

Kit Sordaria

Réf. 108

A RECEPTION DU COLIS :

- Vérifier la composition** du colis
- Stocker** les boîtes entre **20 et 27°C**

👁️👁️**ATTENTION**👁️👁️ : Ne pas stocker au réfrigérateur ni près d'une source de chaleur mais suivre les conseils de maturation détaillés dans la fiche préparateur

- Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité**

COMPOSITION DU COLIS :

Pour le kit monohybridisme n°1:

- 12 boîtes à stocker à **température ambiante entre 20 à 27 °C** :
- 8 boîtes notées A avec une gélose de couleur naturelle : **20 à 27 °C**
 - 2 boîtes notées B avec une gélose de couleur rouge : **20 à 27 °C**
 - 1 boîte notée C avec une gélose de couleur rose : **20 à 27 °C**
 - 1 boîte notée D avec une gélose de couleur orange : **20 à 27 °C**

Pour le kit monohybridisme n°2:

- 10 boîtes à stocker à **température ambiante entre 20 à 27 °C** :
- 8 boîtes notées A avec une gélose de couleur naturelle : **20 à 27 °C**
 - 1 boîte notée C avec une gélose de couleur rose : **20 à 27 °C**
 - 1 boîte notée D avec une gélose de couleur orange : **20 à 27 °C**

Pour le kit dihybridisme :

- 2 boîtes à stocker à **température ambiante entre 20 à 27 °C** :
- 1 boîte notée E avec une gélose de couleur naturelle : **20 à 27 °C**
 - 1 boîte notée F avec une gélose de couleur naturelle : **20 à 27 °C**

MATERIEL NECESSAIRE :

- Pince fine type Dumont
- Microscope ou loupe binoculaire
- Lame
- Lamelle
- Eau distillée
- Pissette
- Verre de montre
- Poire compte-gouttes

FICHE PREPARATEUR

Le but de la préparation est la maturation des périthèces de Sordaria pour permettre une bonne observation. Vous pouvez placer immédiatement à réception les Sordaria dans les conditions décrites ci-dessous car nous vous envoyons les boîtes en fonction de la date du TP que vous nous avez indiquée. En cas de développement plus rapide dans votre laboratoire, la conservation des boîtes mures au réfrigérateur permet d'attendre la date du TP d'observation pendant environ 2 semaines.

1) Respecter les conditions de maturation :

S'assurer que le lieu de maturation des Sordaria restera à une température supérieure à 20°C (25 °C étant la température la plus adaptée) mais inférieure à 30°C.

☐NB☐ : la température est l'élément essentiel pour permettre la maturation : une température trop faible empêchera la maturation et une température trop forte tuera les Sordaria.

Préparer une enceinte transparente garnie de papier absorbant légèrement imbibé d'eau. Disposer les boîtes, couvercle vers le haut, dans l'enceinte, **en dessous** d'une source lumineuse (attention à l'effet loupe : ne pas exposer en plein soleil et ne pas utiliser une source lumineuse trop forte ou trop proche des boîtes).

☐NB☐ : la température de 25°C permet une maturation optimale ; l'humidité permet à la gélose de ne pas se dessécher ; la lumière au dessus des boîtes permet la formation du col des périthèces en dehors de la gélose car les périthèces sont attirés par la lumière.

Si vous voulez accélérer la maturation, il est possible d'augmenter la température (jusqu'à 30°C) mais en veillant à garder les boîtes dans une enceinte suffisamment humide.

2) Suivi de maturation :

Conserver les boîtes dans ces conditions jusqu'à apparition des premières projections : points sombres sur le couvercle visibles à l'œil nu.

Vérifier l'avancement général des asques en prélevant 2 ou 3 périthèces (sortes de boules noires au centre de la boîte) en suivant les conditions d'observation décrites dans la « fiche de manipulation des binômes » en page 8.

👁️👁️ATTENTION👁️👁️ : manipuler avec soin et propreté car il faut éviter d'amener des contaminants (bactéries, champignons autres que Sordaria...) dans les boîtes. Cependant, il n'est pas nécessaire de travailler en conditions stériles.

☐NB☐ : les asques qui doivent être observés dans les différentes boîtes suivent les critères ci-dessous :

- dans les boîtes A et B :

Asques de type : 4 spores foncées et 4 spores claires.

Les asques à 8 spores blanches correspondent à des asques non mûrs.

