

50376 UNIVERSITE DE LILLE

FACULTE DES SCIENCES.

50376  
1963

1963  
53

53

Mémoire présenté en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES DE SCIENCES NATURELLES.

ISOLEMENT, CARACTERES ET DETERMINATION DES BACTERIES

VIVANT DANS DES ORGANES VEGETAUX.



Soutenu à LILLE le Janvier 1963  
par Gaston LAPERE.

Un certain nombre de travaux établissent que les organes de différents végétaux sains renferment des bactéries. Citons notamment les travaux de Tonzig (7) sur divers organes (feuilles, tiges, racines et fruits) de plantes supérieures (*Dactylis glomerata*, *no* *pedium album*, *Ranunculus repens*, *Malva sylvestris*, etc ...) de Samisch (5-6) sur la tomate et le concombre et enfin ceux qui, poursuivis à l'Institut Botanique de Lille, ont été consacrés aux embryons de haricot (2), à la carotte (3), à la betterave (4).

En général, ces recherches ont surtout consisté en une constatation de la présence de bactéries, et les auteurs se sont peu attachés à leur identification, exception faite toutefois de Samisch (6) qui dans la tomate en détermine plusieurs.

Notre travail a eu pour objet d'isoler le plus grand nombre d'espèces bactériennes présentes dans divers tubercules, caryopses et embryons, de les différencier par un certain nombre de caractères et de les déterminer.

Nous n'avons pas la prétention d'avoir isolé toutes les souches bactériennes se trouvant dans les végétaux utilisés et dans ce domaine, il reste encore beaucoup de recherches intéressantes à faire

**Voici les différents organes et végétaux que nous avons examinés :**

**Tubercules de :** *Beta vulgaris* L.  
*Raphanus sativus* L. var. *niger*  
*Cichorium Intybus* L.  
*Daucus Carota* L.  
*Brassica Napus* L. var. *esculenta*  
*Helianthus tuberosus* L.  
*Apium graveolens* L.

**Caryopses de :** *Triticum sativum* Lam  
*Zea Mays* L.

**Embryons de :** *Phaseolus vulgaris* L.

## I - Techniques utilisées :

### I) Etude des conditions de travail dans la chambre stérile.

Toutes les expériences : isolement, broyage, transplantation, repiquage, ont été réalisées dans une pièce dont l'air est stérilisé par un appareil générateur de rayons ultra-violets Hycostéril (4 tubes de 85cm - type Philips - 57413 - P/40 - 30w).

La stérilité de cette chambre a été vérifiée de la façon suivante : des boîtes de Pétri renfermant un milieu gélosé nutritif dont nous donnerons la composition plus loin sont, après passage à l'autoclave, divisées en trois lots :

- Les boîtes du premier lot sont maintenues ouvertes dans la chambre stérile qui a subi un éclairage préalable de deux heures aux rayons U.V.
- Celles du second lot sont mises aux mêmes endroits, dans les mêmes conditions, mais les tubes à rayons U.V. continuant à fonctionner.
- Le dernier lot est, quant à lui, placé dans le laboratoire, en dehors de la chambre stérile.

Dans chacun de ces trois cas, les temps d'ouverture des boîtes sont de :

- 15secondes, 30secondes, 1minute, 2minutes et 5minutes.

Après un séjour de 48h à l'étuve à 37°, nous pouvons constater, comme le traduit la photo (p.4) que de nombreuses

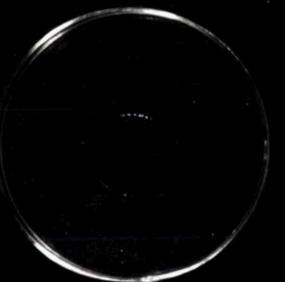
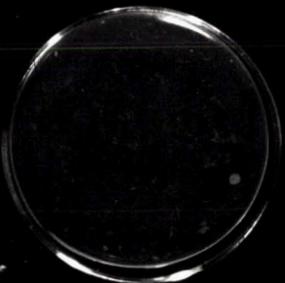
5mn

