

**Université Ziane Achour de Djelfa**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Module Mycologie (3<sup>ème</sup> année Licence Parasitologie)**  
**Préparé par M. SOUTTOU K.**

**T.P. n° 1 : Observation d'un champignon unicellulaire : La levure**

**1. Objectifs**

L'objectif de ce TP est d'observer la cellule de la levure, un champignon unicellulaire.

**2. Sécurité**

Cette manipulation ne présente aucun danger.

**3. Matériels et produits**

**Matériel biologique :** Levure de boulangerie ou bien ultralevure achetée en pharmacie.

**Réactifs :** Rouge neutre, solution glucosée à 10 %, eau iodée.

**Matériels :** Microscope, lames, lamelles, pipette.

**4. Mode opératoire**

Se procurer de la levure de boulangerie, variété de levure capable de vivre au ralenti dans un substratum solide.

Diluer une quantité de levure dans une solution glucoses à 10 %, quelques heures avant l'observation; les individus de la levure retrouvent alors une vie active.

*Remarque :* l'ultralevure obtenue en pharmacie peut être aussi utilisée, de façon directe, dissoute dans un peu d'eau.

**Observation directe :** A l'aide d'une pipette, étaler une goutte de la culture sur une lame. Recouvrir d'une lamelle et observer au fort grossissement du microscope.

**Observation au rouge neutre :** Ajouter à une goutte de culture disposée sur une deuxième lame une goutte de rouge neutre. Recouvrir d'une lamelle et observer comme précédemment et dessiner,

**Fixation et coloration à l'eau iodée :** Ajouter enfin à une troisième lame supportant une autre goutte de culture de levure une goutte de réactif iodo-ioduré. Observer et dessiner.

**5. Résultats, observations et interprétation**

**Etude directe :** Dans de bonnes conditions de nutrition, comme ici avec une culture de levures sur solution glucosée et aérée, les individus, cellules ovoïdes à contenu dense et clair, émettent à l'état adulte une protubérance dans laquelle s'engagent des constituants cytoplasmiques et un noyau-fils. Le bourgeon ainsi formé, minuscule cellule, se détache ou

non de la cellule-mère, suivant l'âge de la culture; ainsi, dans de vieilles cultures, trouve-t-on de véritables chapelets de bourgeons.

Ce processus de bourgeonnement est le mécanisme de division des levures et, en conséquence la forme de multiplication végétative qui assure la prolifération des individus au sein de la culture.

*Remarque* : en situation particulière (mauvaise nutrition, etc.), les levures se reproduisent par voie sexuée avec formation de sporocystes particuliers ou asques producteurs d'ascospores (d'où leur classement parmi les Champignons Ascomycètes).

**Coloration vitale par le rouge neutre** : Elle permet d'observer à la fois le bourgeonnement et la présence d'une très petite vacuole dans le bourgeon, le rouge neutre colorant ici, comme chez les cellules végétales en général, le système vacuolaire. Chaque individu contient une ou deux petites vacuoles qui accumulent le colorant et deviennent de plus en plus visibles. Des cellules peuvent être complètement rouges : ce sont des cellules mortes entièrement vacuolisées ou totalement perméables (**Fig. 1**). Chez des individus âgés, des points plus colorés ou corpuscules métachromatiques se révèlent être des précipités vacuolaires.

**Fixation et coloration** : L'eau iodée tue les individus en les fixant et en les colorant (**Fig. 2**). Dans un cytoplasme figé, clair, s'observent des plages irrégulières de glycogène coloré en brun tant dans les cellules-mères que dans les bourgeons. Ce polysaccharide de réserve, voisin de l'amidon et de l'inuline, est une forme d'accumulation glucidique peu fréquente chez les végétaux (les champignons exceptés), banale au contraire dans le domaine animal.

Le glycogène produit du glucose par hydrolyse et se trouve en pseudo solution dans les vacuoles.

