

TP n ° 1 : Mise en culture la levure de *Saccharomyces cerevisiae*

Matériel :

- Microscope, lames, lamelles, un cristalliseur avec eau de Javel, eau distillée, solution d'iode.
- Boîte de Pétri stérile, verre de montre, aiguille lancéolée, öse bouclée, étaloir.
- Tube avec gélose glucosée "Sabouraud", bec bunsen, levure de bière.

Les étapes de la manipulation :

1. Observation de levures a l'état brut :

- Dans un verre de montre, on place quelques gouttes d'eau et une miette de levure, prélevée avec une aiguille lancéolée. On mélange pour obtenir une solution légèrement laiteuse.
- Une goutte de cette solution est ensuite placée entre lame et lamelle pour être observée au fort Gr.

2. Coloration à l'iode :

- Sur le bord de la lamelle, on rajoute une goutte de solution iodée (lugol) pendant 2 à 3 min.

3. Ensemencement :

- On la fait fondre la gélose glucosée au bain marie puis on la verse rapidement dans une boîte de Pétri stérile, en ouvrant le couvercle au minimum. Cette opération se fait dans la zone de sécurité du bec bunsen.
- Quand la gélose est bien solidifiée, on dépose quelques gouttes de la suspension de levures et on la répartit sur toute la surface de la gélose, avec un étaloir, en faisant tourner la boîte de Pétri.
- On replace immédiatement le couvercle. La boîte est placée à l'envers dans une étuve à 37°C environ, pour une observation ultérieure des colonies ainsi obtenues.

4. Prélèvement des colonies :

- Dans un premier temps, il convient de passer l'öse bouclée à la flamme jusqu'à ce que le métal soit chauffé au rouge. Puis on la laisse refroidir dans la zone de stérilité de la flamme, sans qu'elle ne touche la table.
- On place ensuite quelques gouttes d'eau dans un verre de montre, puis on entrouvre la boîte de Pétri et, avec la boucle de l'öse, on prélève délicatement des levures, sans abîmer la gélose. Puis, on dilue des levures dans l'eau du verre de montre et prélever une goutte de cette suspension et la placer sur une lame et lamelle et observer au fort Gr.
- On peut faire une coloration à l'iode.

ATTENTION : il est possible que d'autres colonies se soient développées. Il ne faut pas y toucher car il peut s'agir de colonies bactériennes pathogènes. Elles seront détruites par l'eau de Javel et l'incinération, en même temps que les boîtes.

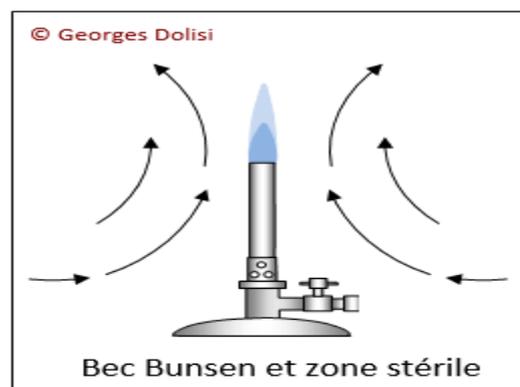
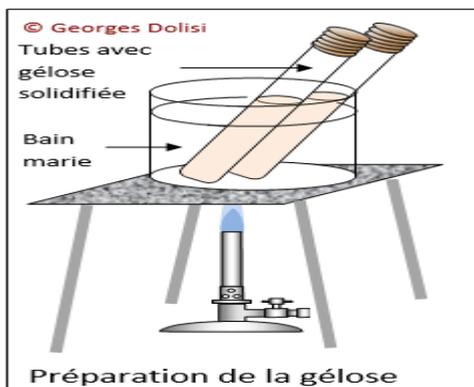
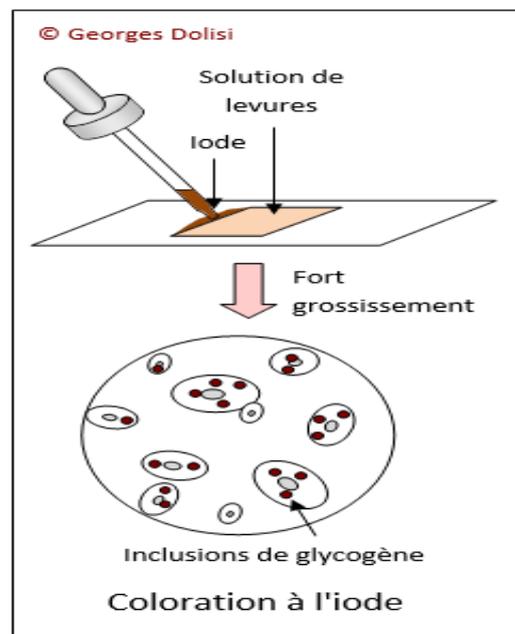
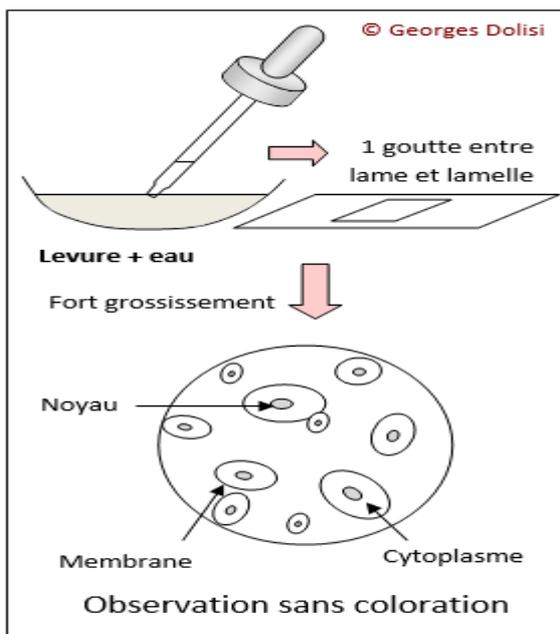
Les observations et les résultats :