- dans la boîte C :

Asques de type : 8 spores foncées.

Les asques à 8 spores blanches correspondent à des asques non mûrs.

- dans la boîte D :

Asques de type : 8 spores claires.

- dans les boîtes E et F :

Asques de type : 6 spores claires et 2 spores foncées.

Les asques à 8 spores blanches correspondent à des asques non mûrs.

Quand le nombre d'asques répondant aux critères de chaque boîte est supérieur.

3) Conservation des boîtes mûres :

Placer les boîtes mûres couvercle vers le bas à 4°C.
Dans ces conditions, elles se conservent deux semaines au réfrigérateur.

4) Préparation de la salle :

Préparer pour chaque binôme une pince fine de type Dumont, quelques lames et lamelles et une pissette d'eau déminéralisée avec un verre de montre et un compte goutte pour que les élèves puissent prélever une goutte d'eau à déposer sur la préparation.
Installer les microscopes ou loupes binoculaires (grossissement minimum x40).

5) Après la manipulation des élèves

En cas de réutilisation des boîtes par d'autres groupes, conserver les boîtes à +4°C.

NB : Le temps de conservation total au réfrigérateur est d'environ 2 semaines une fois la maturation obtenue.

PRINCIPE ET INTERET PEDAGOGIQUE

Notions sur Sordaria macrospora:

Sordaria macrospora est un champignon microscopique de la classe des Ascomycètes. Le mycélium de ce champignon est haploïde et le génome comporte 7 chromosomes.

Sordaria est capable de produire des zygotes par fusion de gamètes génétiquement identiques, pouvant provenir du même mycélium ou clone haploïde. Cette caractéristique se nomme l'homomixie. Ceci signifie qu'une colonie haploïde peut réaliser un cycle cellulaire complet :

- production de gamètes (par différenciation de certains articles du mycélium)
- fusion de ces gamètes
- fécondation
- méiose
- mitose
- formation d'ascospores (les 8 spores disposées sont en enfilade dans les asques).

SCHEMA

Il est néanmoins possible de croiser deux souches génétiquement différentes. Pour cela les deux souches (dites I et II) sont mises à croître sur une même boîte. A la confrontation entre les deux souches, des gamètes provenant des deux souches vont fusionner pour donner des périthèces dits « hybrides » dans lesquels la caryogamie concernera des noyaux de génotypes différents. Mais sur une boîte de ce type, il y aura également autofructation des souches I et II.

En tout, il y aura trois types de caryogamies dans la boîte :

- I x I autofructation de la souche I
- II x II autofructation de la souche II
- I x II croisement entre les souches I et II

Pour n'observer dans les croisements que les produits de méiose provenant de la caryogamie I x II (donc uniquement des périthèces hybrides), nous utilisons une « astuce » : les souches I et II portent des mutations de stérilité Spo11 et Spo55. Ces mutations sont récessives et situées dans 2 gènes différents. Il peut donc y avoir complémentarité qu'entre les souches I et II. Les différents types de caryogamie sont dans ce cas

- I x I (Spo11, +) x (Spo11, +) pas de descendance
- II x II (+, Spo55) x (+, Spo55) pas de descendance
- I x II (Spo11, +) x (+, Spo55) descendance

D'autres mutations peuvent être des mutations de couleur de spores comme:

- Les spores sauvages sont de couleur brun foncé (noir).
- Les mutations J14, J2 donnent des spores jaunes.
- La mutation BL2 donne des spores blanches.

Détails sur les boîtes proposées :

Intitulé de la boîte	Couleur de la gélose	Nature du croisement
A	Naturelle	Souche à spores noires X Souche à spores jaunes + Spo ¹¹ J ₁₄ Spo ⁵⁵
B	Rouge	Souche à spores noires X Souche à spores blanches + Spo ¹¹ BL ₂ Spo ⁵⁵
C	Rose	Autofructification de la souche sauvage +
D	Orange	Autofructification de la souche à spores blanches BL ₂
E	Naturelle	Souche à spores jaunes X Souche à spore jaune-vert J ₁₄ + Spo ⁵⁵ + J ₂ Spo ¹¹
F	Naturelle	Souche à spores jaunes X Souche à spores blanc-rosé J ₁₄ + Spo ⁵⁵ + BL ₂ Spo ¹¹

Les boîtes C et D montrent l'homomixie de *S. macrospora* : une souche unique, sans mutation de stérilité, pousse sur chacune de ces deux boîtes.

