

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>5</b>
<b>1. MATÉRIEL ET OPÉRATIONS DE MAINTENANCE/CALIBRAGE RÉALISÉES .....</b>	<b>6</b>
1.1. DESCRIPTION DU MATÉRIEL .....	6
1.1.1. Milieu de culture .....	6
1.1.2. L'inoculum .....	6
1.1.3. Fermenteur Airlift – 90 litres (LH fermentation) .....	7
Dimensions .....	8
1.1.4. Unité de thermocirculation .....	8
1.1.5. Système de mesure .....	11
1.2. OPÉRATIONS DE MAINTENANCE.....	11
1.2.1. Contrôle des sondes de mesure .....	11
1.2.2. Contrôle du bioréacteur.....	12
1.2.3. Contrôle en "salle des machines".....	14
1.2.4. Fonctionnement du thermocirculateur .....	16
1.2.5. Absence de recontamination .....	20
1.2.6. Remarques générales.....	21
<b>2. COEFFICIENT VOLUMÉTRIQUE DE TRANSFERT EN BIORÉACTEUR AIRLIFT.....</b>	<b>21</b>
2.1. PROBLÉMATIQUE .....	21
2.2. MODÉLISATION DU TRANSFERT D'O <sub>2</sub> À L'INTERFACE AIR/LIQUIDE .....	23
2.3. DÉTERMINATION DES RÉSISTANCES AU NIVEAU DE LA SONDE .....	25
2.3.1. Méthode d'évaluation expérimentale .....	25
2.3.2. Rapport de la résistance du film liquide sur la résistance de la sonde .....	26
2.3.3. Résultats.....	26
2.4. MÉTHODE DYNAMIQUE DE DÉTERMINATION DU K <sub>LA</sub> .....	27
2.5. RÉSOLUTION DE L'ÉQUATION DE TRANSFERT PAR LA MÉTHODE DES MOMENTS.....	28
2.5.1. Présentation de la méthode des moments .....	28
2.5.2. Application .....	30
2.5.3. Conditions d'agitation en airlift.....	33
1.1.2. Influence de la nature rhéologique du milieu sur le K <sub>La</sub> .....	35
<b>3. RÉALISATION D'UNE CULTURE D'EMBRYONS .....</b>	<b>35</b>
3.1. MÉTHODE .....	35
3.1.1. Inoculation .....	36
3.1.2. Eclaircissement des embryons .....	36
3.1.3. Paramètres suivis .....	37
3.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION PARTIELS .....	38

CONCLUSION.....	38
LÉXIQUE.....	39
TABLE DES DOCUMENTS.....	41
ANNEXES.....	43
BIBLIOGRAPHIE.....	58

La multiplication végétative du cafier est réalisable soit par des techniques *in vivo* de bouturage ou greffage, soit par micropropagation *in vitro*. Le bouturage étant limité par des coûts de production élevés (rapport du temps d'occupation des sols, de la main d'oeuvre nécessaire sur la quantité de plantes produites) et par un délai de disponibilité des plantes incompressible, on place de grands espoirs dans le développement des techniques de micropropagation. La plus prometteuse et celle qui nous intéressera ici est l'embryogénèse somatique.

Par un contrôle hormonal du métabolisme cellulaire, l'embryogénèse somatique permet la production de néo-plantules à partir de tissus adultes d'origines diverses (SONDAHL et al., 1985).

Dans le cadre d'une Embryogénèse Somatique Haute Fréquence (SONDAHL et al., 1985) (voir lexique), le passage par un stade de cellules totipotentes stables est la réponse aux contraintes évoquées au chapitre du bouturage : Leur pouvoir multiplicatif élevé peut accroître les capacités de production ; la possibilité de les conserver à basse température (cryoconservation) réduit les délais d'obtention (voir annexe 1). Elles sont en outre génétiquement manipulables : elles pourraient donc permettre la production de plants répondant à des problèmes plus spécifiques (maladie, tolérances environnementales...).

De nombreux travaux à échelle réduite ont été menés afin d'optimiser la technique de propagation en milieu liquide (BERTHOULY et al., 1996 ; SONDAHL et al., 1985 ; ZAMARRIPA et al., in Café, Cacao, Thé, 1991). Elle est maintenant bien maîtrisée et les cultures en erlenmeyer réalisées au Centro de Investigación Cientifica de Yucatan ont permis par exemple de produire 100 000 embryons/L. en 1 mois à partir d'1g./L. de cellules indifférenciées .

Afin d'augmenter les capacités de production, les premiers essais d'induction de l'embryogénèse en fermenteur ont débuté en 1991. Ce « scale-up » donne des résultats encourageants : en 8 semaines de culture en bioréateur 3 L., DUCOS et al. (1993) obtiennent une concentration de  $0,18 \cdot 10^6$  embryons.L<sup>-1</sup> avec un taux de conversion sous forme torpille de 70% (voir lexique).

Les cellules totipotentes à potentiel embryogéné qui constituent l'inoculum peuvent être produite en quantité suffisante pour passer à un stade supérieur de production. Sur la base des travaux de DUCOS et al. (1993), nous nous proposons donc d'évaluer les capacités d'induction en fermenteur pilote Airlift de 90 Litres.

Cette technologie est reconnue pour sa faible consommation énergétique, un taux de transfert en O<sub>2</sub> supérieur et des contraintes de cisaillement inférieures à d'autres types d'installations (CHISTI, 1989). Notre objectif comporte 3 étapes : Le démarrage du réacteur , l'adaption des paramètres optimaux définis en fermenteurs à agitation mécanique (DUCOS et al., 1993 ; ZAMARRIPA et al., in Café, Cacao, Thé, 1991) et la première évaluation des possibilités qu'offre cette configuration.