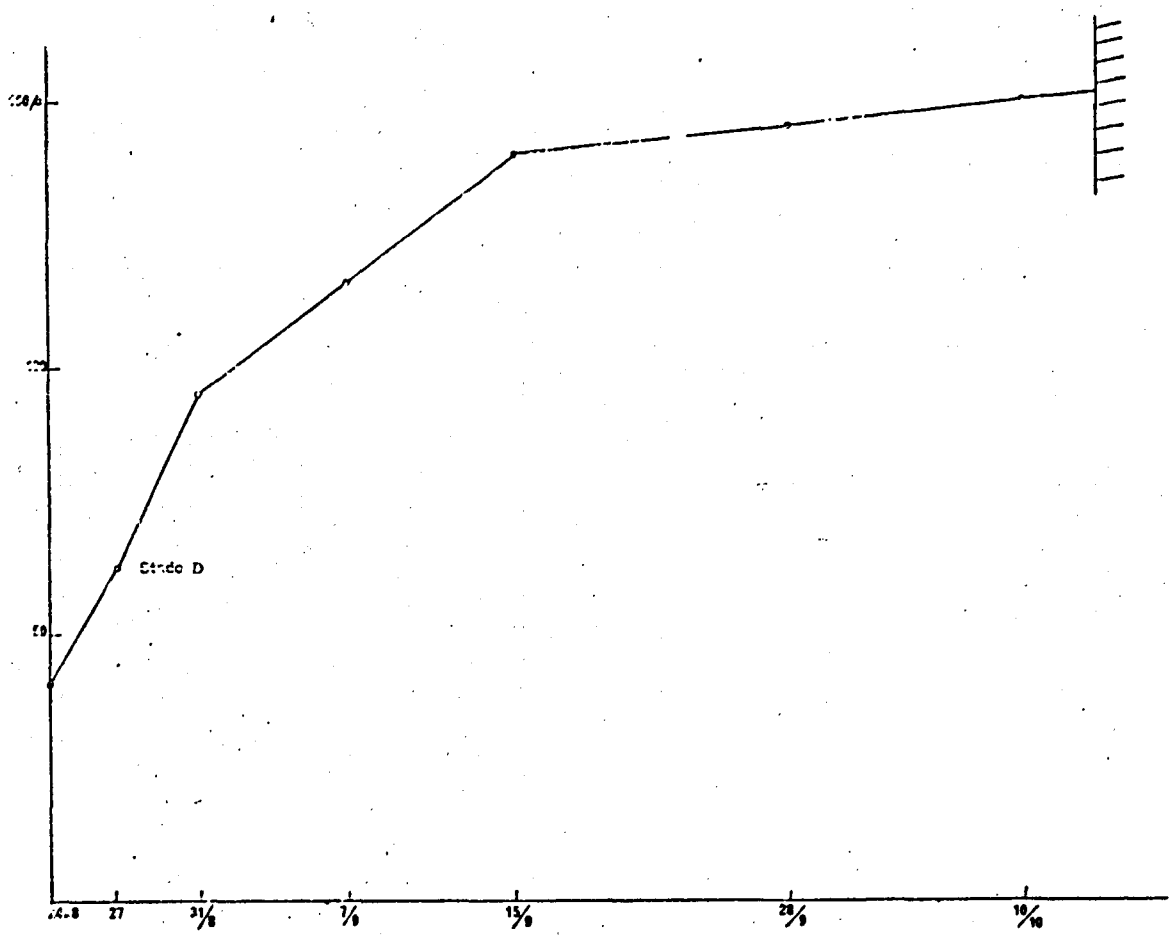


Fig. 10 - Croissance d'huîtres (Crassostrea gigas) sur algues de milieu résiduaire

### 2.1.3. Adultes

Qu'il s'agisse de moules ou d'huîtres, les adultes reçoivent généralement des algues de milieu résiduaire, lors du conditionnement en vue de la reproduction.