2mn

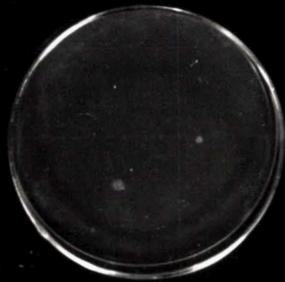
1mn

30s

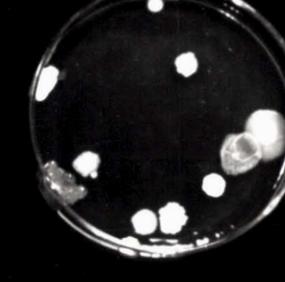
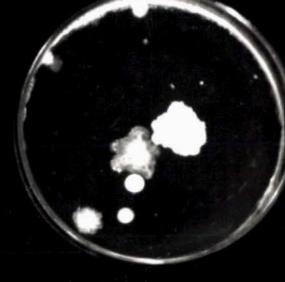
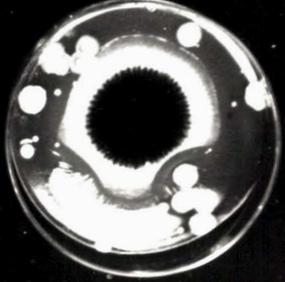
15s



CHAMBRE STERILE(2hU·V)+U·V



CHAMBRE STERILE(2hU·V)



LABORATOIRE

colonies bactériennes, en général fortement pigmentées, et aussi des champignons (*Penicillium* et *Mucor*) ont proliféré sur les milieux exposés à l'air du laboratoire. Au contraire, les deux séries de boîtes couvertes dans la chambre stérile ne révèlent pratiquement aucune pollution.

Par conséquent, en effectuant toutes nos expériences dans cette pièce et dans les conditions définies (2 heures d'éclairage), nous éliminons en fait toute possibilité d'infection extérieure. Les photographies que nous présentons sont d'ailleurs à cet égard tout-à-fait concluantes.

## 2) Stérilisation des milieux de culture

Elle est effectuée de façon classique dans un autoclave à 120°, soit une atmosphère de pression, pendant 20mn.

## 3) Incubation des milieux

Elle a lieu dans tous les cas à l'étuve à 37°.

## 4) Techniques de mise en culture d'organes ou de fragments d'organes.

Les méthodes utilisées diffèrent selon qu'il s'agit de prélever un fragment de tubercule ou de mettre en bouillon de culture un grain ou un embryon.

### a) Prélèvement à l'intérieur d'organes tubérisés :

La surface externe du tubercule est stérilisée par un bain dans du sublimé (solution de chlorure mercurique à 0,2%) pendant 20mn. L'organe est ensuite passé à l'alcool et flambé. La région dans laquelle on fait des prélèvements est

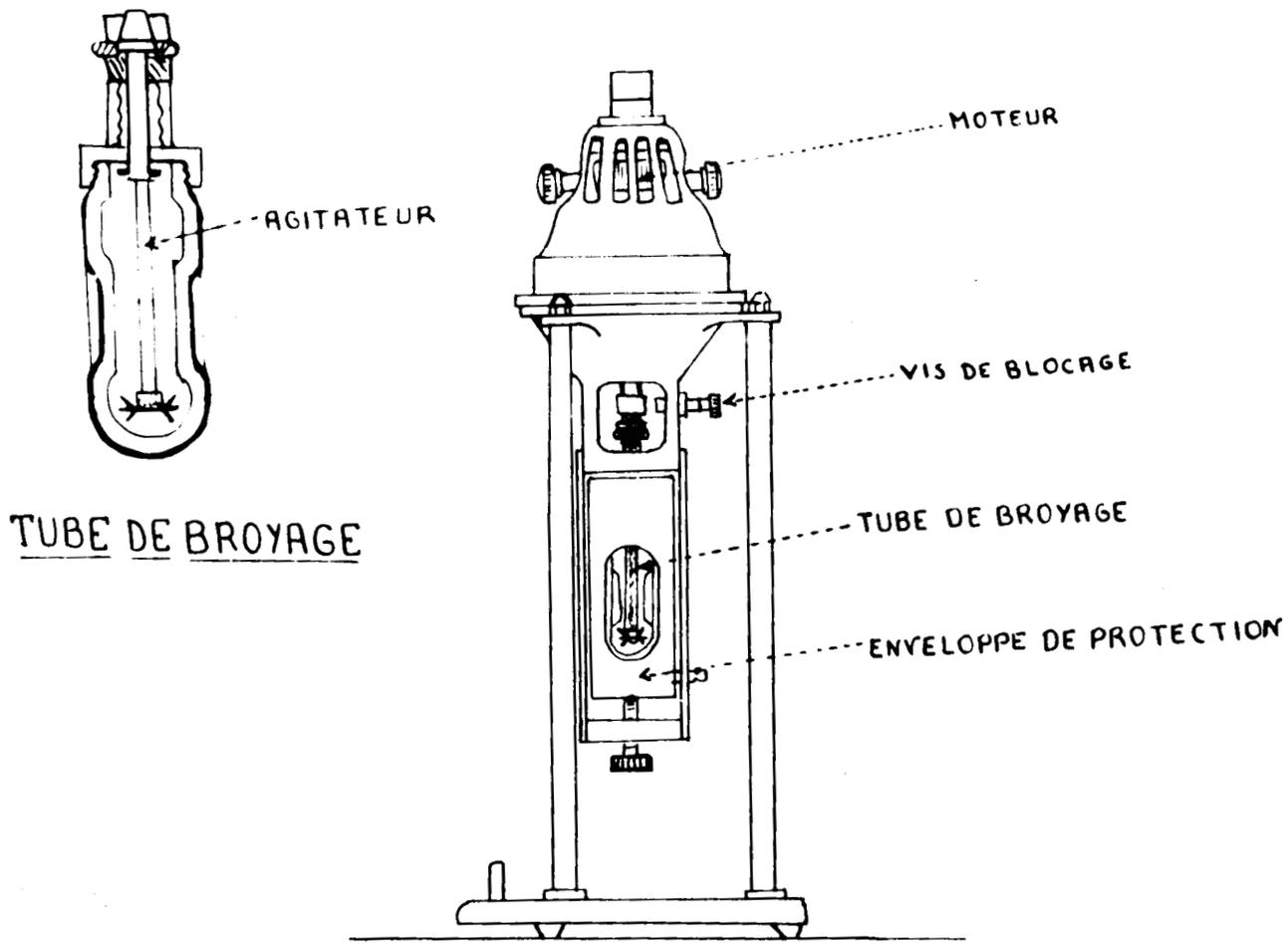
brûlée à la flamme du bec Bunsen jusqu'à carbonisation. Les explantats sont réalisés à l'aide d'un trocart également stérilisé par passage à l'alcool puis flambage, opération qui est effectuée avant chaque prélèvement. Ces explantats, d'environ 3mm de long et 0,5 de diamètre, sont mis dans des tubes renfermant un milieu de culture dont nous vous donnerons la composition plus loin, puis placés à l'étuve.