Les boîtes A et B contiennent des souches dont l'autofructification est rendue impossible par mutation de stérilité Spo11 et Spo55. Différentes mutations sur les gènes de couleur des spores permettent une observation du génotype au travers du phénotype.

Les boîtes E et F permettent de localiser les mutations de couleur de spores les unes par rapport aux autres.

FICHE DE MANIPULATION PAR LES BINOMES

⦿ **ATTENTION** ⦿ : le milieu ne contient pas d'antibactérien ni d'antifongique ! Il est donc préférable de travailler le plus proprement possible si d'autres observations sont prévues par la suite de manière à ne pas contaminer les boîtes. Il n'est pas pour autant nécessaire de travailler en conditions stériles.

Prélever des périthèces (petites boules noires) avec une pince à extrémités fines (type Dumont) sous une loupe binoculaire ou à l'œil nu.

Déposer les périthèces sur une lame dans une goutte d'eau.

Faire sortir les bouquets d'asques en faisant éclater les périthèces avec une pince fine ou bien la lamelle.

Poser une lamelle sur la goutte d'eau.

Ecraser délicatement les bouquets en tapotant au centre de la lamelle avec l'ongle en veillant à garder le maximum d'asques intacts

Observer à la loupe binoculaire x40 ou au microscope aux grossissements x40 ou x400.

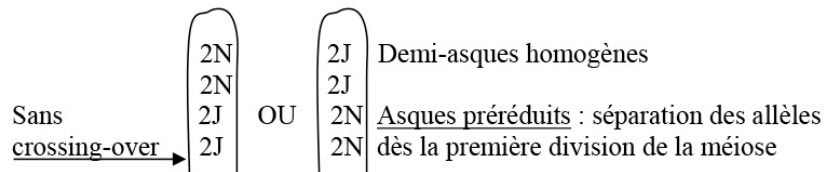
⦿ **ATTENTION** ⦿ : dans les boîtes à spores claires (blanc rosé, jaune et jaune-vert) on peut confondre les asques claires et les asques non mûrs qui apparaissent incolores. Ceci peut brouiller les comptages et les fréquences pour le dihybridisme au niveau des boîtes E et F.

INTERPRETATIONS ET CONCLUSIONS

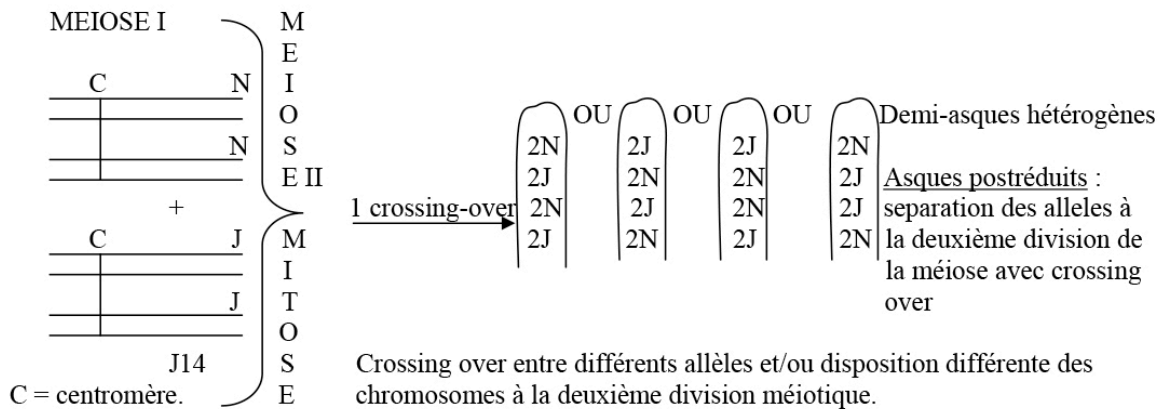
1) POUR LE KIT MONOHYBRIDISME :

.A. Croisement d'une souche à spores noires avec une souche à spores jaunes : (+ Spo11) x (J14 Spo55) : boîte A