### **Conclusion**

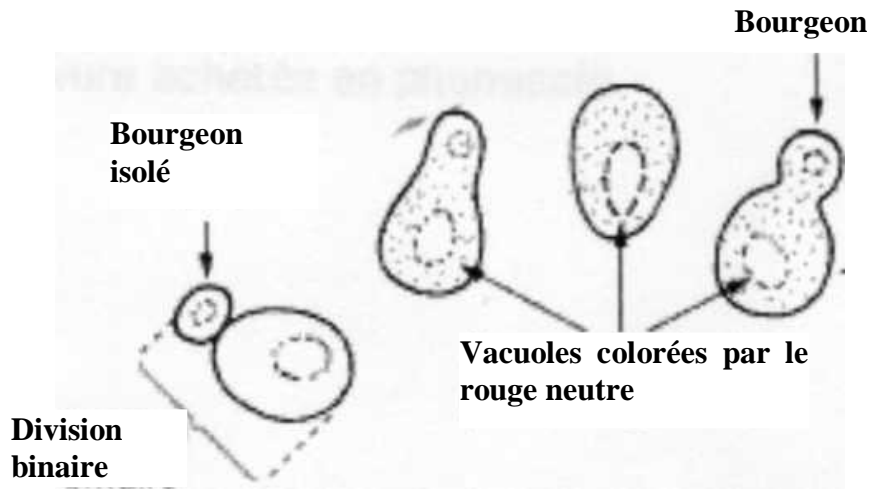
Les levures au thalle unicellulaire et non chlorophyllien font partie des champignons, incapables d'effectuer les réactions de photosynthèse. Ils se comportent en saprophytes empruntant à leur environnement les substances organiques qui leur sont nécessaires.

L'Homme utilise les levures comme agents de fermentation :

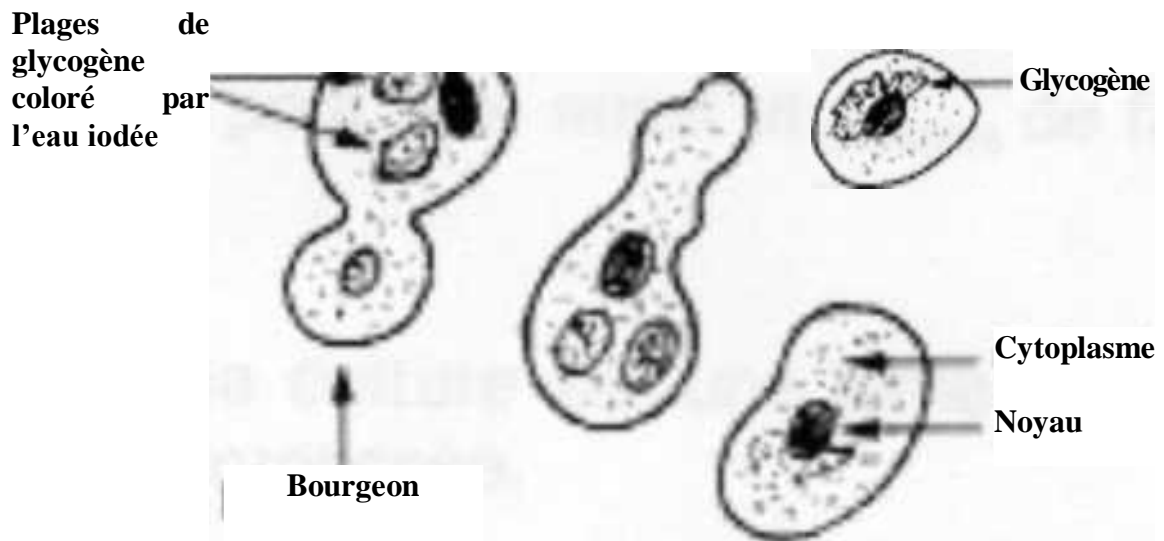
- dans les industries alimentaires (fabrication des boissons alcoolisées, du pain et des fromages fermentés);
- dans la préparation d'alcools industriels à partir de déchets agroalimentaires ou de résidus de l'industrie du papier.

### **Travail à faire :**

- 1) **Réaliser le mode opératoire : observation directe, observation au rouge neutre et la fixation et la coloration à l'eau iodée.**
- 2) **Schématiser et commenter l'observation au rouge neutre et la fixation et la coloration à l'eau iodée.**



**Fig. 1 :** Individus de levure (x 1000) colorés au rouge neutre



**Fig. 2 :** Individus de levure (x 1000) colorés par l'eau iodée