Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

BREVET DE TECHNICIEN SUPERIEUR

BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

SESSION 2017

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h 00
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :
- dictionnaire anglais/français, tout autre matériel est interdit.

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 8 pages numérotées de 1/8 à 8/8.

La lutte biologique

L'Organisation Internationale de Lutte Biologique et Intégrée définit la lutte biologique comme « l'utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs ».
La lutte biologique est un procédé biotechnologique car elle est basée sur l'exploitation par l'être humain d'une relation naturelle entre deux êtres vivants.
La cible est l'organisme nuisible que l'être humain souhaite contrôler. Il peut s'agir d'un ravageur d'une plante cultivée, d'une mauvaise herbe ou encore d'un parasite du bétail.
L' agent de lutte est, le plus souvent, un parasite, un prédateur ou un agent pathogène de la cible, qui la tue ou limite son développement.
Pour protéger ses cultures, l'agriculteur peut ainsi recourir à des moyens biologiques. La lutte biologique est donc une alternative à l'utilisation de produits chimiques phytosanitaires, polluants pour l'environnement, dangereux pour le consommateur comme pour l'agriculteur et dans certains cas, peu efficaces.
L'objet de cette étude est de présenter trois agents de la lutte biologique.

1. Etude de *Trichoderma* dans la lutte biologique contre *Botrytis* (6 points)

Le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons saprophytes qui se retrouvent couramment dans le sol. *Trichoderma* a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action.
La moisissure *Botrytis* est un champignon phytopathogène capable de parasiter plus de 200 végétaux différents. *Botrytis cinerea* est responsable de la pourriture grise, notamment des vignes et des fraisiers. *Botrytis fabae* est l'agent de la maladie des tâches de chocolat chez les fèves.

Le document 1 présente un schéma d'observation microscopique de *Botrytis cinerea*.

1.1 **Reporter** sur la copie les numéros 1 à 4 et **indiquer** leur signification**.**

1.2 **Présenter** la démarche d'identification d'une moisissure.

La composition du milieu utilisé pour la culture de *Botrytis cinerea* est donnée dans le document 2.

1.3 **Expliquer** le rôle des constituants soulignés. **Déduire** de cette composition les types trophiques et une des conditions optimales de culture de la moisissure.

Trois espèces de *Trichoderma,* sont comparées *in vitro* dans la lutte contre *Botrytis*.
La capacité de chaque souche de *Trichoderma* à réduire la croissance de *Botrytis* est évaluée par un test de confrontation directe (document 3a).

1.4 A partir du document 3a, **analyser** l'effet des trois souches de *Trichoderma* sur la croissance du mycélium de *Botrytis.* **Proposer** une hypothèse sur le mode d'action des *Trichoderma*.

Le document 3b présente l'effet de la souche *Trichoderma viride* sur la sporulation de *Botrytis cinerea* et *Botrytis fabae*.

1.5 **Interpréter** les résultats de l'expérience. En **déduire** le mode d'action de *Trichoderma* en lien avec le rôle de la spore asexuée chez la moisissure.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

2. Le bio-insecticide de *Bacillus thuringiensis* (9 points)

Bacillus thuringiensis produit une toxine qui est un cristal protéique aux propriétés insecticides sur les lépidoptères, coléoptères et diptères, connue depuis 1920.
Les larves d'insectes (chenilles) ingèrent un complexe formé de cristaux protéiques et de spores de la bactérie entraînant leur mort.

Aujourd'hui, les produits à base de spores de *Bacillus thuringiensis* font partie des insecticides les plus couramment utilisés dans le monde. Ils repésentent plus de 50 % du marché des bio-insecticides. Ils sont fabriqués à une échelle industrielle dans des fermenteurs par des procédés de culture semi-continue (fed-batch) qui permettent d'obtenir les meilleurs rendements de production en cristaux protéiques toxiques.

2.1 **Présenter** les conditions environnementales qui conduisent au processus de sporulation.

Le document 4 présente les résultats d'une étude cinétique de la production de cristaux toxiques en fermenteur de laboratoire par un procédé en milieu non renouvelé (batch).

2.2 **Identifier** la phase de croissance au cours de laquelle a lieu la production de toxine. **Indiquer** le phénomène physiologique qui se produit simultanément. **Argumenter** la réponse.

2.3 A partir du document 4, **démontrer** que une bonne oxygénation du milieu est un facteur déterminant pour la croissance de *Bacillus thuringiensis* et la production de toxine.

2.4 **Proposer** une hypothèse expliquant la réoxygénation du milieu après 30 heures.

