

Référence : BISCHOFF et BOLD, 1963, CCAP, modifié à Thonon les Bains.

Note : Utiliser de l'eau Milli-Q fraîche pour la préparation des solutions stocks et du milieu de culture.
Les solutions stocks ainsi que le milieu de culture sont à conserver au réfrigérateur.

Liste des solutions stocks :

- BB1 : NaNO_3 à 85 g/L
- BB2 : $\text{K}_2\text{HPO}_4, 3\text{H}_2\text{O}$ à 40,62 g/L ou (K_2HPO_4 à 20 g/L)
- BB3 : KH_2PO_4 à 17,5 g/L
- BB4 : $\text{CaCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$ à 36,8 g/L
- BB5 : $\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ à 25 g/L
- BB6 : NaCl à 2,5 g/L
- BB7 : Solution d'EDTA-KOH (*)
- BB8 : Solution de $\text{FeSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ acidifiée à 4,98 g/L (**)
- BB9 : H_3BO_3 à 11,42 g/L
- BB10 : Solution d'oligo-éléments (***)

(*) Préparation de la solution d'EDTA-KOH :

Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 5g d'EDTA (ou 5,536g d'EDTA- $\text{Na}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$) et 3,1g de KOH.

Puis ajuster au volume avec de l'eau Milli-Q.

(**) Préparation de la solution de $\text{FeSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ acidifiée :

Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 0,498g de $\text{FeSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ et transférer 0,1ml de H_2SO_4 concentré.

Puis ajuster au volume avec de l'eau Milli-Q.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Huguet Isabelle	Chardon Cécile	Rimet Frédéric
Fonction :	Technicienne	Technicienne de Recherche	Ingénieur d'Etudes
Visa :			

Préparation du milieu de BOLD (BB)

(***)Préparation de la solution d'oligo-éléments :

Dans une fiole jaugée de 500 ml, peser :

- 4,41 g de $\text{ZnSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$
- 0,355g de MoO_3
- 0,245g de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2, 6 \text{H}_2\text{O}$
- 0,72 g de $\text{MnCl}_2, 4 \text{H}_2\text{O}$
- 0,785g de $\text{CuSO}_4, 5 \text{H}_2\text{O}$

Puis ajuster au volume avec de l'eau Milli-Q.

Préparation d'un litre de milieu de culture BB:

N° de la solution stock	Nom de la solution stock	Concentration de la solution stock (g/L)	Volume de la solution stock à prélever (mL)
BB1	NaNO_3	85	2,94
BB2	$\text{K}_2\text{HPO}_4, 3 \text{H}_2\text{O}$	40,62	2,40
BB3	KH_2PO_4	17,5	10
BB4	$\text{CaCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$	36,8	0,679
BB5	$\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	25	3
BB6	NaCl	2,5	10
BB7	Solution d'EDTA-KOH	-	1
BB8	Solution de $\text{FeSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ acidifiée	4,98	1
BB9	H_3BO_3	11,42	1
BB10	Solution d'oligo-éléments	-	1

Compléter à 1 litre avec de l'eau milli-Q fraîche.

Puis filtrer le milieu BB sur un filtre de 0,22 μm de diamètre sous la hotte à flux laminaire.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Huguet Isabelle	Chardon Cécile	Rimet Frédéric
Fonction :	Technicienne	Technicienne de Recherche	Ingénieur d'Etudes
Visa :			