

5-Culture au laboratoire et à grande échelle

5-1-La culture au laboratoire :

Selon l'objectif recherché, les mycètes peuvent se cultiver sur des milieux solides (en boîtes de Pétri, en tubes à essais ou en bécher) ou sur des milieux liquides (en tubes ou béchers).

Exemples : Si l'objectif est d'étudier l'aspect microscopique des mycéliums et des colonies, la culture est effectuée sur des géloses en boîtes de Pétri. Si l'objectif est la conservation des mycètes pendant un certain temps, il est préférable de réaliser une culture en gélose inclinée (en tubes).

*Les milieux de culture :

Les milieux utilisés en mycologie sont nombreux, parmi eux : le Sabouraud et le Potatose Dextrose Agar (gélose dextrosée à la pomme de terre) etc. Ces milieux permettent la croissance des champignons et inhibent les autres microorganismes, notamment les bactéries. Ces milieux sont qualifiés de « milieux de routine » ou « milieux usuels ».

Afin de permettre la croissance d'un groupe, une famille ou un genre de mycètes en particulier, des « milieux spécifiques » sont utilisés. Ils sont constitués d'un milieu de routine auquel un inhibiteur de croissance est ajouté. Ex : le Sabouraud au chloramphénicol et à la gentamicine.

* Facteurs environnementaux et nutritifs

Bien qu'ils soient relativement peu exigeants, les champignons filamenteux ont besoin d'un certain nombre de facteurs nutritifs et environnementaux tels que l'aération, le pH, la disponibilité d'eau, les nutriments et la température pour leur croissance.

* **La température** : La température de croissance des mycètes varie entre 25 et 35°C. En général, 25°C est une température idéale pour le développement des moisissures et 30 à 37°C est l'intervalle adéquat pour la croissance des levures (les levures pathogènes pour l'homme se cultivent préférentiellement à 37°C).

* **Le pH** : Les mycètes croissent dans des pH variant entre 4,5 et 8,0, mais la majorité des espèces préfère un pH légèrement acide, entre 5,5 et 6,5.

* **L'oxygène** : Les mycètes sont aérobies facultatifs et ce même si plusieurs

d'entre eux fermentent les glucides. Néanmoins, quelques espèces sont anaérobies et colonisent des habitats particuliers comme le rumen des animaux.

* **La lumière** : Elle n'est pas indispensable pour la croissance végétative des champignons. Cependant, la lumière peut jouer un rôle sur la sporulation : elle favorise la sporogénèse chez certaines espèces.

***Aw** : La quantité d'eau disponible dans le substrat et l'ambiance environnante sont très importantes pour la croissance des moisissures.

***Nutriments** :

Les plus importants sont le Carbone et l'Azote, utilisés sous forme de composés organiques, et des ions minéraux (potassium, phosphore, magnésium, calcium...) en quantités très faibles mais essentielles à la stimulation et l'orientation du développement fongique. Ces éléments nutritifs sont accessibles aux moisissures du fait qu'ils sont disponibles dans la nature.

5-2-La culture à grande échelle :

Elle s'effectue dans des bioréacteurs ou bio fermenteurs dont les types varient selon :

- La souche productrice (levure ou moisissure, à croissance rapide ou lente, exigeante ou non, etc.)
- Le milieu utilisé (liquide ou solide, renouvelé ou non, etc.)
- Le produit recherché (constitutif des cellules ou excrété dans le milieu, primaire ou secondaire)
- Le coût économique.

Selon les montages, deux types de cultures peuvent être effectués :

- **La « culture en batch » ou « culture discontinue » :**

Elle nécessite des bioréacteurs munis des systèmes de mesure et de réglage des paramètres de culture. Une fois que le milieu et conditions physicochimiques deviennent défavorables (ex : épuisement des substrats, acidité), la croissance des microorganismes s'arrête (Figure 10).