L'étude cinétique du document 4 a été opérée avec un coefficient volumétrique de transfert d'oxygène, K_La, de 13,3 h^{-1}. Dans un fermenteur, plusieurs paramètres peuvent affecter le K_La.

2.5 **Présenter** deux paramètres qui influencent l'oxygénation d'un milieu de culture.

Le glucose est le substrat préférentiel pour la croissance de *Bacillus thuringiensis*. Cependant, de trop fortes concentrations en glucose inhibent la production de toxine et nécessitent le recours à un procédé en fed-batch.

2.6 **Représenter** schématiquement le procédé de fermentation par fed-batch. **Expliquer** l'intérêt d'un procédé de fermentation en fed-batch pour éviter le problème de la concentration en glucose.

Afin de valoriser une source de glucides, le son de blé, disponible à proximité du site de l'usine de production de la toxine, un industriel réalise une étude comparative entre plusieurs milieux de culture. Le document 5 présente un tableau de synthèse de cette étude.

2.7 A partir des données du document 5, **calculer** le rendement de conversion du substrat glucidique en protéines toxiques, $R_{P/S}$ dans le milieu au son de blé. **Argumenter** le choix du milieu le mieux adapté à la production de la toxine bio-insecticide.

Base nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

3. Une nouvelle piste dans la lutte biologique : *Photorhabdus luminescens* (3 points)

Photorhabdus luminescens est une protéobactérie appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle vit en symbiose à l'intérieur du tube digestif de son hôte, un ver nématode. Elle est bioluminescente et pathogène pour certains insectes. Son génome vient d'être entièrement séquencé par une équipe de l'Institut Pasteur. Son analyse révèle toute une variété de gènes, codant pour des toxines entomopathogènes, qui pourront être utiles à la lutte contre les insectes nuisibles.
Photorhabdus luminescens est une bactérie symbiotique.

3.1. A partir du document 6, **dégager** les caractéristiques de la relation symbiotique entre la bactérie *Photorhabdus luminescens* et son ver nématode hôte.

Photorhabdus luminescens est une bactérie bioluminescente.

> *Photorhabdus* is the only terrestrial bacteria known to exhibit bioluminescence. They luminesce only during their mutualistic phase, inside the insect cadaver. What use is this? There is evidence suggesting that this may be a non-functional trait, recently acquired by horizontal gene transfer from *Vibrio*.
>
> *March 30, 2009 in Pathogens, Symbioses, Teachers Corner*

3.2. **Citer** les différents modes de transferts horizontaux bactériens.

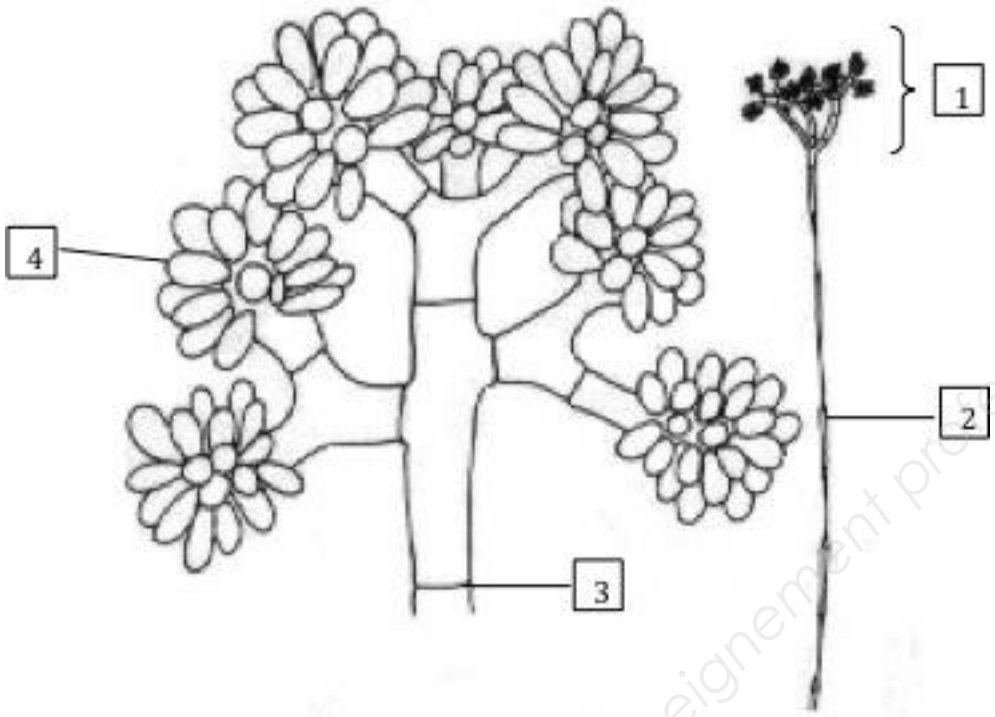
Photorhabdus luminescens est une bactérie entomopathogène. Un gène de *Photorhabdus luminescens* codant pour l'une des toxines entomopathogènes constitue un gène d'intérêt qui peut être introduit dans une plante afin de la rendre résistante à l'insecte cible de la toxine.