b) Mise en culture de grains et d'embryons :

Les caryopses sont stérilisés extérieurement par un séjour de 15mn dans le sublimé puis ils sont introduits dans des ampoules de 30cc. du microbroyeur de Durel et Sausse contenant chacune 10cc. de milieu de culture (Schéma p. 7 ). Une incubation de 48h nous permet d'éliminer les tubes pollués, rares d'ailleurs, résultant d'une mauvaise stérilisation de la surface des grains. Les tubes restés stériles sont passés au microbroyeur. Des ampoules témoins ne renfermant que le milieu de culture sont soumises au même traitement afin de vérifier la stérilité du broyage qui s'est révélée parfaite : aucun milieu témoin n'est pollué après 48h d'incubation. Nous opérons de la même façon pour les embryons de haricot, prélevés à l'aide d'un scalpel.

5) Techniques d'isolement des différentes espèces bactériennes.

Après 48h d'étuve, nous procédons, suivant les techniques bactériologiques classiques, à l'isolement de



TUBE DE BROYAGE

BROYEUR POUR BACTERIOLOGIE  
DE DUREL ET SAUSSE

différentes espèces bactériennes développées dans les milieux d'origine, c'est-à-dire :

- prélèvement d'un peu de milieu à l'aide d'une pipette Pasteur;
- Dilution du liquide précédent à raison d'une goutte pour 10cc;
- Prélèvement d'une goutte de cette suspension;
- Etalement à l'aide d'une pipette Pasteur dont l'extrémité est fermée et recourbée à la flamme, sur un milieu gélosé en boîte de Pétri.

#### 6) Techniques d'ensemencement.

Toutes les colonies différentes ainsi isolées sont prélevées avec un fil de platine rougi à la flamme puis ensemencées sur différents milieux :

- Bouillon nutritif grâce auquel on pourra à l'aide d'une pipette transplanter dans d'autres milieux liquides.
- Milieu gélosé incliné en tube : ensemencement en stries.
- Tranche de pomme de terre à la surface de laquelle les germes bactériens sont déposés en lignes parallèles.
- Des milieux particuliers gélosés ou gélatinés sont ensemencés par piqure verticale.

Toutes ces expériences conduites dans des conditions d'asepsie rigoureuses, nous permettent d'affirmer que les bactéries mises en évidence proviennent bien du végétal

utilisé et non d'une pollution du laboratoire.

