

**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° 3 : Observation de quelques mycètes**

**1. Objectifs**

L'objectif de ce TP est d'observer quelques mycètes par la méthode de prélèvement, au drapeau et apprendre la technique de culture sur lame gélosée.

**2. Matériels et produits**

**Matériel biologique :** milieu de culture de mycètes déjà préparée (*Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*).

**Réactifs :** bleu de coton (lactophénole), gélose, alcool absolu, milieu de culture Saboraud.

**Matériels :** Microscope, lames, lamelles, pipette, boîte de Pétri, papier filtre, chevalet, anse de platine, bec benzène.

**3. Mode opératoire**

**3.1. Méthode prélèvement au drapeau**

Un morceau de cellophane adhésive collé à une de ses extrémités sur une anse de platine est appliqué sur la surface de la culture de champignon à étudier, il est ensuite examiné entre lame et lamelle, en sandwich entre 2 gouttes de colorants (bleu de lactophénol ou bleu coton) (**Figure 1**).

**3.2. Technique de la culture sur lame gélosée**

Tremper une lame préalablement flambée dans la gélose maintenue à 60°. Poser cette lame sur le chevalet qui a été introduit dans une boîte de Pétri. Mettre au fond de la boîte quelques millilitres d'eau stérile pour éviter la dessiccation. Ensemencer le centre de la lame avec un fragment de mycélium jeune en plein développement (**Figure 2**).

Après un développement jugé suffisant, enlever de la lame la gélose en excès, faire sécher la lame à l'étuve à 37 °C, fixer par une grosse goutte d'alcool absolu, colorer (bleu coton acétique), déshydrater à l'alcool absolu, toluène, baume.

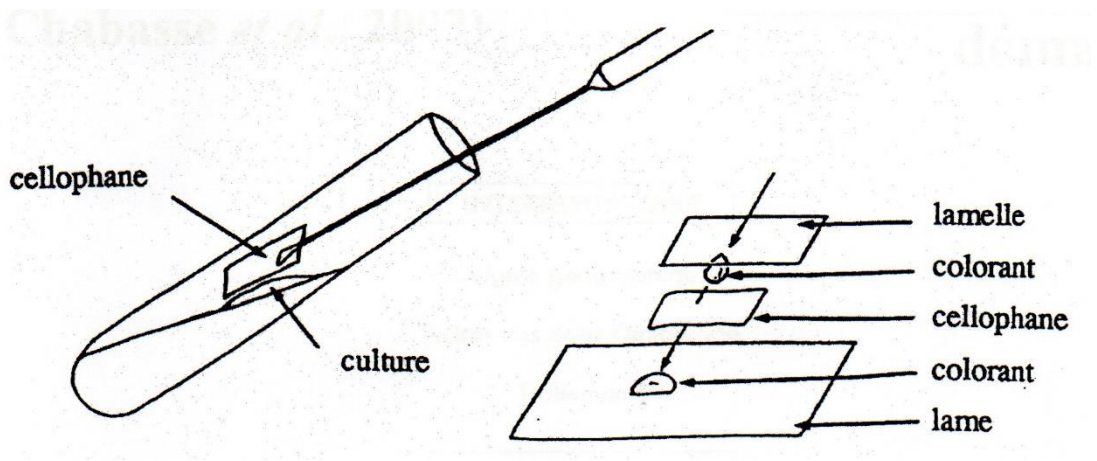
**3.3. Méthode du carré de gélose**

La culture se fait sur les quatre côtés d'un petit parallépipède de gélose Sabouraud (15 mm x 15 mm) de 2 mm d'épaisseur disposé sur la lame et recouvert d'une lamelle. Après culture on enlève la lamelle et le carré de gélose est rejeté. Il reste, adhérant au verre, des

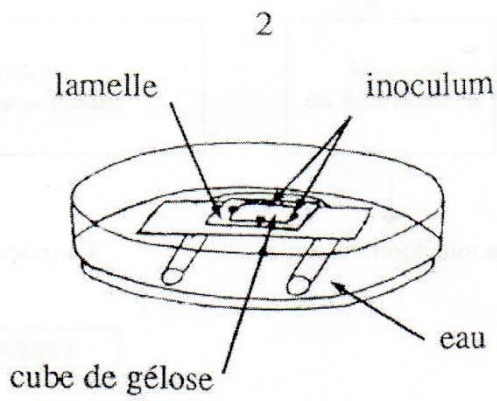
filaments et organes du champignon. On monte d'une part, la lame avec une lamelle neuve, d'autre part, la lamelle avec une lame neuve dans du bleu coton, on examine (**Figure 3**).

**Travail à faire :**

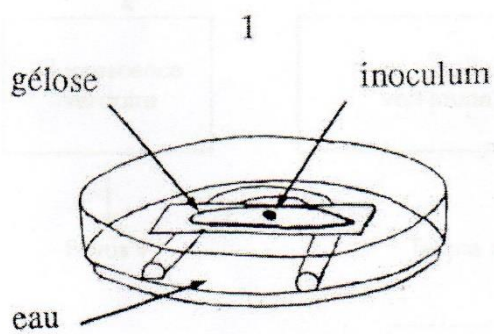
- 1) Réalisez le mode opératoire : Méthode prélèvement au drapeau. Examinez la préparation (le filament mycélien et l'appareil sporifère). Faites un schéma avec légende du filament mycélien et l'appareil sporifère. Choisissez le milieu de culture d'*Aspergillus* et de *Fusarium*.
- 2) Choisissez entre le mode opératoire : Technique de la culture sur lame gélosée et Méthode du carré de gélose. Réalisez l'un des deux modes opératoires.



**Figure 1 – Méthode prélèvement au drapeau**



**Figure 2 – Technique de la culture sur lame gélosée**



**Figure 3 – Méthode du carré de gélose**