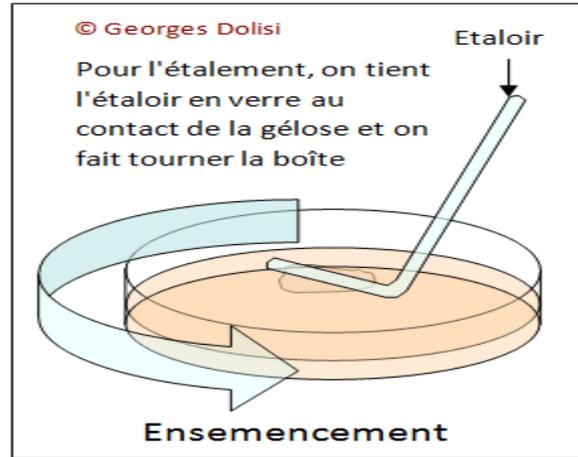
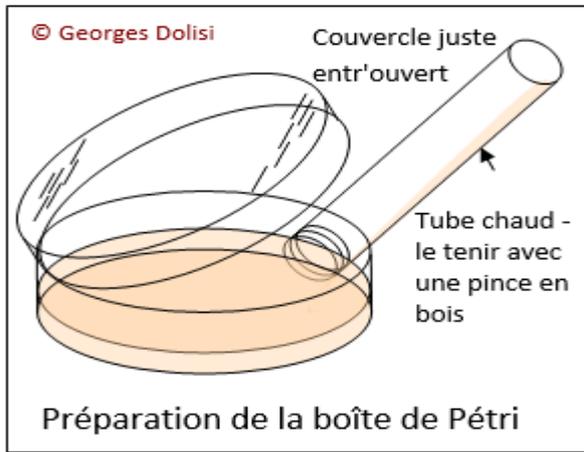
1. On distingue des C^s immobiles, plus ou moins sphériques, de 6 à 8 microns, pourvus d'un N. Le cytoplasme est entouré d'une membrane épaisse, caractéristique des cellules végétales. Il n'y a pas de chlorophylle, ce sont donc des champignons (Ascomycètes). Ils sont formés d'une seule C: il s'agit de levures.

2. Après 2 à 3 minutes, des inclusions brunes apparaissent dans les cellules. Ce sont des grains de glycogène, substances de réserve que les levures élaborent à partir du glucose.

4. **Le bourgeonnement** : Les levures utilisent le milieu solide de 2 façons : par la respiration et par la fermentation. Cette dernière leur permet d'utiliser le carbone du milieu de culture (il y en a dans le glucose) en l'absence d'oxygène. De ce fait, elles grandissent et se multiplient par bourgeonnement : lorsqu'une cellule a atteint sa taille maximale, elle forme un ou plusieurs bourgeons qui grandissent à leur tour puis se détachent de la cellule mère. Il s'agit d'une forme de **reproduction asexuée**.

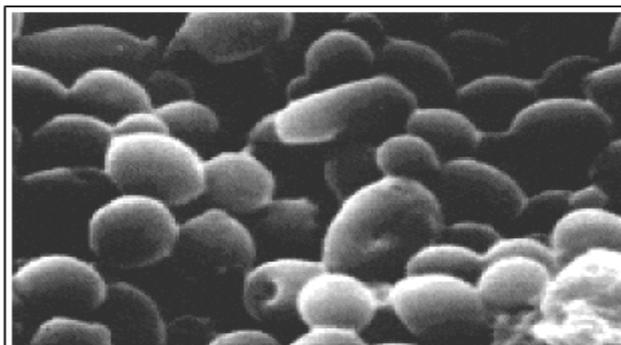
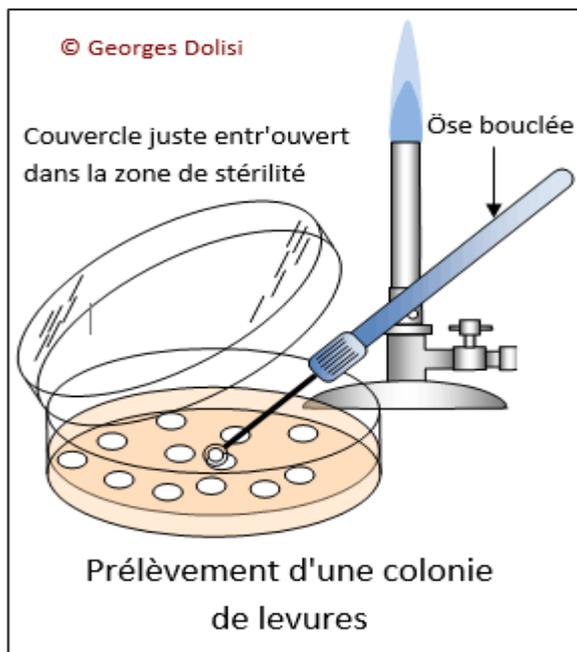
Les levures ayant stocké une quantité importante de glycogène, les inclusions brunes sont en principe mieux visibles.





Saccharomyces cerevisiae

Observation de cellules en bourgeonnement



Levure photographiées au MEB