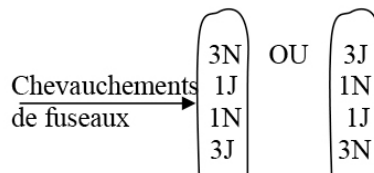
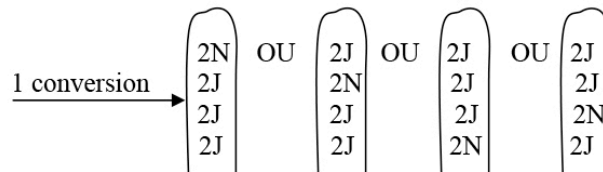
Le croisement d'une souche sauvage de *Sordaria macrospora* à spores noires (N) par un mutant à spores jaunes (J) donne des asques de différents types :



Migration de chacun des chromosomes homologues vers un pôle ou l'autre de la cellule donnant lieu à deux répartitions différentes



Crossing over entre différents allèles et/ou disposition différente des chromosomes à la deuxième division méiotique. Il se produit d'autant plus de crossing over que les gènes sont éloignés du centromère.



Au sein de chacun des 3 groupes d'asques, les fréquences de chaque ordre sont équiprobables, traduisant la migration au hasard de chaque chromosome vers un des 2 pôles de l'asque.

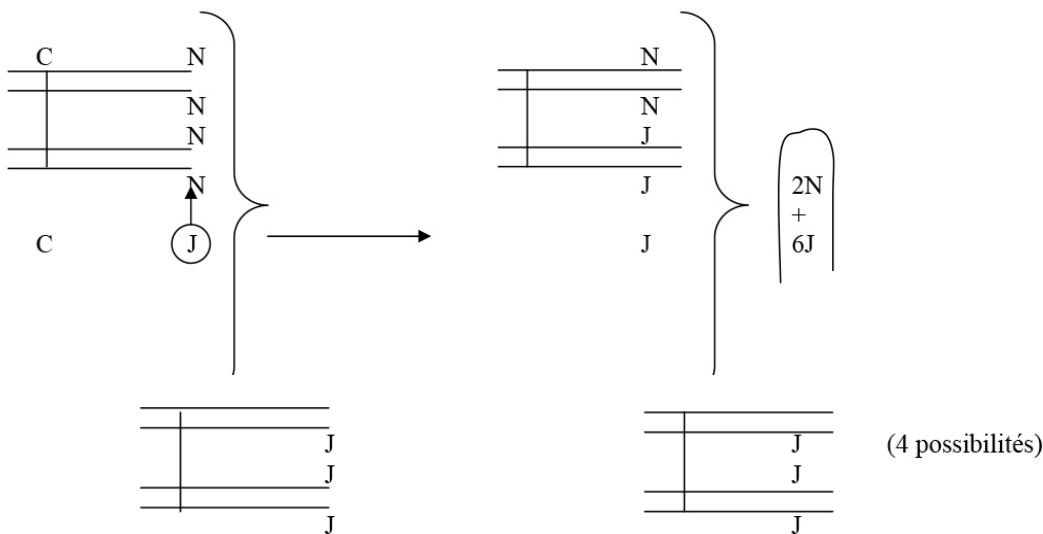
Le croisement permet d'obtenir des asques prérédits. On peut alors déduire que la couleur des asques noires ou jaunes dépend d'un seul gène.

Ce croisement permet de localiser la mutation « J » par rapport au centromère. Les asques étant ordonnés chez cet organisme, la fréquence des asques postréduits traduit la probabilité d'avoir un crossing-over entre le gène et son centromère.

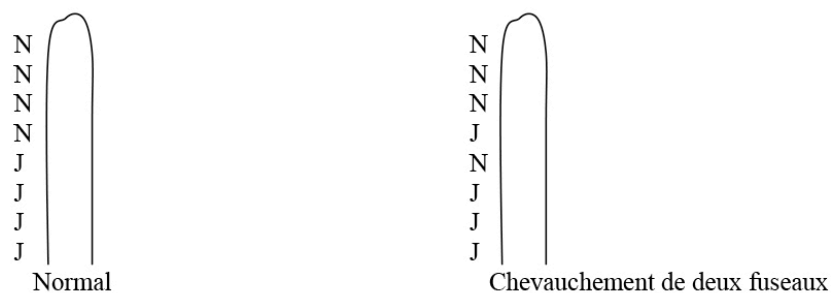
La mutation J14 utilisée dans le croisement A est assez éloignée de son centromère : la fréquence de postréduction (= nb d'asques postréduits x 100 / asques totaux) est de 58% (66% est la limite à partir de laquelle on considère que les gènes se comportent de façon indépendante car ils sont réellement indépendants ou parce que la distance entre le gène et le centromère devient trop importante). La relation est linéaire entre le pourcentage de postréduction et la distance entre le gène et le centromère quand le pourcentage est inférieur à 66%.

