Conseils de repiquage pour les cyanobactéries

Réfs. CYL., SYN. et MCN

La culture en conditions stériles est indispensable !

A RECEPTION DU COLIS :

A réception, les cyanobactéries ont été privées d'oxygène durant le transport, il est nécessaire de les oxygéner en ouvrant la bouteille près de la flamme d'un bec bunsen (pour éviter l'introduction d'un contaminant).

Si possible, remplacer le bouchon hermétique par du coton cardé stérilisé (exemple de fournisseur : Merck). Dans ces conditions et avec un éclairage constant et suffisant, les cyanobactéries peuvent se conserver plus de deux mois.

Eviter absolument de les conserver au réfrigérateur, la température ambiante convient bien.

CONDITIONS DE CULTURE

La multiplication des cyanobactéries est très longue même dans les conditions optimales.

Milieu de culture (réf : MCN) :

Le milieu pour la croissance des cyanobactéries est prêt à l'emploi.

En conditions stériles, ensemencer 10 ml d'une suspension de cyanobactéries bien agitée pour 100ml de milieu.

Température :

Entre 20 et 25°C.

Eclairement :

Constant ou 12h/12h. Eviter la lumière du soleil (l'effet loupe provoqué par une vitre provoque une élévation de température trop importante).

Cultiver les cyanobactéries dans un flacon stérile en verre afin que la luminosité soit suffisante. Les néons spécifiques à la culture végétale conviennent parfaitement, cependant, il est possible d'utiliser une lumière classique.

Oxygénation :

Elle est indispensable à la culture des cyanobactéries, il est donc exclu de les cultiver dans un flacon hermétiquement fermé. Utiliser du coton cardé stérile pour boucher le flacon, cela permet d'oxygéner le milieu tout en évitant l'entrée d'un contaminant.

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Les cyanobactéries possèdent un génome qui varie entre 10^6 et 10^7 paires de bases. Les formes unicellulaires ont un génome de taille comparable aux bactéries.

Ce génome bicaténaire et circulaire est nu et morcelé. Des introns interrompant les séquences codantes d'un gène ont été identifiés comme pour certaines bactéries, archaeobactéries ou comme l'ADN mitchondrial de certaines levures (*Saccaromyces cerevisae*).

Les cyanobactéries sont le plus extraordinaire exemple d'adaptation au milieu de culture. Leurs possibilités sont multiples :

- Elles sont unicellulaires ou filamenteuses, certaines sont mobiles mais elles sont dépourvues de flagelles. On parle de mobilité par glissement liée à une sécrétion de l'enveloppe mucilagineuse. Ces mouvements peuvent être dirigés vers une source lumineuse ou un gradient chimique.
- Elles peuvent également réguler leur densité grâce à la synthèse vacuoles de gaz et ainsi adapter leur profondeur en milieu liquide pour profiter des meilleures conditions d'éclairement.
- Certaines conditions du milieu peuvent induire des différenciations cellulaires qui concernent le métabolisme et la reproduction.
- Elles se développent lentement mais ont très peu de nécessités et peuvent de ce fait s'adapter aux milieux les plus rudes, seuls les milieux acides (pH<5) ne permettent pas la culture des cyanobactéries. 2,5 Milliards d'années d'évolution leur permettent de coloniser aussi bien les glaciers que les sources thermales où la température peut atteindre 70-80°C. Elles colonisent également les milieux très riches dit eutrophysés où le nombre d'espèces est très limitée alors que la biomasse de chacune est importante (espèces opportunistes).
- Ce sont des micro-organismes photosynthétiques qui convertissent l'énergie solaire en énergie chimique grâce à différents pigments, principalement des phycolibiprotéines : Allophycocyanines, Phycocyanines, Phycoérythrocyanines, Phycoérythrines.

La Synéchocystis :

Cyanobactérie unicellulaire de l'ordre des chroococales. Leur génome est circulaire.

Les cyanobactéries sont capables de photosynthétiser grâce à différents pigments chlorophylliens :

-Chlorophylle a verte

-Carotène orange

-phycoérythrine rouge

-phycocianine bleue

Cette souche possède la particularité de présenter une adaptation chromatique vis à vis de la lumière à différentes longueurs d'onde. Exposée à une lumière rouge, elle ne produit pas de phycoérythrine rouge et elle paraît verte. Sous lumière verte, elle produit en abondance la phycoérythrine rouge et paraît alors grise, on parle d'adaptation chromatique complémentaire. A la lumière naturelle, elle paraît gris sombre.

La Cylindrospernum :

Cyanobactérie filamenteuse de l'ordre des nostocales.

Elle possède la particularité de pouvoir différencier deux types de cellules spécialisées : Akinètes et hétérocystes (voir annexe 1).

Les akinètes sont de grosses cellules quiescentes à paroi épaisse résistantes à la dessication. Elles germent ensuite pour former de nouveaux filaments. C'est une forme de résistance à un milieu carencé. Les akinètes se trouvent en position sub-terminale sur le filament.

Les hétérocystes sont des cellules plus petites à paroi très épaisse. Ces cellules ont perdu leur phycolibosomes et leur photosystème II, elles synthétisent une nitrogénase permettant de fixer l'azote atmosphérique, ainsi les cyanobactéries peuvent coloniser des milieux très pauvres en azote. La culture de cette souche en milieu carencé en azote induit la différenciation en hétérocystes. Les hétérocystes se trouvent en position terminale sur le filament.