7) Techniques de coloration pour l'étude microscopique des bactéries.

a) Coloration Gram :

Nous prélevons un peu de culture d'un tube incliné, puis nous l'étalons sur une lame. Après séchage, nous effectuons :

- Coloration au Violet de Gentiane 1mn
- Passage dans la solution d'Iode 30s.
- Différenciation au mélange alcool-acétone :  
1 partie d'acétone,  
4 " d'alcool absolu.
- Lavage abondant à l'eau distillée.
- Recoloration par la Fuchsine phéniquée : quelques secondes.
- Lavage à l'eau distillée.

Les bactéries ayant conservé la première coloration sont brun-violet : ce sont des Gram-positifs. Celles qui ont été décolorées par le différenciateur sont rouges : ce sont des Gram-négatifs.

Ces colorations ont été réalisées à partir de cultures jeunes, âgées de 48h au maximum.

b) Coloration des spores : méthode de Hoeller.

La culture, âgée de quelques jours, est étalée sur une lame puis fixée à l'alcool absolu pendant 2mn. On les soumet à :

- Acide chromique à 5% : 5mn

- Eau distillée.
- Fuchsine de Ziehl à chaud vers 60° : 10cm.
- Acide sulfurique à 5% pendant quelques secondes puis alcool absolu pour différencier.
- Eau distillée.
- Bleu de Loeffler : bleu de méthylène 1g.

Alcool absolu 10cm<sup>3</sup>

Solution aqueuse de potasse caustique à 10% 90cm<sup>3</sup>.

Les spores sont colorées en rouge, les bactéries en bleu. L'observation des spores est très utile pour la détermination des micro-organismes. C'est ainsi que l'on distingue suivant la position de la spore dans le bacille, des spores centrales, subterminales ou terminales. Selon qu'elles sont plus ou moins grosses que les bactéries, on peut observer des spores déformantes ou non déformantes.

c) Coloration de la capsule - méthode de Burri.

A l'extrémité d'une lame, on dépose une goutte d'encre de Chine spéciale pour la bactériologie et une goutte d'égal volume de milieu de culture peigné. On mélange à l'aide de l'ensemencement puis on étale avec le bord d'une lamelle. Les capsules apparaissent en clair sur le fond gris-noir.

## II - Milieux de culture :

Nous avons utilisé des milieux assez divers, liquides et solides, leur diversité permettant d'étudier l'aspect des colonies bactériennes et leur activité biochimique en observant les modifications subies par le milieu de culture, autant de caractères qui nous permettent de déterminer un certain nombre de souches différentes.

Nous avons classé les milieux dans l'ordre de leur utilisation dans nos recherches.

### I) Bouillon peptoné, glucosé :

Ce bouillon est préparé à partir du milieu OXOID 67 dont la composition est :

- Extrait de viande            10g
- Peptone                            10g
- Chlorure de sodium            5g.

Pour un litre de milieu, nous ajoutons à 25g de Mc 67, 20g de glucose. C'est le bouillon que nous avons utilisé le plus souvent. C'est celui dans lequel nous avons introduit les explantats, les grains et les embryons.

L'observation d'un tube pollué, à elle seule, est déjà riche en renseignements. On distingue soit un trouble plus ou moins abondant, soit un dépôt, soit un voile qui peut être mince ou épais, uniforme ou dissocié, lisse ou ridé, ou constituer un anneau, (appelé collerette en surface du liquide qui adhère à la paroi du tube. Ces différentes formations peuvent aussi se combiner entre elles.

## 2) Milieu peptoné, glucosé et gélosé :

Ce milieu, porté à l'ébullition, est réparti soit dans des boîtes de Pétri, soit dans des tubes qui après stérilisation seront refroidis en position inclinée.

Sur ce milieu, après une incubation de 48h, nous avons étudié la taille, la forme et la coloration des colonies.

C'est ainsi que l'on distingue des colonies à bords lisses et nets; elles sont de deux types :

- colonies de forme dite M (mucous), muqueuses; pouvant être épaisses, humides, brillantes; coulent et s'étalent.

- colonies du type S (smooth) sont lisses, en général circulaires, convexes, présentant des stries rayonnantes ou circulaires et ne s'étalent jamais.

On distingue encore un troisième type de colonies, ce sont

- colonies R (rough), rugueuses, plates, à surface tourmentée, à bords irréguliers.

La collection des différentes souches est conservée sur milieu gélosé incliné en tubes. Tous les trois mois, nous procédons au repiquage.

## 3) Culture sur pomme de terre.

De grosses pommes de terre, lavées, épluchées puis coupées en tranches de 6mm d'épaisseur environ sont déposées dans des boîtes de Pétri renfermant un peu d'eau.

Après passage à l'autoclave à 120° pendant 40 minutes afin de cuire l'amidon et de détruire les spores de Bacillus se-  
sentericus, on ensemence avec le fil de platine en lignes  
parallèles. Les boîtes de Pétri sont alors placées à l'étuve.

