

FSNVST

Département de Biologie

Module : Microbiologie appliquée et environnementale

Cycle : Master 2 Microbiologie appliquée

Chargée de module : Pr. GUETARNI H.

TP2 : Etude macroscopique et microscopique des champignons du sol agricole

1. But

Ce tp a pour objectif l'étude macroscopique et microscopique des champignons isolés du sol agricole .

2. Principe

Les champignons participent avec les autres organismes à la formation des sols, et ils sont indispensables, directement ou indirectement, à leur équilibre biologique et à toute la vie qu'ils portent. Il est important de connaître la charge de ces microorganismes disponible dans le sol. Pour cela, le comptage des colonies isolées sur milieu gélosé permet par méthode de calcul simple d'estimer la quantité de germes contenue dans le sol étudié.

3. Mode opératoire

- *Prélèvement du sol agricole* : A partir d'une parcelle de terrain agricole, 15g de sol est prélevé à l'aide d'une tarière (il faut creuser dans jusqu'à 30 à 40 cm d'épaisseur). Ce sol est transporté au laboratoire dans des sacs en plastique dont 10g de cet échantillon est mélangé à 90ml d'eau distillée stérile après tamisage et pesage.

- *Préparation des dilutions décimales* : A partir de la solution mère et après homogénéisation à l'aide d'un Vortex, 1 ml a été prélevé et la dilution 10^{-1} est ainsi réalisée. Après, 1ml de cette dilution est prélevé et mélangé à 9ml d'eau distillée stérile, la dilution 10^{-2} est ainsi réalisée jusqu'à la dilution 10^{-8} (l'homogénéisation est nécessaire avant chaque prélèvement)-

- *Ensemencement sur gélose PDA (potato dextrose agar)* : 0.1ml de chaque dilution de 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} est prélevé à l'aide d'une pipette et déposé dans une boîte de Pétri contenant de la gélose PDA (deux répétitions pour chaque dilution). Les boîtes sont retournées et mises à incuber à 30°C pendant une semaine.

- *Identification des champignons*:

L'identification des champignons est basée sur :

- l'observation macroscopique (couleur de la colonie pendant le développement et son diamètre).

- l'observation microscopique (présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature de la production et les caractéristiques des fructifications et des spores).

Le mycélium est fixé en utilisant une solution de lactophénol bleu coton.

Travail à faire :

1. Calculer le nombre des champignons pour chaque dilution (Norme internationale : $300 > \text{nombre de colonie} > 30$).
2. Calculer la concentration des germes dans 1g de sol.
3. Donner les caractéristiques microscopiques et microscopiques des champignons.
4. Rédiger un compte-rendu.

N.B : Présenter les résultats obtenus sous forme de tableaux et des figures.