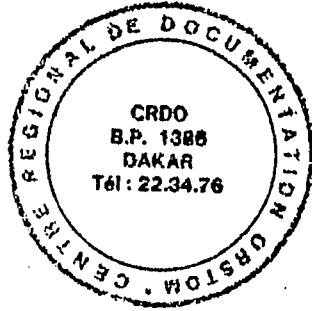


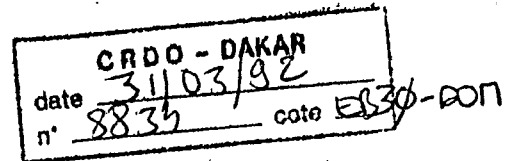
J. Am



X mhp2168

- FORMULES DE MILIEUX LIQUIDES -

par Y. DOMMERGUES



CENTRE DE PEDOLOGIE
DE HAIN

Mois de Septembre 1959.

Fonds Documentaire ORSTOM
Cote: Bx 4964 Ex: 1

ORSTOM Documentation



010004964

FORMULES DE MILIEUX LIQUIDES

Les milieux liquides, dont les formules figurent ci-après, ont été mis au point au laboratoire de Biologie des Sols de Hann, à l'exception du premier milieu déjà décrit par O.N. ALLEN (1) et du milieu pour numération de la microflore amylolytique qui n'est qu'une variante du milieu proposé par M.A. CHALVIGNAC (2).

Ces milieux, sauf le 3ème, se prêtent remarquablement bien à la méthode d'appréciation par numération cinétique d'AUGIER-LAVERGNE (3). On a adopté, dans la plupart des cas, le principe d'une première dilution 10⁻¹, suivie de 15 dilutions de raison 4, l'ensemencement se faisant sur 12 tubes par dilution avec 1 ml. de suspension par tube. On procède aux lectures les quatrième, cinquième, sixième, septième, huitième, dixième, douzième, seizième, vingt et unième et trente cinquième jours.

Pour la numération de la microflore sulfoxydante (3ème milieu), on effectue 6 dilutions de raison 10. Pour chaque dilution, on ensemence 5 tubes avec 1 ml. par tube. L'interprétation des résultats est faite suivant la méthode de MAC CRADY (4).

Dans tous les cas, les deux ou trois premières dilutions sont faites avec une solution de pyrophosphate de sodium à 1 p. mille et les suivantes à l'eau distillée. La température d'incubation est toujours de 30° C.

(1) O.N. ALLEN (1953).- Experiments in soil bacteriology. Burgess publishing Co., Minneapolis, Minnesota.

(2) M.A. CHALVIGNAC (1953).- Annales de l'Institut Pasteur, 84, p. 816.

(3) J. AUGIER et D. LAVERGNE (1958).- Annales de l'Institut Pasteur. 95, p. 343-353 et p. 104-614.

(4) J. POCHON (1954).- Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. Masson, PARIS.

I - MILIEU POUR LA NUMERATION DE LA MICROFLORE MINERALISANT
ET PRECIPITANT LE FER ORGANIQUE

Composition:

Sulfate d'ammonium	0,5 g
Nitrate de sodium	0,5 g
Phosphate bipotassique	0,5 g
Sulfate de magnésium	0,5 g
Chlorure de calcium	0,2 g
Citrate ferrique ammoniacal	10 g
Eau distillée . q.s.p.	1.000 ml

Répartition:

En tubes de 12 x 120, à raison de 3 ml par tube.

Stérilisation:

Deux fois 1/2 heure à 120° à 24 h d'intervalle.

Numération cinétique:

Ce milieu permet de dénombrer, à la fois, les germes minéralisant le fer sans le précipiter et les germes minéralisant et précipitant le fer.

a) - Microflore minéralisant le fer sans le précipiter -

Sont positifs, les tubes présentant, en surface, une pellicule d'oxyde de fer brillante, couleur rouille caractéristique.

b) - Microflore minéralisant et précipitant le fer -

Sont positifs, les tubes où l'on observe une précipitation nette du fer, quo le précipité soit encore brun ou qu'il ait déjà pris une teinte bleu-verdâtre.

.../...

2 - MILIEU POUR LA NUMERATION DE LA MICROFLORE REDUISANT
LES SULFATES A L'ETAT DE SULFURES (S.R.C.)