## 2.2. Résultats

### 2.2.1. Larves

Les premiers essais menés sur l'espèce Crassostrea gigas n'ont pu dépasser les premiers stades de la vie larvaire, alors que pour l'espèce Mytilus edulis nous avons obtenu des larves viables qui ont évolué lentement jusqu'au stade de la métamorphose, malgré une mortalité très importante : environ 60% pendant le premier mois d'élevage. Le tableau n° 9 montre l'évolution de la taille des larves sur les différents milieux. L'alimentation uniquement constituée d'algues de milieu résiduaire entraîne un léger retard de la métamorphose, alors que le milieu supplémenté en vitamines suit une évolution parallèle à celle du milieu témoin.

Dates	Témoins	Effluent	Effluent + vitamines
17.02.78	Fécondation	F.	F.
20.02	103	100	100
28.02	115	108	108
06.03	128	112	110
10.03	133	112	112
28.03	150	133	134
31.03	170	148	148
06.04	215	171	170
12.04	240	200	240
17.04	240	240	240
19.04	véligère oeuillée		Vélig.Oeuillée
24.04	250 Métamorphose	240 Vélig. Métamorph.	Métamorphose
02.05	-	-	-
02.05	335	335	335
12.05	570	830	760
18.05	750	1100	950
31.05	1050	1525	1850

Tableau n° 9 - Croissance des larves de Mytilus edulis sur différents milieux. (tailles en microns)

### 2.2.2. Naissain

Sur le tableau précédent ( n°9) le naissain du lot témoins a une croissance plus lente que celle des lots tests. Le lot recevant un supplément en vitamines a une croissance très importante. Il est intéressant de noter que le lot recevant une alimentation de type résiduaire pur s'est métamorphosé

