

Concours : Technicien de Recherche et de Formation, Classe Normale - Externe – Technicien en Expérimentation et Production Végétales

Epreuve pratique – 22 juin 2017 – 45 min

Nom du candidat :

Partie 1 (15 min) – Repiquer une souche de cals de carotte

→ Vous avez en charge l'entretien de **souches de cals de carotte**.

→ Vous allez entrer dans une salle d'expérimentation.

→ Vous disposez de tout le matériel nécessaire à ce repiquage.

- | | |
|--------------------------|---------------------------------|
| - Milieu de culture | - instruments |
| - Souches de carotte | - alcool à 70% en pulvérisateur |
| - Boîtes de Pétri | - solution hydroalcoolique |
| - Hotte à flux laminaire | - stérilisateur à bille |

→ **Réalisez le repiquage de cette souche dans 2 boîtes de Pétri**

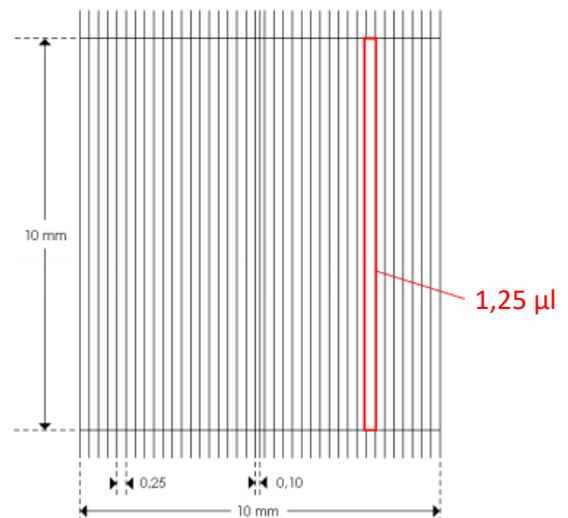
Partie 2 (15 min) – Comptage de protoplastes pour mise en culture

Vous disposez d'une culture de protoplastes que vous devez dénombrer de façon à mettre en culture 20000 protoplastes par ml.

Pour le comptage, vous disposez :

- d'un microscope (objectif x10)
- d'une pipette pasteur.
- d'une cellule de Nageotte

Le volume d'un rectangle délimité par les lignes gravées dans le verre est de 1,25 μ l.



- 1) Combien de protoplastes dénombrez-vous en moyenne (comptage de 5 rectangles min) ?

- 2) A partir du comptage, déduisez le nombre de protoplastes par ml ?

- 3) Quel est le taux de dilution à réaliser pour avoir une culture à 20000 protoplastes par ml ?

- 4) Décrire comment vous effectueriez votre dilution pour obtenir 10mL de protoplastes à 20000p/mL ?

Partie 3 (15 min) – Préparation d'un milieu de culture

Vous devez préparer **500mL de milieu de culture (pH 5,6)** de cals de carotte.

Le milieu renferme :

- des éléments minéraux de Murashige et Skoog (1962) (macroéléments, microéléments, du Fer-EDTA) et des vitamines.
- du saccharose 0,06 M
- de l'acide 2,4-dichlorophénoxy acétique (2,4-D) à 1mg/L
- de l'agar 6g/L

Vous disposez :

- d'eau ultrapure
- d'une solution-mère (X100) de Murashige et Skoog renfermant tous les éléments (minéraux et vitamines)
- d'une solution mère de 2,4-D à 0,1mg/mL
- de saccharose (MM 342g)
- d'agar
- d'un pH mètre
- une balance
- une pipette de 10 ml et verrerie

1) Détailler les calculs pour déterminer les différentes quantités nécessaires à la préparation du milieu.

2) Préparer ce milieu de culture.