J14 est localisée sur le bras droit du chromosome IV et la valeur théorique est de 29 unités (on ne s'approche de cette valeur qu'en étudiant au moins 100 asques) : la distance est évaluée en centimorgan ou en unité de recombinaison et se calcule en divisant par deux la fréquence de postréduction.

Cette mutation permet, de plus, de mettre en évidence des figures de conversion avec une fréquence de 1%. Les conversions sont des événements de recombinaison non réciproques qui correspondent au transfert d'un fragment d'un des 2 brins d'une chromatide avec correction du mauvais appariement qui s'en suit :

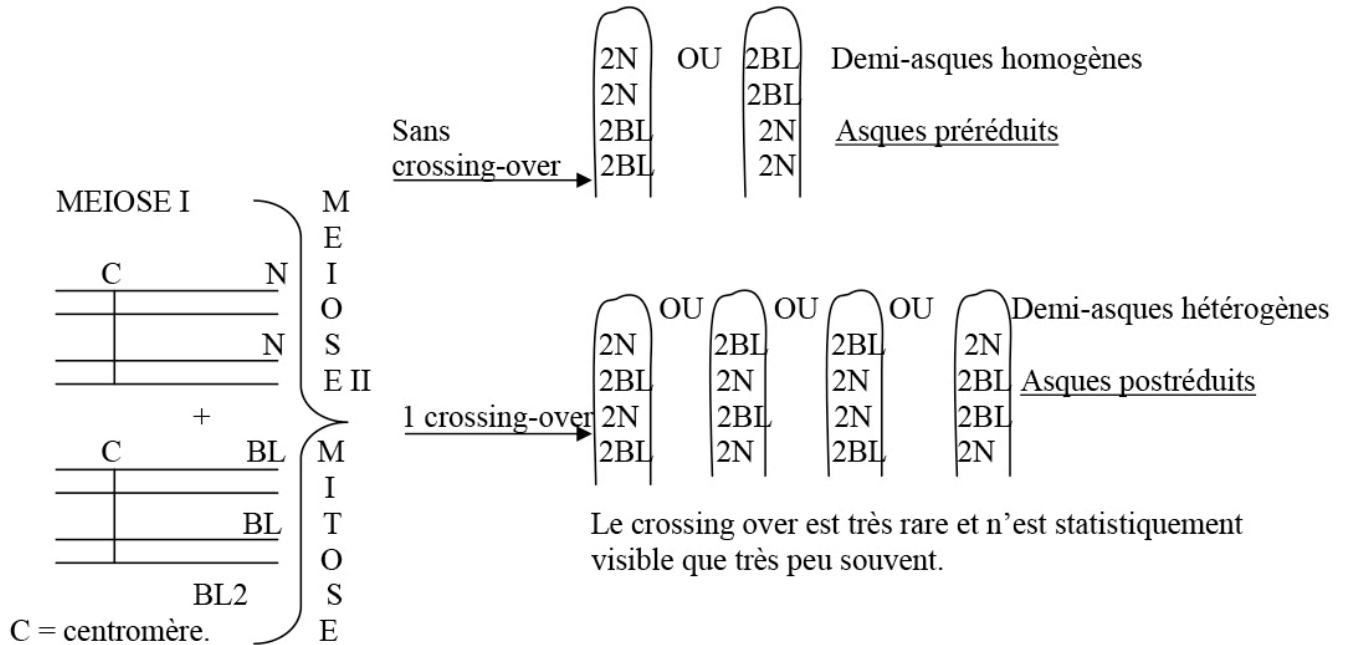


Dans les croisements, il est possible d'observer des asques de type 3N, 1J, 1N, 3J. Ces asques résultent de chevauchements de fuseaux lors de la mitose postméiotique.



Un tel chevauchement est rare, mais il peut se produire dans n'importe quel type d'asques.