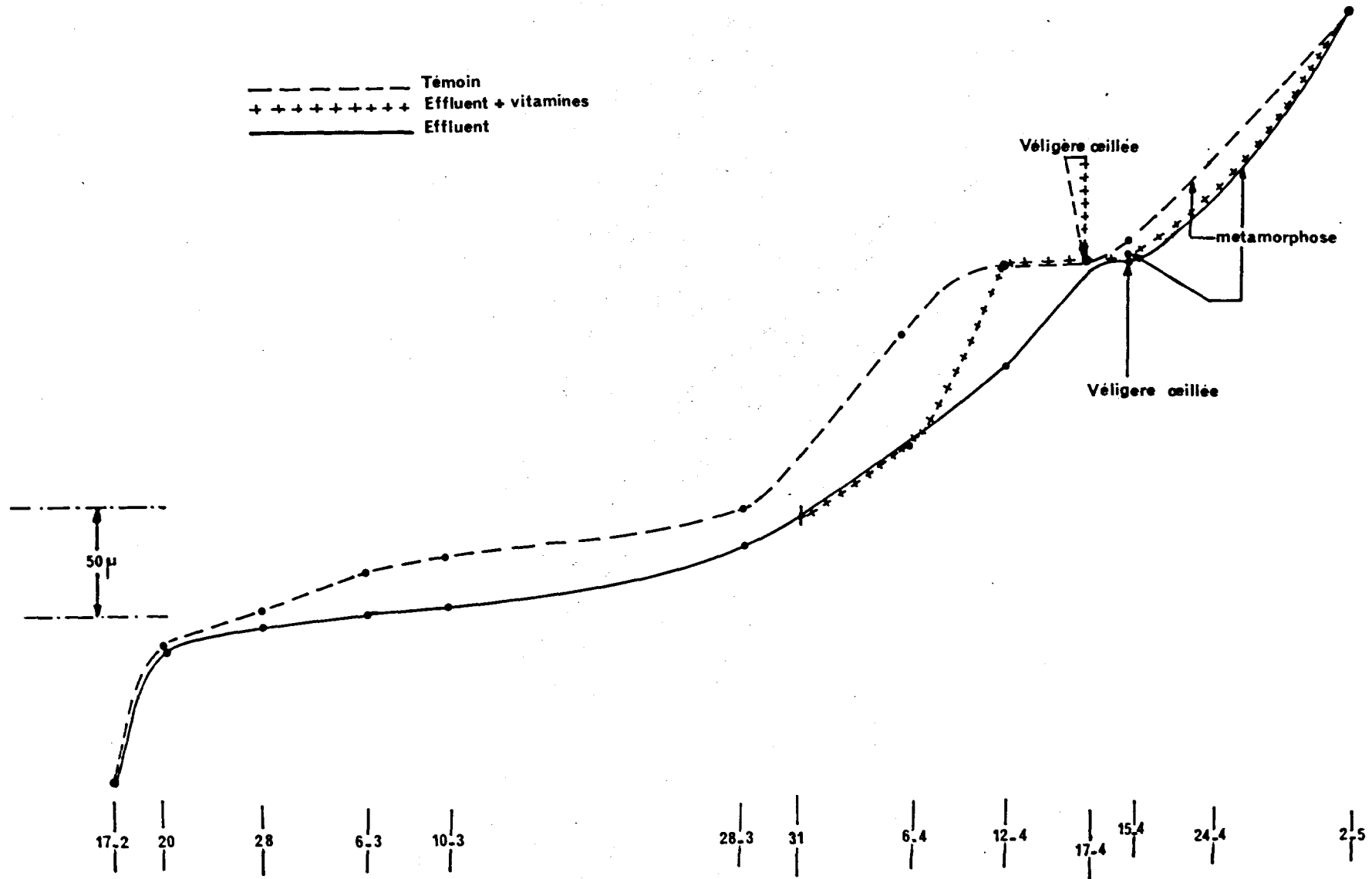


Fig. 11 : Croissance des larves et des juvéniles de moules Mytilus edulis.

