

PREPARATION DU PROVASOLI *

Complément nutritif pour Eau de Mer : PES (Provasoli Enrichissement SeaWater).

➤ Préparation du Provasoli à partir des solutions mères :

- Solutions mères : préparées séparément, autoclavées (120°C-2h) et conservées à 4°C dans des bouteilles en verre (attention solution 2 : utiliser une bouteille foncée ou mettre de l'aluminium pour protéger de la lumière).

Solution 1 – 10X (préparer 1 litre) :

Substance	Quantité de matière	Quantité pour 1 litre (g/l)	Masse Molaire (g/mol)
H ₃ BO ₃	30.7mM	1.9	61.83
FeCl ₃	0.3mM	0.05	162.21
MnSO ₄ (H ₂ O)	1.6mM	0.273	169.02
ZnSO ₄ (7 H ₂ O)	0.127mM	0.0367	287.54
CoSO ₄ (7 H ₂ O)	28µM	0.008	281.10
EDTA	5.7mM	1.67 ml	292.24
	0.5 M pH8	11.4 ml	

Remarque : l'EDTA ne se dissout qu'à partir du pH 8.

Solution 2 – 100X (préparer 500 ml) :

Substance	Quantité pour 1 litre (g/l)	Quantité pour 500 ml	Masse molaire (g/mol)
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0.0067	0.0034 g	1355,36
VitamineB1 (thiamine hydrochlorid)	0.33	0.165	337.27
Biotine C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S	0.0033	0.0017	244.31
TRIS = Tryma base C ₄ H ₁₁ NO ₃	333.0	166.5	121.14

Solution 3 – 10X (préparer 1 litre) :

Substance	Quantité de matière	Quantité pour 1 litre (g/l)	Masse molaire (g/mol)
(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ (6H ₂ O)	3mM	1.17 g/litre	392.14
EDTA 0.5 M pH8	3.4mM	6.8 ml	292.24

Solution 4 – 10X (préparer 1 litre) :

Substance	Quantité de matière	Quantité pour 1 litre (g/l)	Masse molaire (g/mol)
NaNO ₃	270 mM	23 g	84.99

Solution 5 – 10X (préparer 1 litre) :

Substance	Quantité de matière	Quantité pour 1 litre (g/l)	Masse molaire (g/mol)
C ₃ H ₇ Na ₂ O ₆ P (5H ₂ O) glycérophosphate de sodium	15.4 mM	3.33	216.04

* Starr, R.C. and Zeikus, J.A. (1993). UTEX-The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. J. Phycol. 29 (suppl.), 1-106.

- Aliquots :
 - mélanger les solutions (pour 1 litre de PES, 100 ml des solutions 1-3-4-5 et 10 ml de la solution 2) avec 400 ml d'eau milliQ,
 - ajuster à pH 7.8 (avec HCl concentré 37% - pH de départ entre 9.6-9.8),
 - ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau milliQ,
 - aliquoter dans des bouteilles en verre (bouteilles en verre 20, 50, 100, 200 ml),
 - autoclaver (120°C-2h) et conserver à 4°C.

➤ **Préparation directe de la solution de Provasoli :**

- préparer les solutions 1, 2 et 3 séparément (pour un volume final de 3 litres),

Solution 1 (préparer 500 ml)

H ₃ BO ₃	0.57 g	chauffer doucement pour dissoudre
FeCl ₃	0.015 g	utilisation possible de FeCl ₃ (6 H ₂ O) / 0,0245 g
MnSO ₄ (H ₂ O)	0.082 g	
ZnSO ₄ (7 H ₂ O)	0.011 g	
CoSO ₄ (7 H ₂ O)	0.0024 g	
EDTA	0.5 g	ne se dissout qu'à partir du pH 8

Solution 2 (préparer 500 ml)

Vitamine B12	0.0002 g
Thiamine	0.01 g
Biotine	0.0001 g
TRIS	10 g

Solution3 (préparer 400 ml)

(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ (6H ₂ O)	0.351 g	Bien diluer, ajouter environ 400 ml, puis rajouter l'EDTA pH 8
EDTA	0.3 g	Dissoudre l'EDTA pH 8

- mélanger les trois solutions (dans une bouteille en verre),
- ajouter :
 - ✓ 7g de NaNO₃,
 - ✓ 1 g de C₃H₇Na₂O₆P (5H₂O) glycérophosphate de sodium,
- ajuster à pH 7.8 (avec HCl concentré 37%),
- ajuster le volume à 3 litres,
- autoclaver la solution et conserver à 4°C.

➤ **Utilisation du Provasoli :**

- ajouter 10 ml de Provasoli pour 1 litre d'eau de mer filtrée,

- à noter que le protocole original recommande 20 ml de Provasoli pour 1 litre d'eau de mer filtrée : 10 ml est suffisant pour la croissance des macroalgues (comme *Ectocarpus sp.*).