.B. Croisement d'une souche à spores noires avec une souche à spores blanches : (+ Spo11) x (BL2 Spo55) : boîte B



La mutation utilisée dans le croisement B est presque toujours pré-réduite : la couleur des asques jaune ou blanche (blanc rosé) dépend d'un seul gène qui est fortement lié au centromère.

Lorsque l'on compte suffisamment d'asques du croisement, on trouve une fréquence de post-réduction = nb d'asques post-réduits x 100 / nb d'asques totaux = 0,5%. On déduit une distance entre le gène et le centromère de 0,25 centimorgan (pourcentage de chromatides post-réduites).

BL2 est situé sur le chromosome VI, très près du centromère.

2) POUR LE KIT DIHYBRIDISME :

.A. Croisement d'une souche à spores jaunes avec une souche à spores jaune-vert : (Spo11 J14 +) x (Spo55 + J2) : boîte E

Pour les gènes J14 et J2, la pré et la post réduction sont possibles ; il y a ainsi 6 x 6 (car 6 combinaisons pour les allèles) = 36 possibilités.

Les 36 génotypes possibles des asques issus de ce croisement sont représentés dans le tableau suivant :

		Pré réduction				Post réduction pour J14							
J2	J14	+	+	J14	J14	+	J14	+	J14	+	J14	+	
		+	J14	+	+	J14	+	J14	+	J14	+	J14	
Pré réduction	+	+	+	J14	+	+	+	J14	+	+	+	J14	+
	+	+	+	J14	+	J14	+	+	+	J14	+	+	+
	J2	J14	J2	+	J2	+	J2	+	J2	J14	J2	J14	J2
	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	J14	J2	+	J2	+	J2
	J2	+	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2
	J2	+	J2	J14	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	+	J2
	+	J14	+	+	+	+	+	+	+	J14	+	J14	+
	+	J14	+	+	+	J14	+	J14	+	+	+	+	+
Post réduction pour J2	+	+	+	J14	+	+	+	J14	+	+	+	J14	+
	J2	+	J2	J14	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	+	J2
	+	J14	+	+	+	+	+	+	+	J14	+	J14	+
	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	J14	J2	+	J2	+	J2
	J2	+	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2
	+	+	+	J14	+	J14	+	+	+	J14	+	+	+
	+	J14	+	+	+	+	+	+	+	J14	+	J14	+
	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	J14	J2	+	J2	+	J2
	+	J14	+	+	+	J14	+	J14	+	+	+	+	+
	J2	+	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2	+	J2	J14	J2
	+	+	+	J14	+	J14	+	+	+	J14	+	+	+
	+	J14	J2	+	J2	+	J2	+	J2	J14	J2	J14	J2
+	J14	+	+	+	J14	+	J14	+	+	+	+	+	

Génotypes des ascospores	Phénotypes des ascospores
J14 +	Doublet jaune sable
+ J2	Doublet jaune vert
+ +	Doublet noir
J14 J2	Doublet blanc rosé

Teinte de gris	Correspondance avec un phénotype
Gris pâle	Tétratype : quatre types d'ascospores par asque correspondant à des génotypes identiques et différents de ceux des parents. On observe 2 spores noires et 6 spores claires réparties de différentes façons (les trois couleurs sont assez voisines et difficilement distinguables les unes des autres) La moitié des chromatides sont récombinées.
Gris moyen	Ditype recombiné : deux types d'ascospores par asque correspondant à des génotypes différents de ceux des parents On observe 4 spores noires et 4 spores blanches répartis de différentes façons. La couleur blanche provient de 2 mutations qui renseignent sur les voies de synthèse des pigments. Toutes les chromatides sont recombinées.
Gris foncé	Ditype parental : deux types d'ascospores par asque correspondant aux génotypes des parents On observe des doublets de spores jaunes et des doublets de spores jaune-vert (les deux couleurs sont assez voisines et apparaissent claires) Il n'y a pas de chromatides recombinées

Déterminer la distance des gènes au centromère :

En comptant le nombre d'asques post réduits pour J14 et en divisant par le nombre d'asques comptés, on trouve la fréquence de post-réduction pour J14.

En multipliant par 100, on trouve le pourcentage de post réduction de J14. En divisant par 2, on obtient la distance de J14 au centromère = 29 unités.

En procédant de même pour J2, on trouve une distance de J2 au centromère de 22,6 unités.

☐NB☐: Il est assez difficile de compter les différents asques car les couleurs claires sont assez voisines.