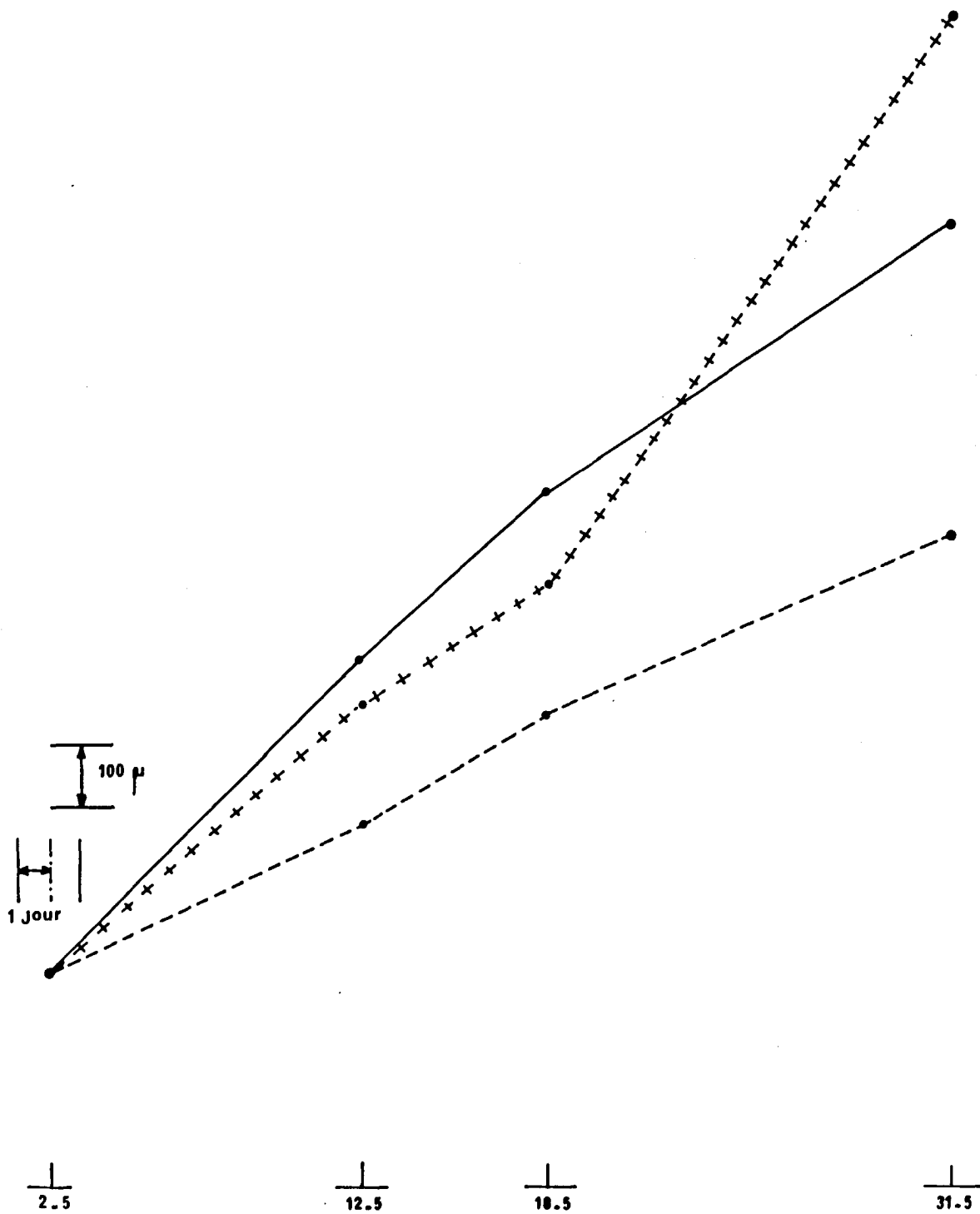


Fig. 12 : Croissance de juvéniles de Moules (*Mytilus edulis*) sur des algues de milieu témoin et de milieu résiduaire.