Composition:

Gélatine en poudre	35 g
Albumine d'oeuf en poudre	2 g
L - Cystine	0,5 g
Citrate de fer ammoniacal	0,5 g
Solution saline A	60 ml
Eau distillée q.s.p.	1.000 ml

Répartition:

En tubes de 12 x 120, à raison de 3 ml par tube.

Stérilisation:

Deux fois 1/2 heure à 120° à 24 h d'intervalle.

Numération cinétique:

Sont positifs les tubes présentant une couleur noire très nette
due aux sulfures.

.../...

3 - MILIEU POUR NUMERATION DE LA MICROFLORE RESPONSABLE
DE L'OXYDATION DU SOUFRE EN SULFATE (CS2)

Composition du milieu:

Nitrate d'ammomium	2 g
Carbonate de calcium	5 g
Soufre fleur	20 g
Solution Winogradsky D ₁	30 ml
Eau distillée q.s.p.	1.000 ml

Composition de la Solution Winogradsky D₁ (sans Soufre):

Phosphate monopotassique	10,000 g
Phosphate disodique	3,000 g
Chlorure de magnésium	1,000 g
Chlorure ferrique	0,4 ml
Chlorure de manganèse	0,020 g
Molybdate de sodium	0,001 g
Eau distillée q.s.p.	1.000 ml

Répartition:

En tubes de 18 x 180 à raison de 4 ml par tube, en prenant soin d'agiter le milieu avant de le répartir pour avoir une quantité suffisante de soufre dans chaque tube.

Stérilisation:

Deux fois à 110° à 24 heures d'intervalle.

Lecture:

La caractérisation des sulfates se fait au bout de 4 semaines en versant dans chaque tube 7 gouttes d'acide chlorhydrique pur, puis en filtrant, si nécessaire, et en ajoutant 4 gouttes de chlorure de baryum à 20%. Lors de la lecture effectuée un quart d'heure après l'apport du chlorure de baryum, on ne considère comme positifs que les tubes où le précipité de sulfate de Baryum est net.

.../...

4 - MILIEU POUR NUMERATION DE LA MICROFLORE CMC LYTIQUE (C.M.C.)

Composition:

Blanose R 190	15 g
Eau distillée	1.000 ml

Faire fondre, dans un grand ballon, en agitant constamment; lorsque la CMC est totalement fondue, ajouter:

NO_3NH_4	1 g
Solution Winogradsky B	30 ml
Extrait de terre	30 ml
CO_3Ca précipité Mark	3 g

Répartition:

En tubes de 12 x 120, à la dose de 2 ml, avec une seringue à transfusion de 100 ml.

Stérilisation:

Deux fois à 120°C à 24 heures d'intervalle.

Numération cinétique:

Sont positifs les tubes où le carbonate de calcium, qui était maintenu en suspension dans le 1/3 inférieur du tube, s'est entièrement rassemblé au fond. Dans ces tubes, où il y a eu CMCllyse, le milieu qui était laiteux à la base devient parfaitement transparent.

.../...

5 - MILIEU POUR NUMERATION DE LA MICROFLORE AMYLOLYTIQUE.

Composition :

Amidon soluble	2 g
Nitrate d'ammonium	0,120 g
Solution saline A	30 ml
Solution de rouge de phénol à 0,02 % dans l'eau ...	15 ml
Soude normale	20 ml
Eau q.s.p.	1.000 ml

Répartition :

Tubes 12 x 120, à raison de 3 ml par tube.

Stérilisation :

Deux fois 20 minutes à 110°C, à 24 heures d'intervalle.

Ensemencement :

Pour la plupart des sols les deux premières dilutions seront de raison 10 et seront suivies de 14 dilutions de raison 4.

Numération cinétique :

Sont positifs les tubes où il y a apparition d'un voile, d'un trouble ou de colonies de bactéries ou de champignons.

Le critère basé sur le virage de l'indicateur coloré ne doit être utilisé qu'avec prudence : Ce virage correspond incontestablement à une attaque de l'amidon; mais l'expérience a prouvé :

- 1) que l'amylolyse n'entraînait pas toujours une acidification du milieu.
- 2) que cette acidification, lorsqu'elle avait lieu, pouvait être très fugace.

Afin de faciliter les lectures successives il est recommandé de marquer au crayon à verre les tubes positifs.