**10 souches :** PCC9511, RCC156, RCC2374, RCC 2319, RCC2379, RCC76, RCC100, RCC1717, RCC4213, RCC3006.

**Conditions de culture :** température de la salle de culture (faire moyenne entre 26/10/2020 et 06/11/2020) ; 52 μE ; lumière blanche continue (LED) ; 500mL

**Milieux de culture :** K+Si et PCRS11

**Triplicats biologiques**

Tous les jours, suivis des souches (cytométrie en flux ou microscopie pour RCC1717 [concentration cellulaire] et PAM [FV/FM]).

Si souche en fin de phase exponentielle de croissance,

**Dosage de la chlorophylle *a* à l’aide du spectrophotomètre (ref) :**

- Prélèvement de 10 mL de culture dans un falcon pré-rempli avec 10 μL de pluronic ( ?%, Sigma) ;

- Première centrifugation (ref) à 10000 rpm (à convertir en g), 4°C et pendant 5 min ;

-Retirer 8 mL de surnageant et deuxième centrifugation (même conditions que la première) ;

- Retirer le reste du surnageant ;

- Ajouter 1 mL de METOH (ref) dans le tube et resuspendre le culot ;

- Laisser à -20°C pendant 30 min à 1h ;

- Troisième centrifugation (même conditions que la première) ;

- Prélever le surnageant et le mettre dans une cuve d’absorption (ref) ;

- Mesure d’absorption avec le SAPAS (ref) :

LO départ : 550

LO arrivée : 720

Moyennes (sec) 0.2

Pas (nm) 1

LO cummuation filtre IR 610

- Placer deux cuves de METOH pur et acquérir la ligne de base particulière ;

- Réaliser un spectre « normal » afin de vérifier que la ligne de base a été bien enregistrée ;

- Passer les échantillons et noter les valeurs nécessaires au dosage de la chlorophylle *a* (cf. fichier de calculs de Flavien basé sur les équations trichromatiques et équations de Fred pour Syn et Proc). Se référer aux équations trichromatiques de Jeffrey et Humphrey (1975) avec des coefficients ajustés pour l’extraction au méthanol (Ritchie, 2006 *DOI : 10.1007/s11120-006-9065-9*).

- Une fois la Chl *a* dosée, calculs du volume de culture (PCRS11 ou K+SI) nécessaires pour réaliser les 5 dilutions (Cf. fichier Flavien) ;

- Inoculer un nouveau réplicat avec la culture mère ;

- Puis mettre la culture au noir pendant 15 minutes (dark adaptation).

**Manip 3X1M en elle-même :**

Pour la culture mère et chaque dilution,

- Prélever 2 fois 1.485 μL de culture pour la cytométrie en flux\* dans des tubes pré-remplis avec un 15 μL d’un mélange pluronic/glutaraldéhyde (ref) – Après 10 minutes au noir, congeler les échantillons à -80°C jusqu’à analyse ;

- Prélever 2 mL dans un cuve de spectrofluorimétrie (ref) pour mesurer le F0 aux 5 longueurs d’ondes (440, 480, 540, 590, 625 nm), le Fmd et le Fm et calculer le Fv/Fm à l’aide du PAM (ref) ;

- S’assurer que le fluorimètre est droit et au centre du bécher immergé de 5mm dans la culture. S’assurer de l’absence de bulles au niveaux des canaux d’excitations et du canal de mesure, mettre la culture sous légère agitation statique. Mesurer 3 \* 1minutes avec 2 minutes de désexcitation entre chaque acquisition.

Pour la culture mère et la deuxième dilution, faire de l’HPLC (ref des filtres). Les volumes filtrés ont été renseignés sur le fichier de données de Flavien.

Pour la culture mère, créer une référence avec le PAM.

\* Pour RCC1717, fixation dans du lugol pour comptage sous microscope.