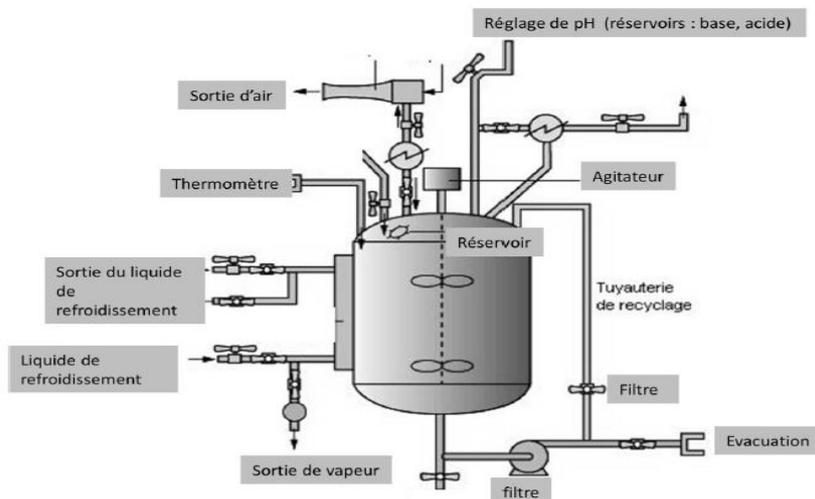


Figure 10 : Exemple d'un bioréacteur pour la culture en batch.

- **La « culture en milieu renouvelé » ou « la culture continue » :**

En plus de la mesure et du réglage des paramètres de culture, le bioréacteur doit permettre le renouvellement du milieu de culture et de la souche si nécessaire.

6. Classification des champignons

La classification des champignons est basée principalement sur le type du thalle, le type de reproduction (sexuée et asexuée).

Cinq divisions sont connues chez les mycètes : Les Chytridiomycètes, les Oomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Zygomycètes . Cette classification englobe les thalles unicellulaires (levures), les thalles filamenteux (moisissures), et les thalles primitifs (plasmodes).

6.1. Les levures : Les levures sont des mycètes à thalle unicellulaire. La majorité d'entre elles effectuent une reproduction sexuée par formation d'asques contenant des ascospores. Elles appartiennent alors aux Ascomycètes. Ex : *Saccharomyces*, *Candida* .

6.2. Les Chytridiomycètes sont des champignons parfaits : ils sont capables d'effectuer la reproduction sexuée. Ces mycètes sont aquatiques. Ils peuvent vivre en parasites, saprophytes ou symbiotes. Ils ont un thalle primitif (non bien défini) siphonné.

La reproduction sexuée des Chytridiomycètes s'effectue avec des cellules sexuées monoflagellées dites « zoïdes » ou « zoospores sexuées ». La germination de ces cellules donne des thalles avec des « gamétanges » ou « sporanges sexués » qui produisent à leur tour des zoïdes

mâles ou femelles. En fusionnant, ces derniers forment des zygotes diploïdes biflagellés (Figure 11). Le passage à la phase asexuée se fait par des mitoses successives du zygote produisant une multitude de zoospores monoflagellées asexuées. La germination qui s'en suit donne de nouveaux thalles diploïdes munis de sporanges asexués qui forment les zoospores.

Le retour vers la phase sexuée s'effectue par une mitose des noyaux des sporanges formant des zoïdes flagellés et le cycle recommence.



Figure 11 : Zoïdes monoflagellés et zygotes biflagellés

6.3. Les Oomycètes (Oomycota)

Ce sont des mycètes parfaits à thalle primitif siphonné. Ils vivent en milieu aquatique ou sur les sols très humides. Leur paroi cellulaire se caractérise de celle des autres champignons par l'absence de la chitine. Ils sont constitués de thalles filamenteux rampants qui se fixent aux substrats par des rhizoïdes. Les Oomycètes effectuent la reproduction asexuée avec des zoospores démunies de paroi cellulaire et mobiles par deux flagelles dissemblables : l'un lisse, l'autre « poilu » ou « Velu » ; elles sont dites « planospores ».

La reproduction sexuée est réalisée par la fusion d'un gamétange mâle « spermatocyste » avec un gamétange femelle « oogone » donnant une oospore. La fécondation s'effectue à l'intérieur de cette dernière sans libération des gamètes. Les spores formées alors sont diploïdes et sont libérées sous forme de zoospores biflagellées. Après germination, chaque zoospore donne un thalle siphonné diploïde muni de sporocystes asexués. Si les conditions deviennent défavorables, les noyaux de ces derniers subissent une méiose et forment à nouveau des spermatocystes et des oogones ; et le cycle recommence (Figure 12).