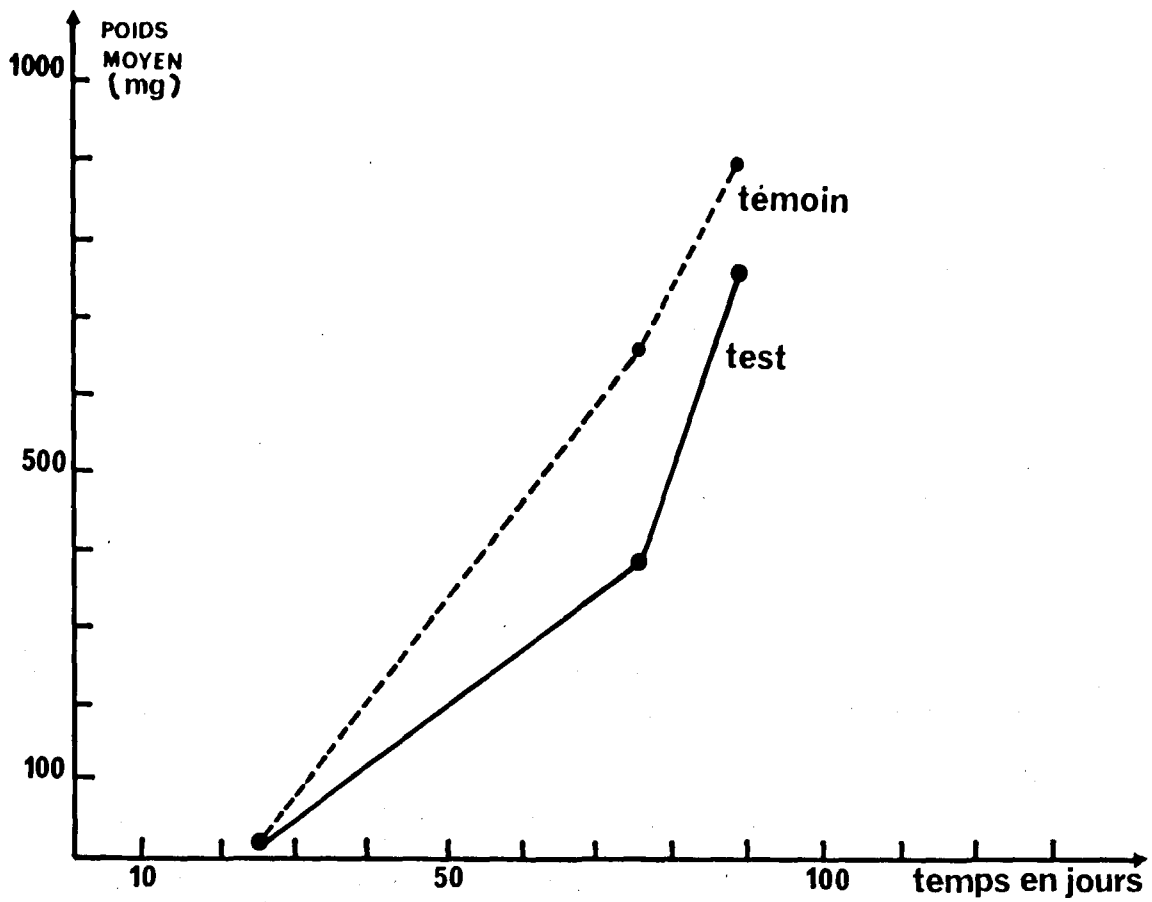


Fig. 13 : Croissance pondérale du naissain de Mytilus edulis

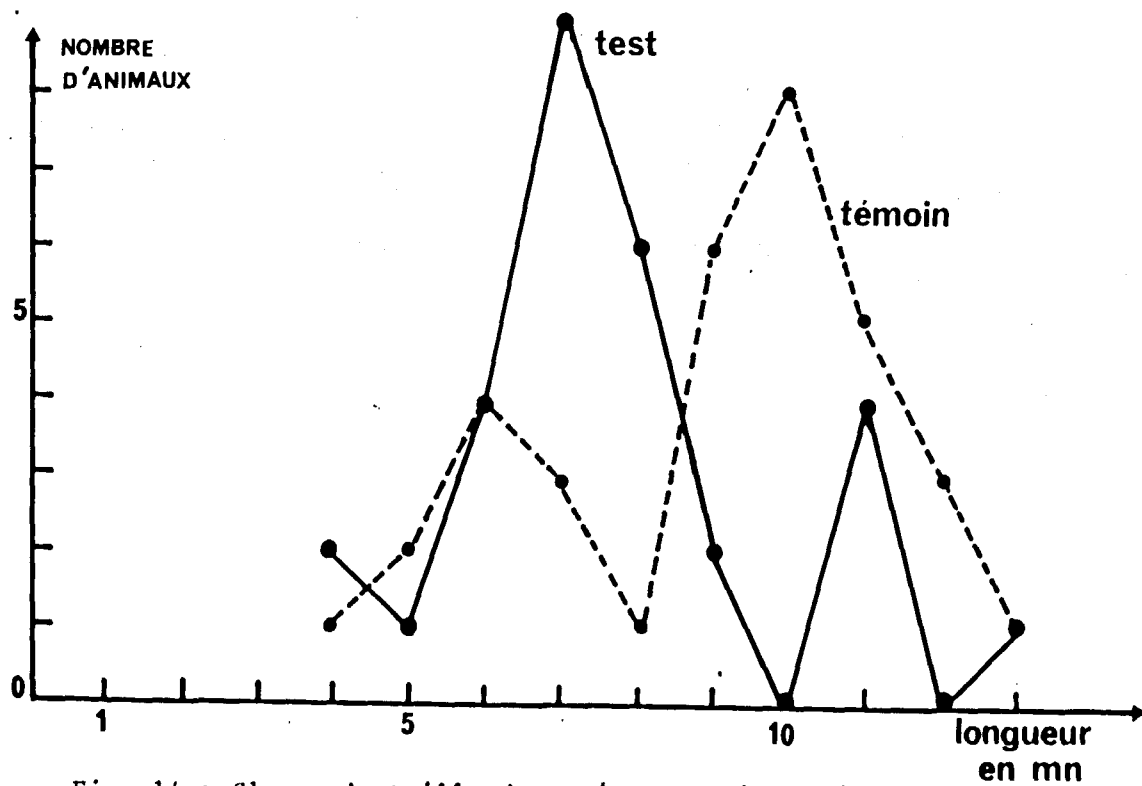


Fig. 14 : Classe de taille des animaux après 90 jours.

plus tard que le témoin, mais sa croissance est ensuite plus rapide.(Fig.12).

- Sur du naissain obtenu en milieu stérile, la croissance des animaux nourris sur milieu résiduaire est ici inférieure à celle des animaux nourris avec algues témoin. Ces résultats obtenus sur quatre mois d'élevage montrent que la croissance pondérale et linéaire obtenue par alimentation avec Tetraselmis sur le milieu avec effluent est plus faible que celle obtenue avec des algues cultivées sur milieu synthétique. L'analyse minérale a montré que ces dernières étaient plus riches en azote (donc en protéines que les premières.

### 2.2.3. Adultes

#### a) Moules Mytilus edulis et M.galloprovincialis.

L'alimentation intensive par Tetraselmis suecica obtenu sur milieu effluent a permis une croissance satisfaisante des moules du même ordre que dans les stations naturelles.

Pendant les mois d'été, ces moules ont présenté un développement normal du tissu de réserves (cellules vésiculeuses et cellules adipo-granuleuses). La durée du stade de repos sexuel (Stade 0) a été normale et les phénomènes de gamétogenèse ont repris en octobre (Stade I) comme dans les stations naturelles.