Au bout de 24 à 48h, on observe un développement bactérien  
plus ou moins abondant. On peut ainsi distinguer des colo-  
nies épaisses, formant de gros replis, ou plates, sans re-  
lief, s'étalant largement, coulant, d'autres encore sont  
rugueuses et paraissent incrustées dans la tranche.

La pomme de terre constitue un excellent milieu de culture  
pour les bactéries chromogènes qui nous révèlent de belles  
pigmentations.

Ce milieu solide possède comme matières nutritives de l'a-  
midon cuit, de faibles quantités de substance azotée et de  
sels.

A côté de la collection des souches sur gélose, nous en  
avons également une sur tranches de pomme de terre coupées  
en parallépipèdes, taillées en diagonale, puis placées  
dans des tubes de Roux.

#### 4.) Milieu pour la recherche des gaz

Il est identique au précédent : on introduit  
dans le tube de culture un petit tube à hémolyse renversé  
qui est entraîné à la surface du liquide s'il y a dégagé-  
ment gazeux.

## 5) Milieux sucrés pour l'étude des fermentations

Certaines bactéries utilisent comme source d'énergie la dégradation d'un glucide, laquelle s'accompagne en général de la formation d'acides que l'on met en évidence par le virage d'un indicateur coloré introduit dans le milieu et parfois par un dégagement gazeux.

La composition du milieu, qui nous a été fournie par l'Institut Pasteur de Lille, diffère selon qu'il s'agit de bactéries Gram + ou Gram -.

### a) Milieux sucrés pour les bactéries Gram +

- Phosphate mono ammonique	1g
- Chlorure de potassium	0,2g
- Sulfate de magnésium	0,2g
- Agar-agar	15g
- Eau distillée	1000cm <sup>3</sup>
- Solution de bromocrésol pourpre à 0,041g % : 12cm <sup>3</sup> (zone de virage : 5,2 - 6,8).	

On ajuste le pH à 7 en portant à ébullition avant d'avoir mis l'agar et en y ajoutant du carbonate de calcium. Après filtration et addition de la gélose, on répartit à raison de 10cm<sup>3</sup> par tube que l'on passe à l'autoclave. On ajoute ensuite, lorsque les milieux sont refroidis à environ 60°, 10 gouttes d'une solution sucrée, stérilisée par filtration sur bougie, à 10% pour le xylose, le glucose, le mannitol, le lactose, le saccharose et à 5% pour les autres sucres. On refroidit les tubes en position inclinée et ensemence en stries serrées.

Lorsque le pH descend en dessous de 6,8, le milieu vire du pourpre au jaune, traduisant ainsi la dégradation du sucre utilisé.

**b) Milieux sucrés pour les bactéries Gram -**

- Peptone	2g
- Extrait de viande	1g
- Protéose-peptone No 3 DIFCO	2g
- Chlorure de sodium	5g
- Eau distillée	1000cm <sup>3</sup>
- Rouge de phénol (zone de virage : 6,8 - 8,4).	0,018g

Après avoir ajusté le pH à 7, on répartit ce milieu liquide dans des tubes à essais que l'on passe à l'autoclave. Comme précédemment, on ajoute les solutions sucrées préalablement stérilisées par filtration sur bougie.

Le virage de l'indicateur coloré, du rouge au jaune, traduit l'apparition d'acides consécutive à la dégradation des hydrates de carbone.

**6) Milieux gélatinés**

On utilise de la gélatine nutritive qui a la composition suivante :

- Peptone	5g
- Levure bactériologique	3g
- Gélatine pure	150g.

On fait imbiber cette poudre pendant 20mn dans un litre

d'eau distillée. On filtre à chaud avant de répartir dans des tubes. On stérilise ensuite à l'autoclave à 120° pendant 20mn et on laisse refroidir les tubes verticalement.

On ensemence avec le fil de platine, en picpère puis on laisse les tubes à la température du laboratoire, la gélatine se liquéfiant au-dessus de 24°c.

La façon dont les bactéries vont liquéfier le milieu nutritif est un caractère de détermination : la partie liquéfiée aura suivant le cas la forme d'un entonnoir, d'un doigt de gant, d'une cupule, d'un cylindre.

## 7) Autres milieux liquides

### a) Eau peptonée pour la recherche de l'indol

Composition :

- Peptone pancréatique exempte d'indol	20g
- ClNa	5g
- Eau distillée	1000cm <sup>3</sup> .