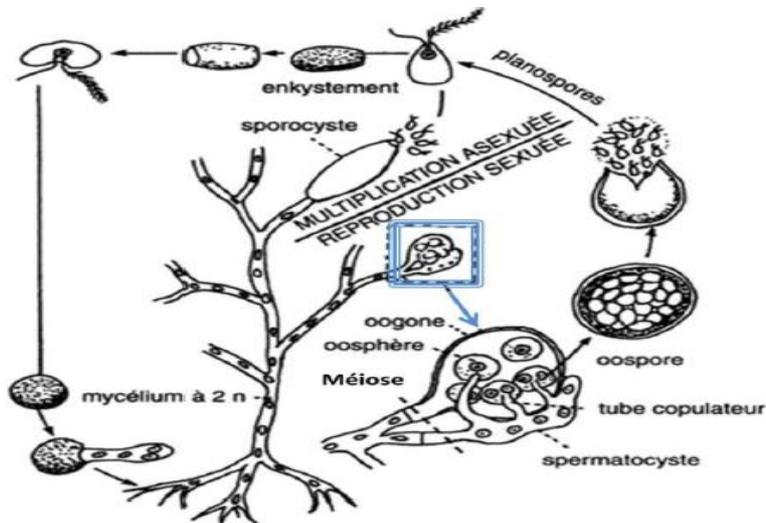


Figure 12 : Cycle de reproduction des Oomycètes

6-4. Les Ascomycètes (Ascomycota)

Les Ascomycètes sont des champignons parfaits. Contrairement aux deux premières divisions, le thalle ici est bien défini : il est septé. Ces mycètes effectuent la reproduction sexuée en formant des asques contenant des ascospores en nombre pair (2, 4, 8, 16, 32, etc.). La libération des ascospores se fait par ouverture de la partie supérieure des asques. De ce fait, elles sont qualifiées de spores « internes exogènes » (Figure 13).

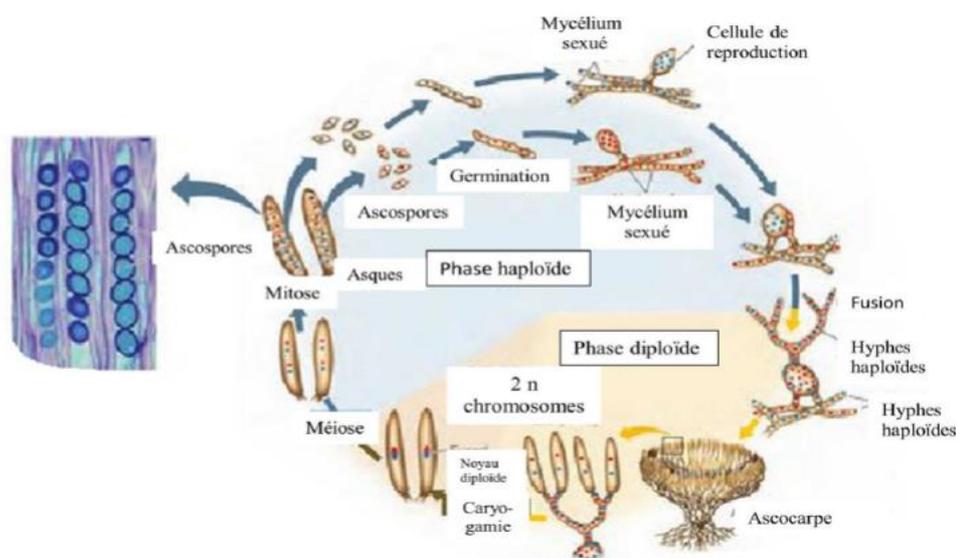


Figure 13 : Cycle de reproduction des Ascomycètes.

