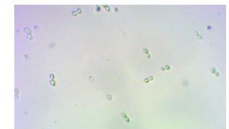




Observation au microscope (40x) après incubation de 24H à 30°C



Beaucoup de cellules visibles



Peu de cellules visibles

À RÉCEPTION DU COLIS :

- Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous
- Stocker** les articles du colis dans les bonnes conditions :
 - Placer la souche de levure et le flacon de milieu liquide au réfrigérateur à 4°C
 - Placer Le flacon d'huile d'olive, d'huile essentielle et le matériel à **température ambiante**.

Attention : Ces conditions de stockage sont à respecter scrupuleusement pour permettre une conservation générale des produits du kit de 1 mois.

- Aucun de produits livrés ne présentent de dangers**

Composition pour 40 élèves :

- Une souche de levure *saccharomyces cerevisae*
- Un flacon compte-goutte de 2 ml d'huile essentielle de géranium (*Pélargonium asperum*)
- Un flacon compte-goutte de 2 ml d'huile d'olive
- Une bouteille de 350 ml de milieu de culture liquide pour levure
- 80 tubes à fond plat (7 ml)
- 20 œses stériles
- Une boîte de 50 lames en verre 76 x 26 mm
- Une boîte de 100 lamelles en verre 20 x 20 mm
- Notice technique et pédagogique

Matériel nécessaire :

- Bec électrique ou bunsen pour travail en conditions stériles
- Enceinte de culture (température 30-37°C)
- Microscope et logiciel de comptage ou système de comptage (lame Kova ou autre)

Conservation : 1 mois à 4 °C

CONTEXTE

La conservation des bois de construction nécessite l'emploi de substances antifongiques (dirigées contre les champignons) toxiques pour l'Homme et l'environnement. Afin de réduire ces impacts environnementaux et sanitaires, l'utilisation d'huiles essentielles est une alternative envisagée. À ce titre, l'huile essentielle de *Pelargonium x asperum* (*Géranium d'Égypte*), originaire des Comores, est l'objet d'études.

On cherche à déterminer la pertinence de l'utilisation de l'huile essentielle des *Pelargonium X asperum* dans la protection antifongique des bois de construction.

Les élèves vont prélever une colonie de levures (*Sacharomyces cerevisiae*) et la mettre en milieu liquide dans deux tubes.

Ils vont ensuite ajouter :

- Une goutte d'huile essentielle de géranium odorant (*Pelargonium asperum*) dans l'un,
- Une goutte d'huile d'olive dans le deuxième tube, comme témoin.

Après 24H en étuve à 30°C, ils observeront que la présence de *Pelargonium asperum* a empêché le développement de la levure *Sacharomyces cerevisiae*.

NB: on pourra également faire un témoin sans aucun ajout pour vérifier l'effet de l'huile d'olive.

FICHE PREPARATEUR

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : étape à réaliser en conditions de stérilité (bec bunsen ou électrique ou encore hotte à flux)

1. **Préparation du milieu pour les levures** : transférer en conditions stériles 4 ml de milieu liquide dans les tubes à bouchons blancs)
2. **Déposer 2 tubes à fond plats pour chaque élève**

MANIPULATION

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : étape à réaliser en conditions de stérilité (bec bunsen ou électrique ou encore hotte à flux)

1. Chaque élève dispose de deux tubes qu'il identifie de la façon suivante : « T » (témoin) et « HE » (huile essentielle) et il indique également ses initiales.
2. Prélèvement de 2 colonies de levures à l'œse
3. Déposer le prélèvement dans le tube noté T, et bien froter l'œse dans le tube de manière à décoller et déposer les colonies dans le tube
4. Renouveler l'opération pour le tube noté HE
5. Ajouter 1 goutte d'huile essentielle dans le tube noté « HE » Ajouter une goutte d'huile d'olive dans le tube noté « T »

NB : un groupe peut ne pas mettre d'huile d'olive afin de faire un témoin 'sans rien' et montrer que l'huile d'olive n'a pas d'effet sur la culture de levures.

6. Refermer les tubes et bien les agiter
7. Dévisser les bouchons d'1/4 de tour afin de permettre l'aération des tubes
8. Mettre en étuve à 30°C pour 24H
9. Observation possible dès le lendemain :
 - a. Sortir les tubes
 - b. Les secouer et observer le tube témoin est trouble, le tube 'Huile essentielle' est beaucoup moins trouble
 - c. Prélever une goutte de chaque et les mettre entre lames et lamelles
 - d. Observer au microscope, si possible prendre des photos et procéder au comptage cellulaire.

NB : la différence est telle que l'observation au microscope sans système spécifique de comptage suffit.

RESULTATS

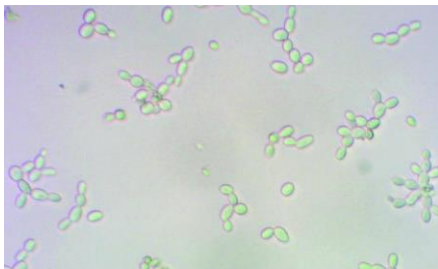
Milieu très trouble : les levures ont très bien poussé



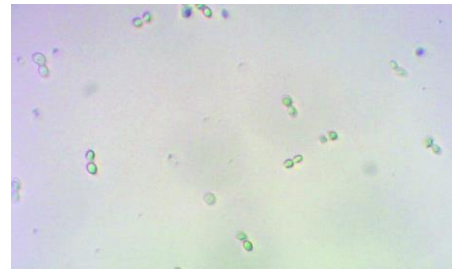
Milieu clair, les levures ont très peu poussé



Observation au microscope (40x) après incubation de 24H à 30°C



Beaucoup de cellules visibles



Peu de cellules visibles

FICHE TRI ET RECUPERATION

Les tubes doivent être décontaminés des éventuels contaminants avec de la javel (concentration 1%) ou de l'eau oxygénée puis jetée à la poubelle.

👁️👁️ **ATTENTION** 👁️👁️ : on ne contrôle jamais totalement ce qui pousse sur milieu complet, la décontamination est obligatoire.