Après stérilisation, ensemencement, incubation habituels la recherche de l'indol, provenant de la dégradation du tryptophane libre contenu dans la peptone, est effectuée selon la méthode de Salkowsky :

Au contenu de chaque tube on ajoute :

- 5 gouttes de solution de  $\text{NO}_2\text{K}$  à 1/10.000, et
- 5 " de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  pur.

S'il y a de l'indol, on observe après agitation une coloration rouge que l'on peut rassembler en surface par addition d'alcool amylique.

b) Eau peptonée pour la recherche des nitrites

Le milieu précédent additionné ou non de  $\text{NO}_2\text{K}$  (10g pour 1 litre) permet de mettre en évidence la formation de nitrites soit directement à partir de la peptone, soit à partir du nitrate.

La recherche des nitrites est effectuée en versant dans chaque tube de milieu,ensemencé et incubé, 1cm<sup>3</sup> d'une solution d'acide sulfanilique à 0,2% dans l'acide acétique à 30%, et quelques gouttes d'une solution acétique de naphtylamine à 0,5%.

La présence de nitrites donne naissance à une coloration rose à rouge.

c) Eau peptonée salée

L'addition de ClNa en quantité plus grande que celle indiquée en a) permet d'étudier les concentrations maximale (5 à 15%) compatibles avec la vie des bactéries.

d) Milieu au lait

Le milieu au lait a la composition suivante :

- |                       |        |
|-----------------------|--------|
| - lait sec écrémé     | 100g   |
| - pourpre bromocrésol | 0,04g. |

On délaie cette poudre dans un litre d'eau distillée, et stérilise à l'autoclave à 115° pendant 20mn.

Après ensemencement et incubation, on peut noter soit :

- coagulation par acidification (hydrolyse du lactose)  
Le milieu vire au jaune.
- coagulation sans acidification,  
Le milieu reste bleu-violet.
- aucune modification du milieu, la bactérie ne se développant pas.

Parfois, il y a digestion du caillot de caséine ou peptonisation, réalisée par les bactéries possédant une enzyme protéolytique.

### 8) Autres milieux solides

#### a) Gelée d'amidon

On délaie 10g d'amidon dans 10cm<sup>3</sup> d'eau puis on ajoute en agitant constamment 150cm<sup>3</sup> d'eau portée à ébullition. Après répartition dans des tubes à essais, on stérilise à l'autoclave à 115° pendant 15mn.

Ce milieu permet de mettre en évidence outre les bactéries amylolytiques, celles sécrétant des pigments, ou bactéries chromogènes.

#### b) Milieu de Christensen : recherche de l'uréase

Certaines bactéries sécrètent une enzyme : l'uréase transformant l'urée en carbonate d'ammoniaque, entraînant une alcalinisation du milieu que l'on met en évidence par le virage d'un indicateur coloré, ici le rouge de phénol qui vire à pH 7,2 du jaune au rouge.

Voici la composition de ce milieu :

- Peptone 1g
- Glucose 1g
- Phosphate monopotassique 2g
- Chlorure de sodium 5g
- Agar-agar 20g
- Eau distillée 1000cm<sup>3</sup>
- Solution à 4% de rouge de phénol 3cm<sup>3</sup>.

On ajuste à pH 7 en portant à ébullition après avoir ajouté du carbonate de calcium. Après filtration, on répartit dans des tubes, stérilise par passage à l'autoclave, et dans chaque tube renfermant 10cm<sup>3</sup> de liquide on ajoute 0,5cm<sup>3</sup> d'une solution d'urée à 20% stérilisée à l'avance par filtration sur bougie de porcelaine. On ensemence par pipette, puis après un séjour d'une semaine à l'étuve, le virage au rouge du colorant indique que le germe bactérien ensemencé sécrète une uréase.

c) Milieu de Beerehs et Guillaume : recherche de l'A.M.C.

L'A.M.C. ou acétyl-méthyl-carbinol est un produit de dégradation normal des glucides. Sa mise en évidence est un caractère important dans la détermination de bactéries.

Le milieu dont la composition nous a été donnée par l'Institut Pasteur de Lille comprend :

- Extrait de viande Liebig 3g
- Peptone 20g
- Chlorure de sodium 5g

- Levure bactériologique	3g
- Agar-agar	15g
- Eau distillée	900cm <sup>3</sup>

On ajuste à pH 7. Au sortir de l'autoclave, on ajoute 100cm<sup>3</sup> de glucose à 50% filtré sur bougie, puis laisse refroidir les tubes en les inclinant légèrement et enseence avec le fil de platine en stries serrées.