3.3. **Présenter** la méthode utilisant les propriétés naturelles de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* afin d'obtenir cette plante génétiquement modifiée.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document 1 : Schéma d'observation microscopique de *Botrytis cinerea*



http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/Moulds/Botrytis.html

Document 2 : Composition du milieu DRBC

La gélose Dichloran Rose-Bengale Chloramphénicol est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des levures et moisissures présentes dans les aliments avariés.

COMPOSITION	**($g \cdot L^{-1}$)**
Peptones	5,0
Glucose	10,0
Dihydrogénophosphate de potassium	1,0
Sulfate de magnésium	0,5
Dichloran	0,002
Rose-bengale	0,025
Agar	15,0
pH 5,6 ± 0,2	
Chloramphénicol	50 mg

King D.A. Jr., Hocking A.D. and Pitt J.I. (1979) J. Appl. & Environ. Microbiol., 37. 959-964.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document 3 : Direct confrontation test

Confrontations are performed *in vitro* using the method of Patel and Brown (1969).
In Petri dishes (90 mm diameter), containing 15 ml of PDA medium, two agar slices (6 mm in diameter) are placed 5 cm from each other (Fig. 1). One with the strain of *Trichoderma* and the other with the pathogen. Incubation is carried out under alternating 12 hours light and 12 hours dark at 26 ± 2°C for 7 days. Each treatment is replicated 4 times.

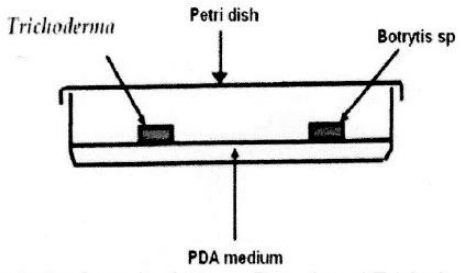


Fig. 1: Confrontation between Botrytis and Trichoderma strain by direct contact in PDA medium.

3a Evaluation of mycelial growth:
Mycelial growth of *Botrytis* was evaluated every 24 hours during 7 days by measuring the radius of the parasite on the side of the antagonist. Control is realized without *Trichoderma*.

Table 1 : Results of *Trichoderma* species effect on mycelial growth of *Botrytis* isolates.

Confronted isolates	Mycelial growth after 7 days (mm)
Control	39.81
Trichoderma viride	26.93
Trichoderma harzianum	12.25
Trichoderma longibrachiatum	11.87

3b Evaluation of sporulation:
Assessment of sporulation is performed according to the principle of the method used by Maslouhy (1989). Every box sporulation is evaluated on the 12th day. Using a pastry cutter disinfected, we collected 10 slices (6 mm in diameter) on the periphery of the colonies of *Botrytis* side of the antagonist. These slices are then placed in 10 ml of an acetic acid solution N/10. Heating (45-50°C) for several minutes freeing the conidia. The concentration expressed in number of spores per ml was estimated using the Malassez cell. Witnesses are realized by taking slices to the periphery of the colonies of *Botrytis* inoculated alone.