6-5. Les Basidiomycètes (Basidiomycota)

Les Basidiomycètes sont des champignons parfaits et supérieurs. Ils ont un thalle septé développé et effectuent la reproduction sexuée en formant des basides qui donnent des basidiospores portées par des stérigmates (petits pédoncules).

Après la méiose effectuée dans la baside, les stérigmates permettent le passage des noyaux haploïdes vers les basidiospores formées directement à l'extérieur. Une fois mûres, ces dernières sont libérées par rupture des stérigmates. Par opposition aux ascospores, les basidiospores sont dites spores « externes ». La figure 14 montre le cycle de reproduction des Basidiomycètes.

Les basides sont rassemblées dans une structure dite « basidiocarpe » et communément appelée « chapeau

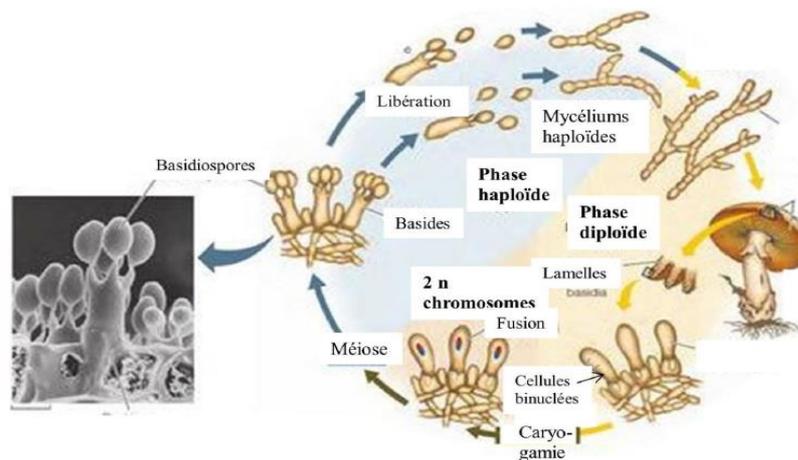


Figure 14 : Cycle de reproduction des Basidiomycètes.

6-6. Les Zygomycètes (*Zygomycota*)

Ce sont des champignons parfaits. Ils ont un thalle siphonné et effectuent la reproduction sexuée par formation des zygospores (Figure 15). Les Zygomycètes forment un mycélium souvent envahissant, fixé au substrat avec des rhizoïdes et surmonté d'un grand nombre d'organes reproducteurs.

- Les sporocystes ou gamétocystes : Ils représentent les organes reproducteurs.

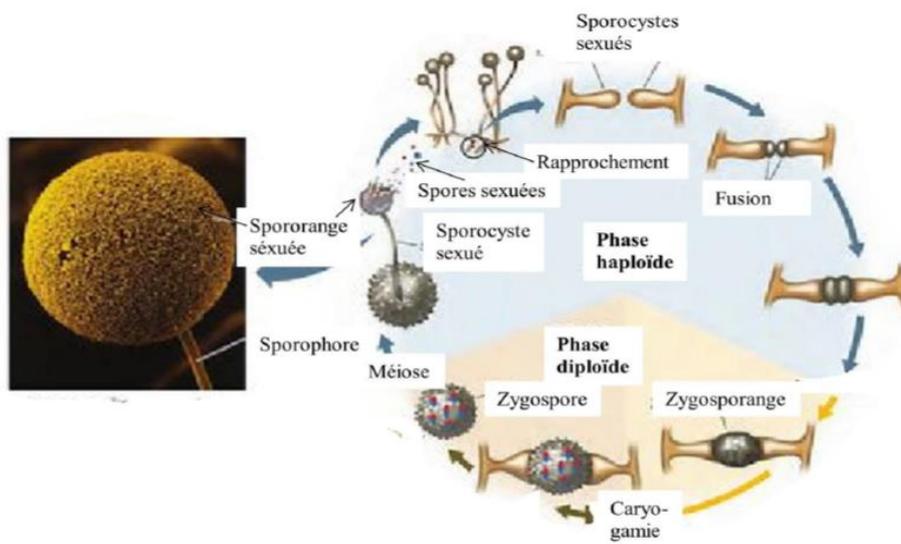


Figure 15: La reproduction sexuée des Zygomycètes.