Pour la recherche de l'A.M.C., on ajoute après 24 à 48h d'étuve :

- 20 gouttes de soude à 16%, +
- 10 " d' $\alpha$  naphтол (50cm<sup>3</sup> d'alcool à 60° + 3g d' $\alpha$  naphтол),

ce qui entraîne l'apparition d'une coloration rouge-groseille.

#### d) Milieu de Simmons : utilisation des citrates

Ce milieu permet de détecter les bactéries capables d'utiliser le citrate d'ammonium comme seule source de carbone. L'ammoniac libéré par cette réaction fait virer l'indicateur coloré.

- Phosphate monoammonique	1g
- Chlorure de potassium	0,2g
- Sulfate de magnésium	0,2g
- Agar	1,5g
- Citrate d'ammonium	2g
- Phosphate bipotassique	1g
- Eau distillée	1000cm <sup>3</sup>
- Bleu de Bromothymol	0,02g

(zone de virage : 6,8 à 7,8).

On ajuste le pH à 6 puis répartit dans les tubes, la coloration primitivement jaune vire au bleu s'il y a utilisation du citrate.

e) Milieu pour la recherche de la lécithinase.

Quelques bactéries sécrètent une enzyme attaquant la lécithine. Pour les mettre en évidence, on utilise le milieu suivant :

- Extrait de viande	6g
- Peptone	10g
- Chlorure de sodium	5g
- Agar	15g
- Eau distillée	1000cm <sup>3</sup> .

On ramène le pH à 7, répartit dans des boîtes de Pétri à raison de 20cm<sup>3</sup> par boîte, puis on passe à l'autoclave.

On ajoute alors à chaque boîte, à l'aide du pipette, 2,5cm<sup>3</sup> de lécithine, obtenue en diluant dans 250cm<sup>3</sup> d'eau stérile, un jaune d'oeuf prélevé aseptiquement.

On ensemence en faisant une piqûre au centre du milieu. Après 48h d'étuve, on observe autour de la colonie un halo blanchâtre caractérisant une attaque de la lécithine.

f) Milieu pour l'étude de la mobilité des bactéries

Pour mettre en évidence la mobilité des bactéries on utilise le milieu suivant :

- Tryptose	10g
- ClNa	5g
- Agar	5g
- Eau distillée	1000cm <sup>3</sup> .

On ramène le pH à 7,2, réparti dans des tubes à essais.  
L'ensemencement se fait par piqûre. Si tout le long de la piqûre on observe des ramifications pénétrant dans la gélose, la bactérie ensemencée est dite mobile.

g) Milieu V-L : aérobiose - anaérobiose

Le milieu V-L (viande-levure) a la composition suivante :

- peptone tryptique	10g
- Chlorure de sodium	5g
- Extrait de viande	2g
- Levure bactériologique	5g
- Cystéine	0,3g
- Agar	6g
- Eau du robinet	1000cm <sup>3</sup>

On ramène le pH à 7,2, puis on met 12cm<sup>3</sup> par tube de 8mm de diamètre sur 17cm de long. Après stérilisation à l'autoclave, on ensemence en tournant le fil de platine dans la gélose puis on laisse refroidir.

Une espèce bactérienne strictement aérobie ne pousse qu'en surface donnant lieu à la formation d'une collerette.

Au contraire, s'il n'y a aucun développement à la superficie mais seulement un trouble dans les parties profondes du tube, la souche bactérienne est purement anaérobie.

On rencontre évidemment des bactéries dont les exigences sont moins tranchées et qui se développent alors sur toute la hauteur du tube.

### III - Caractères et détermination des souches bactériennes isolées

Les techniques d'isolement ont abouti à la distinction de 23 souches différentes sur gélose. Le passage sur les tranches de pomme de terre et la culture dans les autres milieux ont permis de ramener ce nombre à 21 par assimilation des souches 17 et 23 à la souche No 2.

Les déterminations que nous proposons, pour un certain nombre d'entre elles seulement (12) ont été vérifiées par l'Institut Pasteur de Lille ainsi d'ailleurs que les principaux caractères cultureux de toutes les souches; nous le remercions vivement ici.

Les 9 souches pour lesquelles nous ne proposons pas de nom, par le ou les caractères aberrants dans la forme, le comportement en culture ou la pigmentation qu'elles présentent, posent encore quelques problèmes.