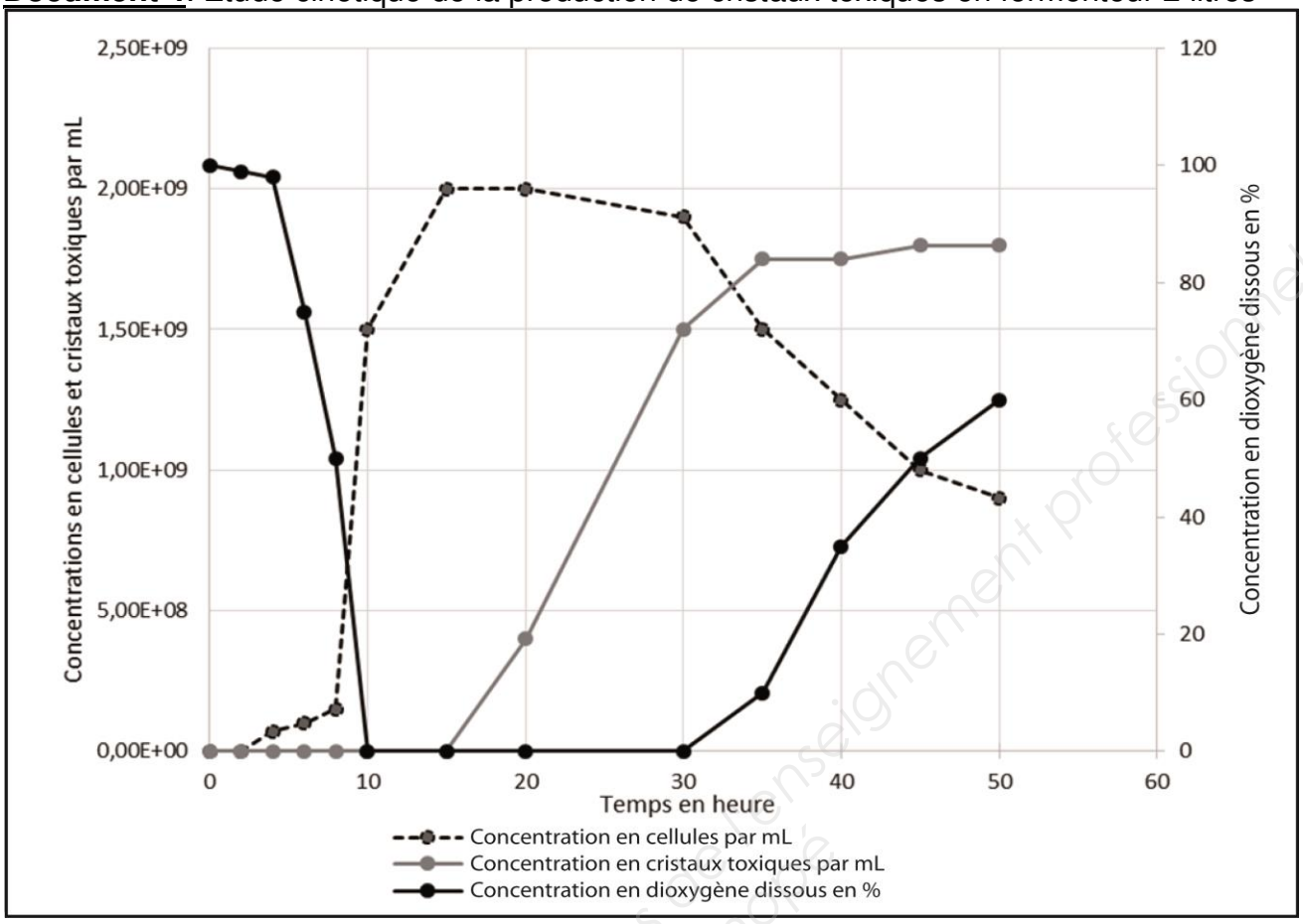
Table 2 : Results of *Trichoderma viride* effect on sporulation of *Botrytis* isolates.

Confronted isolates	Mycelial growth (conidia/ml)
Control	28632
Botrytis cinerea C1	28548
Botrytis cinerea C3	25572
Botrytis fabae F3	8249
Botrytis fabae F2	4354

D'après Antagonism of three *Trichoderma* species against *Botrytis fabae* and *B. cinerea*, the causal agents of chocolate spot of faba bean University of Mostaganem, Algeria

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel Réseau Canopé

Document 4: Etude cinétique de la production de cristaux toxiques en fermenteur 2 litres



D'après Jihane Rahbani, Institut National polytechnique de Toulouse, février 2015

