

TP 01 :

Caractérisation d'une moisissure.

Objectif :

Caractériser le thalle d'une moisissure.

Protocole de travail :

Observation macroscopique :

Dans une zone aseptique, ouvrir légèrement la boîte de Pétri contenant la moisissure et observer l'aspect de cette dernière. Puis refermer la boîte et observer le mycélium au recto de la boîte.

Résultats recherchés :

Exemple : Le mycélium d'*Aspergillus niger* apparaît noir poudreux, cloisonné radialement et avec un revers incolore.

Observation microscopique :

Déposer deux gouttes d'eau physiologique stérile sur lame puis étaler légèrement. Prélever un échantillon de la moisissure à l'aide d'une anse de platine, le déposer sur la lame et l'étaler délicatement afin de ne pas casser la structure ; puis recouvrir avec une lamelle. L'observation se fait sous microscope optique aux grossissements x10 puis x40.

Le prélèvement peut aussi se faire avec du ruban adhésif (scotch) qu'on applique directement sur la lame.

Résultats recherchés :

Exemple pour *A. niger* :

L'étudiant doit réussir à avoir une tête aspergillaire complète : sporophore surmonté d'un sporocyste, et des conidies (spores) disposées sur ce dernier. En cas, d'une mauvaise lame, l'étudiant doit refaire sa lame autant de fois que nécessaire afin d'avoir le résultat fixé. Une bonne lame permettra de caractériser les points suivants :

- sporocyste : couleur, forme, aspect, structure interne (columelle et septes radiales).
- sporophore : couleur, septé ou siphonné, paroi simple ou double, lisse ou ornementé, ramifié ou non, dressé ou tortueux, conidies déposées sur la paroi ou non.
- conidie : couleur, forme, disposition (en chainettes ou séparées, déposées sur quelle partie du sporocyste), longueur des chainettes, lisses ou ornementées.

- mycélium (seule une excellente lame permettra de l'observer) : couleur, septé ou siphonné, paroi simple ou double, ramifié ou non.

TP 02 :

Caractérisation de *Saccharomyces cerevisiae*

Objectif :

Caractériser la reproduction asexuée et sexuée de *S. cerevisiae*.

Protocole de travail :

Etape 1 : Dans la zone aseptique, prélever une petite quantité de la levure de boulangerie à l'aide d'une spatule stérile et mettre dans un tube à essai contenant le bouillon nutritif (ne pas faire la pesée, ni les dilutions afin d'éviter tout risque de contamination). Mélanger le tube à l'aide d'un vortex, le mettre au bain-marie pendant une minute à 30°C, puis prélever et déposer une goutte entre lame et lamelle. L'observation se fait sous grossissements x10 puis x40.

Résultats recherchés :

- Observer les asques caractéristiques de la reproduction sexuée de cette levure. Chaque asque contient quatre noyaux (= quatre spores).
- Observer la cellule végétative qui est plus petite de taille et contient un noyau seulement.
- Observer la disposition des cellules (séparées, en amas ou en chainettes)

Remarque : Si le microscope optique ne permet pas d'observer les noyaux, la différenciation entre la cellule végétative et l'asque se fait selon la taille et la couleur (L'asque est plus grand et de couleur verdâtre).

Etape 2 : Mettre la suspension de *S. cerevisiae* déjà préparée au bain-marie pendant 10 minutes à 30°C. Puis prélever une goutte, déposer sur une lame, étaler et recouvrir avec une lamelle. L'observation se fait aux mêmes grossissements.

Résultats recherchés :

- Observer la reproduction asexuée de *S. cerevisiae* qui se fait par bourgeonnement multipolaire.
- Observer la disposition des cellules (séparées, en amas ou en chainettes).

Dr. AKROUM