culture d’euglènes

publié le 20.02.02 |par roger prat, jean-pierre rubinstein

protocole de culture d’euglènes. passage d’un mode de vie autotrophe à un mode de vie hétérotrophe et inversement.

1. introduction

ce document répond à de nombreuses questions posées par les enseignants. les euglènes, pouvant vivre de manière autotrophe ou hétérotrophe, paraissent être le matériel idéal pour comprendre et analyser les notions fondamentales d’autotrophie et d’hétérotrophie. cependant :

- puisqu’il s’agit de l’adaptation d’un être vivant aux conditions du milieu extérieur, cet exemple est difficile à interpréter en termes de génotype d’une manière simple, car il faut faire intervenir des systèmes complexes d’adaptation.
- si la culture des euglènes ne pose pas de problème essentiel à la lumière (milieu minéral, autotrophie), le passage à l’hétérotrophie en milieu organique et à l’obscurité est plus difficile à réaliser.

2. composition du milieu de culture des euglènes

composition du milieu de culture des euglènes

produits	formules	par litre
hydrogénophosphate di-potassique	k_2hpo_4	0,5 g
sulfate de magnésium	$mgso_4, 7h_2o$	0,5 g
chlorure de calcium	$cacl_2, 2h_2o$	0,265 g
hydrogénophosphate de diammonium	$(nh_4)_2hpo_4$	0,5 g
perchlorure de fer en solution à 27 %	$fecl_3$	1 goutte
acide lactique	$c_3h_6o_3$	3 ml
vitamine b1 (solution à 0,1 g/100 ml)		1 ml
vitamine b12 (solution à 2 mg/l)		0,5 ml
solution x ($znso_4, 7h_2o$: 5 g/l + $mnso_4$: 4 g/l)		20 ml

ajuster le ph du milieu à 3,5 avec de la lessive de potasse, puis autoclaver le milieu pendant 30 minutes à 0,5 atmosphère.

le lactate peut-être remplacé par 3 ml d'éthanol à 95 °c. dans ce cas, faire le milieu sans lactate, ajuster le ph à 3,5 puis autoclaver. on rajoute l'éthanol, à la température de la pièce, avant de repiquer les cellules. je nomme ce milieu le milieu 0. il peut servir à cultiver des euglènes photo-autotrophes (à la lumière).

les produits utilisés proviennent des laboratoires merck ou sigma, sauf l'acide lactique qui est fabriqué par les laboratoires serva et revendu par la société boehringer ingelheim bioproducts (37 rue boissière 75116 paris, 01 44 34 65 65).

3. protocole d'adaptation des euglènes à la vie hétérotrophe

les euglènes de notre laboratoire sont cultivées dans ce milieu depuis 30 ans et sont donc fort bien adaptées. le remplacement du lactate par un autre substrat se fait sans problèmes. il faut cependant repiquer les cellules avec le nouveau substrat pendant plusieurs semaines (3-4) pour être sûr du résultat. le lactate peut-être remplacé par de l'éthanol (50 mm), du succinate (25 mm), de l'acétate (50 mm), etc.

l'adaptation des algues photo-autotrophes (cultivées sur milieu minéral sans substrat carboné) est plus longue. il faut les conserver à la lumière en les mettant progressivement en présence du substrat avec lequel on veut l'adaptation et compter les cellules en fin de culture.

les algues autotrophes se divisent généralement toutes les 24 h lorsqu'elles sont soumises à une alternance lumière/obscurité (16h/8h) qui les synchronise. elles atteignent, après 15 jours de culture, une concentration d'environ 500 000 algues.ml^{-1}. alors que cultivées en présence de lactate cette concentration est d'environ 3.10^{6} cellules.ml^{-1}. l'adaptation consistera donc à cultiver les euglènes à la lumière en présence d'une petite quantité de substrat, lactate 10 mm ou éthanol (1 ml par litre) pendant 2 semaines, puis, à compter les cellules et à repiquer de nouveau les euglènes dans les mêmes conditions jusqu'à l'observation d'une croissance cellulaire plus importante (environ 1.10^{6} cellules.ml^{-1}). à ce moment-là, on repique les algues en augmentant la quantité de substrat (20 mm lactate ou 2 ml d'éthanol) et on recommence l'adaptation. même protocole pour l'étape suivante, les algues sont adaptées lorsqu'elles atteignent un taux cellulaire d'environ 3.10^{6} cellules.ml^{-1} en une semaine, elles se divisent alors environ toutes les 12 heures. à ce moment-là, elles peuvent être transférées à l'obscurité.

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S)

roger prat

professeur de physiologie végétale à l'université pierre et marie curie.

jean-pierre rubinstein

botaniste à l'université pierre et marie curie.

MISE EN LIGNE

gilles furelaud

professeur agrégé de svt. il a été le responsable éditorial du site planet-vie de 2001 à 2004.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