#### b) Ostrea edulis.

La croissance sur algues de milieu résiduaire a été comparable à ce qu'elle était dans les stations naturelles. Les individus soumis au conditionnement thermique recevaient une importante quantité d'algues cultivées sur milieu résiduaire (Tetraselmis). Les larves obtenues étaient toutes viables, les émissions larvaires comprises entre  $7 \times 10^5$  à  $15 \times 10^5$  avec une moyenne de  $9 \times 10^5$ . Le taux de métamorphose (75 à 90 %) a donné du naissain d'excellente qualité qui a été soumis pendant 2 mois au même régime. Les jeunes huîtres ont présenté une croissance excellente après repiquage en pochons dans les parcs de St-Vaast.

## CONCLUSION

Nous avons montré qu'à partir des rejets des stations d'épuration, il était possible de produire en grande quantité des algues unicellulaires permettant l'élevage de larves et de naissain de mollusques filtrants.

Si la valeur alimentaire des produits obtenus est moins riche que celle des algues cultivées sur milieu témoin, l'aliment peut être produit de façon intensive et à peu de frais.

La mise en application de ce procédé permettrait de cultiver des algues unicellulaires dans de grands bassins d'épuration, de la taille de marais salants proches de sites naturels riches en mollusques filtrants. Cette technique pourrait également permettre l'aménagement du littoral, d'autant plus que bon nombre d'émissaires urbains aboutissent à la mer. Le contrôle de ces effluents limiterait également la pollution de zones devenues insalubres.

Cette technique particulièrement rentable dans les zones méridionales pourrait permettre la production d'algues qui, après lyophilisation, constitueraient une réserve de nourriture pour les périodes hivernales et utilisable par le naissain des éclosiers.



