
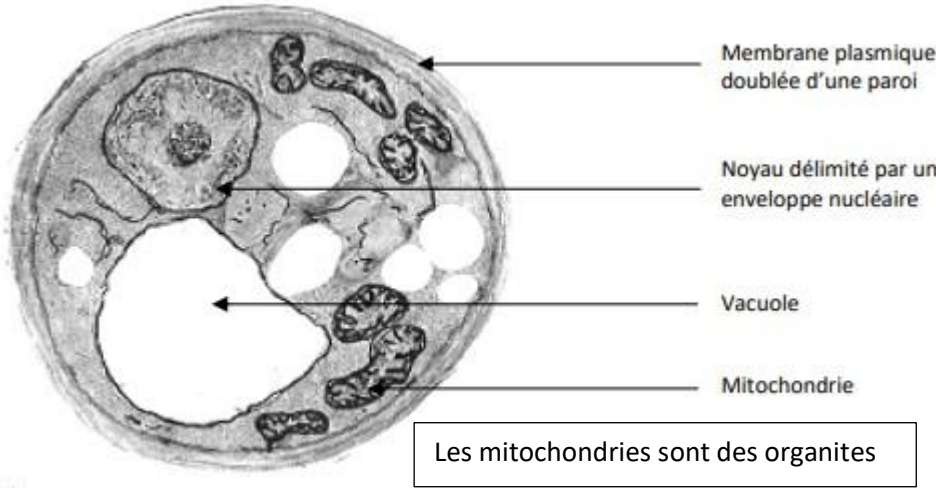


TP 04 Les besoins énergétiques et nutritifs des levures

Les levures sont des champignons unicellulaires omniprésents dans la nature : on les trouve dans le sol, l'eau, les voies digestives, sur les fruits, etc. Certaines espèces de levure sont utilisées pour faire du pain, des brioches, du vin, de la bière... (Dans la suite du TP, on utilisera une levure facile à se procurer, il s'agit de la levure de « boulanger » *Saccharomyces cerevisiae*). Mais de « quoi vivent » les levures ?

On se propose de déterminer quel type de métabolisme, hétérotrophe ou autotrophe, utilisent les cellules de levure.

Documents ressources	
Cellules de levure MO x600	Ultrastructure d'une cellule de levure microscope électronique x6000
	

Capacités de savoir-faire: - gestes techniques : utiliser le microscope et réaliser une préparation microscopique (réinvestissement des séances précédentes : chap.I => voir les fiches n°), être capable d'utiliser une chaîne EXAO avec des capteurs dans le cadre d'une démarche expérimentale
 - communiquer ses résultats pour répondre à la question

Activité 1 : observation de cellule de levure au microscope optique (10 min)

- 1- Réaliser une préparation microscopique de levure de boulanger (prélever une goutte à l'aide du compte-gouttes, déposer sur une lame, recouvrir d'une lamelle).
- 2- Observer au microscope (obj x4, puis obj x10 puis obj x 40 => attention aux étapes, réfléchir à l'utilisation des vis macro- et micrométrique, régler l'intensité de la lumière)
- 3- Faire vérifier votre préparation au professeur quand vous avez fini le travail précédent (penser à éteindre la lampe en attendant).

Activité 2 : recherche du type de métabolisme de la levure (1h20)

Démarche expérimentale guidée :

Toute démarche expérimentale débute par une ou plusieurs hypothèses que l'on souhaite vérifier. Les hypothèses sont formulées comme des phrases exclamatives. Dans le cas présent :

Hypothèse 1 : la levure de boulanger est un organisme hétérotrophe

Hypothèse 2 : la levure de boulanger est un organisme autotrophe

Prenons l'hypothèse 1 :

Si la levure est hétérotrophe, alors elle a besoin de se nourrir de pour se procurer de l'énergie.

Quelles sont alors les conditions expérimentales que je dois réaliser pour le montrer ? Et il faut penser à une expérience témoin. Je dois faire varier un seul paramètre d'une expérience à une autre. Je fixe à l'avance certaines conditions comme par exemple, la température, le pH, les quantités de produits, les concentrations.

Il me faut tester alors si la levure utilise l'énergie lumineuse, si elle a besoin de molécules organiques comme le glucose...Je me demande quel paramètre je peux mesurer pour montrer le type de métabolisme...

