**Annexe : Milieux de cultures**

* 1. **Milieu LB (g/l)**

|  |  |
| --- | --- |
| -Extrait de levure | 5 |
| - Tryptone | 10 |
| - NaCl | 5 |
| - Agar | 15 |

* 1. **Milieu PDA (g/l)**

39g du potato dextrose agar (PDA) séché dans un litre d’eau distilée.

* 1. **Milieu optimal (opt)**

|  |  |
| --- | --- |
| - Saccharose  - Peptone  - Extrait de levure  - KH2PO4  **Solution d’oligo-éléments**  - CuSO4  -FeCl3.6H2O  -Na2MoO4  -KI  -ZnSO4.7H2O  -H3BO3  -Acide citrique  **Solution de Mn/Mg**  -MnSO4.H2O  -MgSO4 | 20  30  7  1,9  (mg.l-1)  0,001  0,005  0,004  0,002  0,014  0,01  10  (mg.l-1)  3,6  450 |

* 1. **Eau peptonée (g/l)**

|  |  |
| --- | --- |
| - Peptone de caséine | 1 |
| - Extrait de levure | 5 |
| - NaCl | 5 |
| - Tween 80 | 1ml |
|  |  |

* 1. **Milieu chitinase**

1g de chitine colloïdale+ 20 ml HCL 37%, incubation à T° ambiante environ 45-60min. Rajouter 100 ml d’éthanol pure, incubation à 4°C pendant une nuit. Filtrer la solution obtenue plusieurs fois par avec papier filtre à travers un entonnoir.

* 1. **Milieu protéase (g/l)**

|  |  |
| --- | --- |
| - Poudre du lait | 28 g |
| - Peptone de caséine | 5 |
| -Extrait de levure | 2.5 |
| -Dextrose | 1 |
| -Agar | 15 |

* 1. **Milieu cellulase (g/l)**

|  |  |
| --- | --- |
| -KH2PO4 | 1.0 |
| -MgSO4.7H2O | 0.5 |
| -FeSO4.7H2O | 0.01 |
| -NaCl | 0.5 |
| -MnSO4.H2O | 0.01 |
| -NH4NO3 | 0.3 |
| -Carboxymethylcellulose (CMC) | 10.0 |
| -Agar | 12.0. |

* 1. **TGE (g/l)**

|  |  |
| --- | --- |
| -Tryptone | 5 |
| -Glucose | 10 |
| -Beef extract | 3 |

* 1. **Chromazurol S (CAS)**

900ml de solution de base+1ml de SL7, pH ajusté à 6,8. La préparation est autoclavée à 121°C pendant 20min. La solution bleue est enfin rajoutée après refroidissement du milieu.

|  |  |
| --- | --- |
| **Solution de base** | **(g/l)** |
| -Tris (trishydroxymethylaminométhane) | 6,06 |
| -NaCl | 4,68 |
| -KCl | 1,49 |
| -NH4Cl | 1,07 |
| -Na2SO4 | 0,43 |
| -MgCl2.6H2O | 0,20 |
| -CaCl2.2H2O | 0,03 |
| -Na2HPO4.12H2O | 0,23 |
| -gluconate | 2 |
| -Pipes (piperazine-N, N′-bis2-ethanesulfonic acid) | 30,24 |
| -Agar | 20 |
| **Solution d’oligoéléments (SL7)** | **(g/l)** |
| -HCl (25%) | 1,3 ml |
| -ZnCl2 | 0,07 |
| -MnCl2.4H2O | 0,1 |
| -H3BO3 | 0,062 |
| -CaCl2.2H2O | 0,19 |
| -CuCl2.2H2O | 0,017 |
| -NiCl2.6H2O | 0,024 |
| -Na2MoO4 | 0,036 |
| **Solution bleue** | 0,065g de CAS +50 ml Eau distillée+10 ml (1Mm FeCl3.6H2O+10mM HCl+40 ml d’eau contenant 72,9 mg HDTMA :hexadecyltrimethylammonium. |

* 1. **Solution Hoagland's**

Dissoudre les composants de la solution A dans 998.75 ml de l’eau distillée, puis y rajouter 1 ml solution B et 0.25 ml de solution C

|  |  |
| --- | --- |
| **Solution A** | (Ml/L) |
| -1.00 M NH4H2PO4 | 1 mL/L |
| -1.00 M KNO3 | 6 mL/L |
| -1.00 M Ca(NO3 )2 | 4 mL/L |
| -1.00 M MgSO4 | 2 mL/L |
| **Solution B** | **(g/L)** |
| -H3BO3 | 2.86 |
| -MnCl2 .4H2O | 1.81 |
| -ZnSO4 .7H2 O | 0.22 |
| -CuSO4 . 5H2O | 0.08 |
| -H2MoO4 . H2O | 0.02 |

**Solution C**

26.1 g EDTA dissous dans 286 d’eau distillée +24.9 FeSO4.7H2O dissous dans 714ml d’eau distilée.