⦿⦿ATTENTION⦿⦿: il ne faut pas confondre les asques comportant des spores claires et les asques qui ne sont pas encore mûrs ! Ceci est assez difficile pour un œil non exercé.

J14 est assez éloigné du centromère et est situé sur le bras droit du chromosome IV.

J2 est moyennement éloigné du centromère et est situé sur le bras gauche du chromosome IV.

Déterminer la liaison des gènes :

Si les gènes sont indépendants, le nombre d'asques appartenant à la catégorie ditypes parents et le nombre d'asques de la classe ditypes recombinés sont égaux.

Si le nombre d'asques appartenant à la catégorie ditypes parents est supérieur au nombre d'asques de la classe ditypes recombinés, on considère que les gènes sont liés.

Dans le cas de notre croisement, le cas est un peu particulier :

Les gènes J2 et J14 sont situés sur le même chromosome à 51,6 unités l'un de l'autre (29+22,6). Ces gènes sont très éloignés et même s'ils sont liés physiquement, ils vont apparaître comme indépendants. On observe alors un pourcentage de tétratypes de 66 % et les ditypes parentaux et recombinés seront aux alentours de 17%.

Déterminer la distance génétique entre les gènes liés :

La distance entre J2 et J14 peut être calculée en comptant le nombre de chromatides recombinées par le nombre total et en multipliant le tout par 100.

Cette formule se résume à :

$(\text{nb ditypes recombinés} \times 4 + \text{nb tétrades} \times 2) \times 100 / (\text{nb d'asques totaux} \times 4)$.

Par ce calcul, on trouve une valeur inférieure à 50 unités car du fait de la grande distance entre les gènes, ce calcul sous estime la distance réelle car tous les crossing overs ne sont pas considérés.

. B . Croisement d'une souche à spores jaunes avec une souche à spores blanches : (Spo55 J14 +) x (Spo11 + BL2) : boîte F

Pour les gènes J14 et BL2, la pré et la post réduction sont possibles ; il y a ainsi 6 x 6 (car 6 combinaisons pour les allèles) = 36 possibilités.

Les 36 génotypes possibles sont obtenus dans le tableau de la page 12 en remplaçant J2 par BL2.

Tableau des phénotypes obtenus :

Génotypes des ascospores	Phénotypes des ascospores
J14 +	Doublet jaune sable
+ BL2	Doublet blanc rosé
+ +	Doublet noir
J14 BL2	Doublet blanc rosé

Tableau de légende des couleurs du tableau des génotypes en page 12 (en remplaçant J2 par BL2)

Teinte de gris	Correspondance avec un phénotype
Gris pâle	Tétratype : quatre types d'ascospores par asque correspondant à des génotypes identiques et différents de ceux des parents. On observe 2 spores noires et 6 spores claires réparties de différentes façons (les deux couleurs sont assez voisines et difficilement distinguables les unes des autres) La moitié des chromatides sont recombinées.
Gris moyen	Ditype recombiné : deux types d'ascospores par asque correspondant à des génotypes différents de ceux des parents On observe 4 spores noires et 4 spores blanches répartis de différentes façons. Toutes les chromatides sont recombinées.
Gris foncé	Ditype parental : deux types d'ascospores par asque correspondant aux génotypes des parents On observe des doublets de spores jaunes et des doublets de spores blanches (les deux couleurs sont assez voisines et apparaissent claires) Il n'y a pas de chromatides recombinés

Tableau avec génotypes en coordonnées et phénotypes dans les cases.

		Pré réduction		Post réduction pour J14			
		J14 +	J14 +	J14 +	J14 +	J14 +	
BL2	J14 +	N	J	N	J	N	J
	J14 +	N	J	N	J	N	J
Pré réduct	BL2	B	B	B	B	B	B
	BL2	B	B	B	B	B	B
Post réduction pour BL2	BL2	B	B	B	B	B	B
	BL2	B	B	B	B	B	B
	+	J	N	N	N	J	J
	+	J	N	J	J	N	N
	BL2	B	B	B	B	B	B
	BL2	B	B	B	B	B	B
	+	J	N	N	N	J	J
	+	J	N	N	N	J	J
	BL2	B	B	B	B	B	B
	+	N	J	N	J	N	J
	BL2	B	B	B	B	B	B
	BL2	B	B	B	B	B	B
+	J	N	J	J	N	N	
BL2	B	B	B	B	B	B	
+	N	J	J	N	J	N	
BL2	B	B	B	B	B	B	
+	J	N	J	J	N	N	

Déterminer la distance des gènes au centromère :

Le tableau précédent amène l'attention sur le fait que les génotypes J14 BL2, +BL2 donnent le même phénotype blanc rosé.