Matériel :

- Dispositif EXAO (Expérimentation Assistée par Ordinateur) et sa sonde à dioxygène
- Lampe + cache noir pour faire l'obscurité
- Levures rho+ (normales) et levure rho- (ne possédant pas de mitochondrie)
- Solution de glucose et sa seringue d'injection
- Bandelettes-test de glucose
- Microscope et sa fiche d'utilisation
- Lames, lamelles et pince
- Eau distillée
- 1 pipette de 5 mL et une propipette (pour prélever les levures)

Matériel (à ranger en fin de séance):

Microscope optique (1 par binôme) => voir fiche sur la paillasse pour le rangement
Lames, lamelles,
Matériel EXAO à ranger correctement => la paillasse sera vérifiée, vous resterez plus longtemps si ce n'est pas rangé de façon satisfaisante

Fiche protocole élèves

Préparation de l'expérience

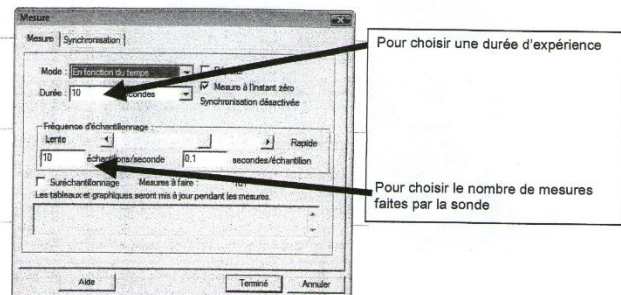


- 1 – Remplir le réacteur d'une suspension de levures à moitié du tube + agitateur
- 2 - Disposer correctement la sonde pour pouvoir mesurer le taux d'O₂ **sans qu'elle ne touche l'agitateur.**
- 3- Poser le réacteur sur le socle de la potence
- 4 - Allumer l'agitateur sous le « bioréacteur » (bouton). **Attention : vitesse de l'agitateur lente. L'agitateur ne doit toucher ni la sonde ni le bord du bioréacteur ! si non -> erreurs de résultats !**
- 5- Remplir la seringue de 1 mL de glucose et la positionner (voir montage)

Préparation des mesures

- 1- Allumer la console LabQuest
- 2 - Dès que l'écran est allumé et réactif, allez sur l'ordinateur *Bureau/ Logger Pro* et un graphique mesures s'affiche
- 3 - Paramétrer Logger Pro (*Voir ci-contre*)
 - mesure du temps = 5 min (ou 300 secondes)
 - nombres de mesures = 1 échantillon/s

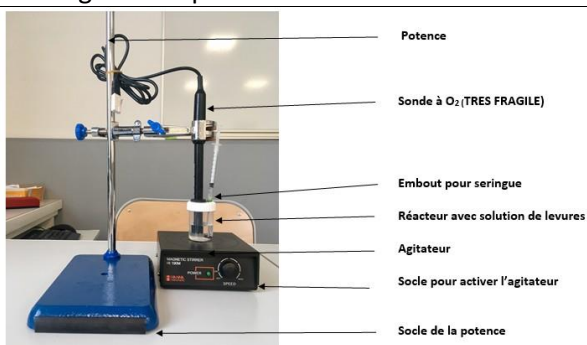
Fiche technique pour Logger pro
• Pour paramétrer la durée et le nombre de mesures faites par la sonde :
Aller dans « Expérience » puis « paramètres des mesures »



Expérience

- 1- Lancer les mesures (*écran de l'ordinateur touche mesurer*)
- 2- À T₁ (au bout de 1 min) injecter très doucement dans le bioréacteur 1 mL de solution de glucose
- 3 - À la fin de l'expérience notée T₅ (au bout des 5 min) faire un test de glucose en plongeant la bandelette test dans le bioréacteur
- 4- Réaliser une seconde expérience : soit la même mais avec une souche rho-, ou la même mais à l'obscurité...Vous superposerez vos résultats sur le même graphique
- 5- Copier/coller vos courbes dans un document libre office et imprimez les (*Fichier / imprimer / choisir imprimante*) => **attention deux graphiques sur la même page !!! (vous travaillez en binôme)**

Montage de l'expérience



Montage agrandi de l'expérience