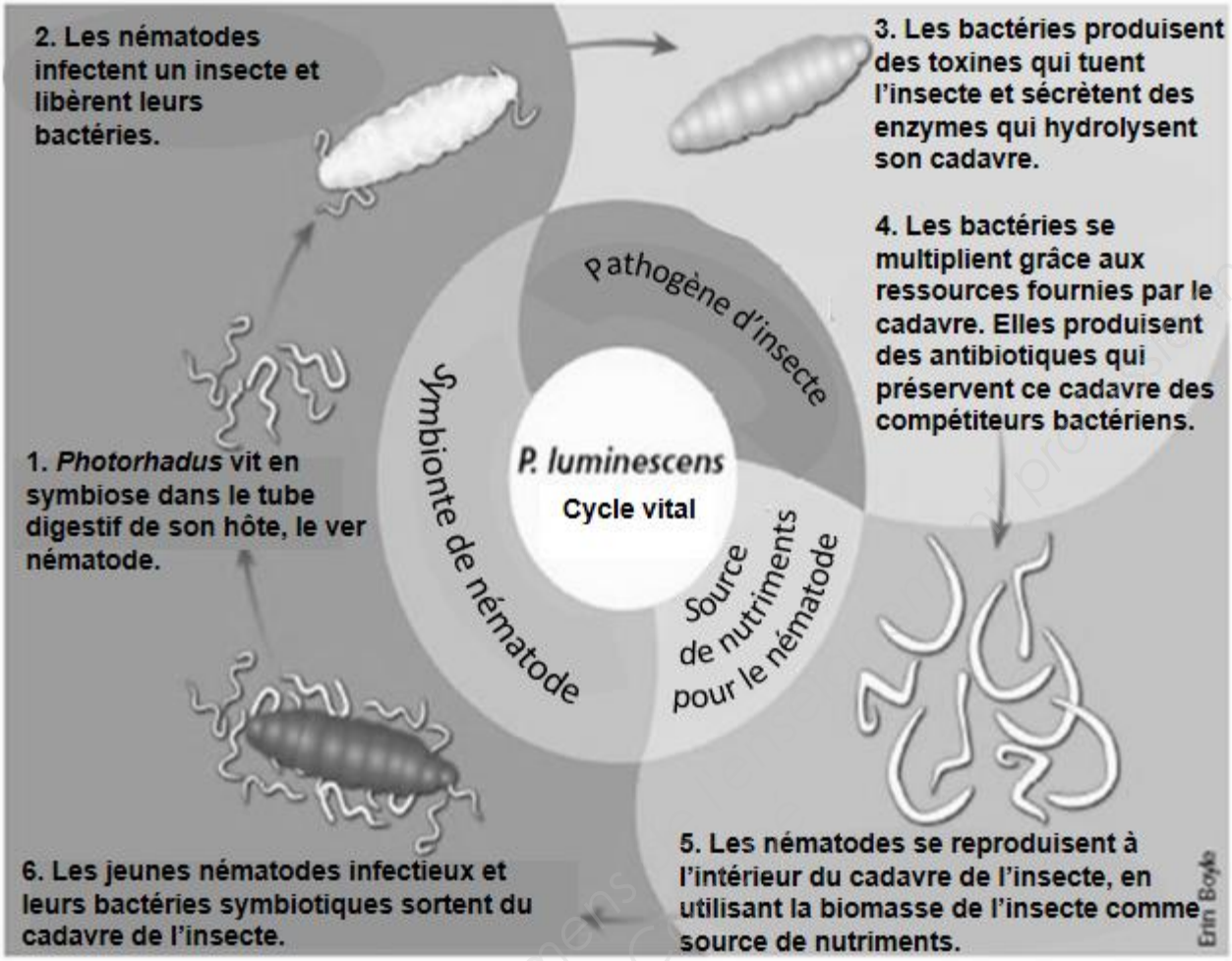
Document 5: Etude comparative de plusieurs milieux de culture pour la production industrielle de bio-insecticide en batch

Milieux	Milieu de Anderson 10 g·L^{-1}	Milieu de Anderson 20 g·L^{-1}	Milieu semi-synthétique	Milieu au son de blé
Substrat glucidique initial en g·L^{-1}	Glucose (10)	Glucose (20)	Glucose (5) Amidon (5)	Son de blé (30)
Protéines toxiques finales en g·L^{-1}	1,00	1,56	1,56	2,40
Glucose (ou équivalent) consommé en g·L^{-1}	9,91	19,94	8,95	18,00
Rendement ($R_{P/S}$) en mg de protéines toxiques par g de glucose	100,8	78,2	174,5	
Productivité volumique horaire totale en toxines en mg·L^{-1}·h^{-1}	30,3	32,5	43,4	50,0
Coût pour 1 L de milieu en dollar	1,8	2,0	3,9	0,006

D'après Jihane Rahbani, Institut National polytechnique de Toulouse, février 2015

Bonne utilisation des Sujets d'examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document 6 : Cycle vital de *Photorhabdus luminescens*



D'après : The representation of complex life cycle of Photorhabdus luminescens (Williamson et al. 2003, Nature, 21, 1294-1295) et http://www.nosopharm.com/fr/xenorhabdus-photorhabdus

Base Nationale des Sujets d'Examens
réseau CANOPE

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.