Pour cette raison, il est impossible de déterminer la distance de J14 au centromère car on ne peut pas séparer les asques pré-réduits pour J14 et les asques post-réduits pour J14. Il faut se servir du croisement souche à spores jaunes par souche à spores jaune-vert (Spo11 J14 +) x (Spo55 + J2) pour déterminer cette distance dans le kit dihybridisme égale à 29 unités.

En comptant le nombre d'asques post réduits pour BL2 et en divisant par le nombre d'asques comptés, on trouve la fréquence de post-réduction pour BL2.

En multipliant par 100, on trouve le pourcentage de post réduction de BL2. En divisant par 2, on obtient la distance de BL2 au centromère = 0,25 unités. Pour arriver à trouver ce résultat, il faut compter de nombreux asques.

NB : Il est assez difficile de compter les différents asques car les claires sont assez voisines.

J14 est assez éloigné du centromère et est situé sur le bras droit du chromosome IV.
BL2 est très proche du centromère et est situé sur le bras gauche du chromosome VI.

Déterminer la liaison des gènes :

Le nombre d'asques appartenant à la catégorie ditypes parents et le nombre d'asques de la classe ditypes recombinés sont égaux. Les deux gènes sont donc indépendants.

La fréquence des tétratypes sera égale à la fréquence des postréduits pour J14 soit environ 58%. Les fréquences des ditypes parentaux et des ditypes recombinés seront de 21% chacune.

C. Conclusions sur le kit dihybridisme :

Localisation des gènes de couleur de spores :

BL2 est sur le chromosome VI à 0,25 unités du centromère.

J14 est sur le chromosome IV à 29 unités du centromère sur la bras de droite.

J2 est sur le chromosome IV à 22,6 unités du centromère sur la branche de gauche.

📖 Pour aller plus loin :

Cycle de Sordaria

En plus des asques, les boîtes permettent d'observer les différentes parties du cycle : le mycélium, les ascogones (microscope avec coloration du type Giemsa pour voir les noyaux) et tous les stades de formation des périthèces.

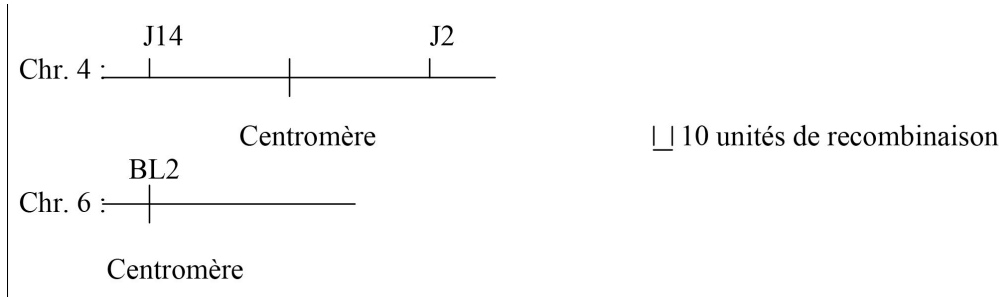
Carte génétique

Sordaria macrospora possède sept chromosomes.

Différents gènes intervenant dans la voie de biosynthèse de la mélanine ont été localisés.

BL2 au niveau du centromère du chromosome 6

J2 et J14 sur le chromosome 4



Voie de biosynthèse

FICHE SECURITE

Il n'y a aucune condition de sécurité particulière à respecter.

En cas de contamination des boîtes, il faut les plonger dans de la javel ou de l'eau oxygénée.

FICHE CONSERVATION

Respecter les conditions de maturation puis conserver les boîtes mûres à **4°C** dans une enceinte humide pendant environ 2 semaines.

FICHE TRI ET RECUPERATION

La gélose des boîtes doit être décontaminée des éventuels contaminants avec de la javel (de concentration 1%) ou de l'eau oxygénée puis jetée à la poubelle.

Les boîtes de pétri ayant contenu la gélose peuvent être jetées dans les bacs de récupération du plastique (après avoir été décontaminées).