## BIBLIOGRAPHIE

- ATKINS W.R.G. - 1973 - The phosphate content of fresh and salt waters in its relationship to the growth of algal plankton. Marine Biol. Ass.U.K. jour. V (13), 119-150.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., MAESTRINI S.Y., POINTIER J.P. - 1973 - Etude de la fertilité des eaux marines au moyen des tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. II. Limitation nutritionnelle et viabilité de l'inoculum. Intern. Rev.Ges.Hydrobiol, Dtsch (1973), 58, n° 2, 203-220.
- DUNSTAN W.M., MENZEL D.W. - 1974 - Continuous culture of natural populations of phytoplankton in dilute treated sewage effluent. Limnol. Oceanogr., 16 (4), 623-632.
- DUNSTAN W.M., TENORE K.R. - 1974 - Control of species composition in enriched mass cultures of natural phytoplankton populations. J. appl.Ecol. 11 : 2, 529-536.
- GOLMAN J.S., TENORE K.R., RYTHER J.H., CORWIN N. - 1974 - Inorganic nitrogen removal in a combined tertiary treatment marine aquaculture system. I. Removal efficiencies. Water Research, 8 (1) : 45-54
- GOLMAN J.S., TENORE K.R., STANLEY H.I. - 1974 - Inorganic nitrogen removal in a combined tertiary. II. Algal bioassays. Water Research, 8 (1), 55 - 59.
- HARVEY H.W. - 1926 - Nitrates in the sea. Marine Biol. Ass.V.K.Journal V, 14 71-88.
- HUGUENIN J.E. - 1975 - Development of a marine aquaculture research complex. Aquaculture Netherl, 5 (2), 135-150.
- JAMISON D.W., BESWICK R.A. - 1972 - The future of seaweed culture in the state of Washington in : Proc. 7 th int.Seaweed sumpo.Sappora Japon (1971) Tokio Univ. Tokyo press (1972), 346-350.
- KOSARIC N., NGUYEN H.T., BERGOUGNOU M.A. - 1974 - Growth of spirulina maxima algae in effluents from secondary waste-water treatment plants. Bio-technol. and Bioengng. U.S.A. 16 (7) : 881-896.
- MAC GARRY (M.G. - 1972 - The technology of mass algal culture from wastes. In : Proc. 7 th int. seaweed symo : Sapporo Japon 1971 Tokyo Univ. Tokyo press (1972), 401-404.
- ØSWALD W.J., GOLUEKE C.G. - 1967 - Harvesting and processing of waste grown micro algae in D.F. Jackson (ED) Algae, Man and the environment. (Syracuse), p. 371-389.
- POUVREAU B. - 1977 - L'huître plate Ostrea edulis L : maturité sexuelle contrôlée, élevage larvaire, croissance et mortalité, variabilité génétique. Thèse de 3ème cycle - Université de Caen, 114 pages.

- RYTHER J.H. - 1971 - Recycling human wastes to enhance food production from sea. Environnemental letters (2), 78-87.
- RYTHER J.H., DUNSTAN W.M., TENORE K.R., HUGUENIN J. - 1972 - Controlled eutrophication increasing food production from the sea by recycling human wastes. Bioscience, 22 (3) : 144-152).
- TENORE K.R., DUNSTAN W.M. - 1973 - Growth comparisons of oysters, mussels and scallops cultivated on algae growth with artificial medium and treated sewage effluent. Chesapeake Sci., 14 (1) : 64-66.
- TENORE K.R., HUGUENIN J.E. - 1973 - A flowing experimental system with filtered and temperature regulated sea-water. Chesapeake Sci., 14 (4), 280-282.
- TENORE K.R., GOLDMAN J.C., CLARNER J.P. - 1973 - The food chain dynamics of the oyster, clam and mussel in a aquaculture food-chain. J. Exp.Mar. Biol. Ecol., 12 (2), 157-165.
- VAN DER BORGH N.E., BUYERS A.G. - 1974 - Phosphate removal by algal systems. J. water. Pollut. Control. Feeder (USA), 46 (4) : 726-734.
- 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), v. 62.
- WEBBER H.H. - 1975 - Aquacultural ecosystems. Ann. New York Acad. Sci. (USA) 245 : 26 - 38.