Chacune des pages qui suivent présente les principaux caractères macroscopiques, microscopiques, physiologiques de chaque souche. Elles sont accompagnées dans chaque cas d'une planche ou figurent :

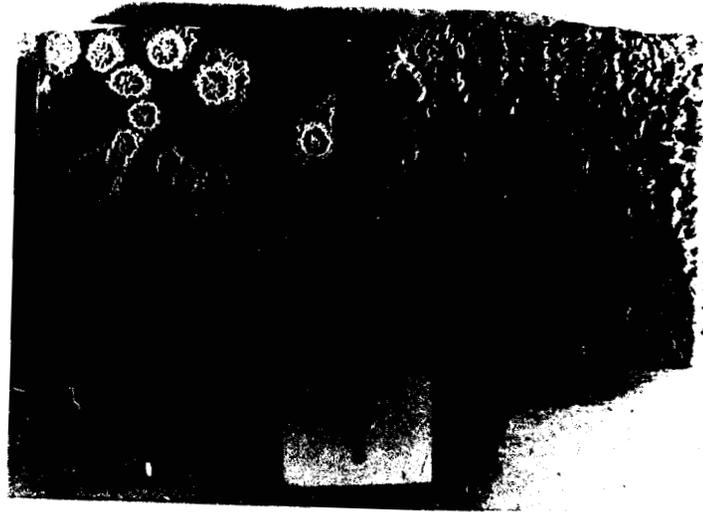
- 1) Une photographie grandeur nature de la culture sur bouillon peptoné gélosé;
- 2) Une photographie grandeur nature de la culture sur tranche de pomme de terre;
- 3) Une microphotographie ( $G = 2000 \times$  soit  $1 \mu = 2mm$ ) après coloration de Gram.

Nous avons réalisé toutes ces photographies en couleurs, elles seront présentées à la soutenance.

Nous présentons aux pages 67-68 une planche photographique qui permet de récapituler et comparer les aspects des différentes souches entre elles.

Il était assez difficile de choisir une façon logique de classer les différentes souches; nous avons retenu de les présenter dans un ordre de fréquence décroissante : ainsi par exemple la souche No I a été trouvée de nombreuses fois, partout; la souche N° 15, au contraire, n'a été isolée qu'une seule fois.





Souche No 2

Bacillus licheniformis.

Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : voile épais, plissé, rosâtre, dur - pas de trouble - dépôt - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : colonies de 1 à 5mm de diamètre, roses, d'aspect fort granuleux, adhérentes au milieu. Surface terne avec formation de petites vésicules. En vieillissant, la colonie émet des excroissances filiformes et devient rousse et épaisse.

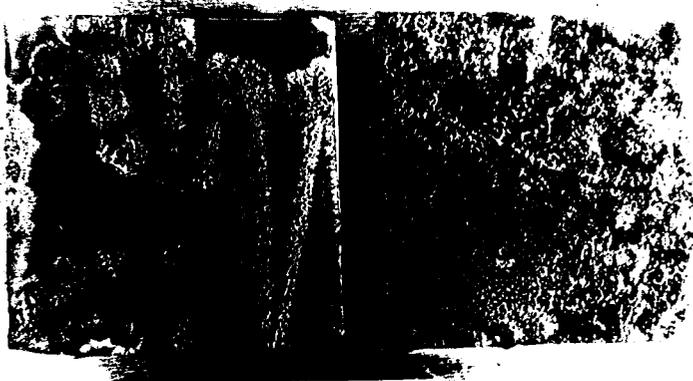
Tranche de pomme de terre : colonies épaisses, ridées, granuleuses, parfois couvertes de petites vésicules. Coloration rose à rouge sale.

Caractères microscopiques

Bâtonnets assez courts, isolés ou par deux. Gram +. Spores centrales non déformantes. Pas de capsule.

Caractères physiologiques

Glucose	+	:	Réduction des nitrates*	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	0	:		
		:	Lait	+
Saccharose	0	:	coagulation sans acidification puis légère peptonisation.	
Lactose	0	:		
Mannitol	0	:	Indol	0
		:		
Amidon	0	:	Uréease	0
rose		:		
Dégagement gazeux	0	:	A.M.C.	+
		:		
Tolérance en ClNa	7à12%	:	Citrates	0
		:		
Gélatine	+	:	Lécithinase	0
liquéfaction en entonnoir.		:		
		:	Mobilité	+
		:		
		:	Aérobie, anaérobie facultatif.	



2



**Flavobacterium (Espèce non déterminée).**

**Caractères macroscopiques**

Eau peptonée glucosée : Voile jaunâtre - trouble assez abondant - collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 3 à 5mm de diamètre environ. Au départ blanches, elles deviennent jaunes, circulaires, bombées, humides, puis s'étalent en grandes plaques de 10mm et plus.

Tranche de pomme de terre : Pousse assez mal, diffuse peu - Couleur jaune foncé.

**Caractères microscopiques**

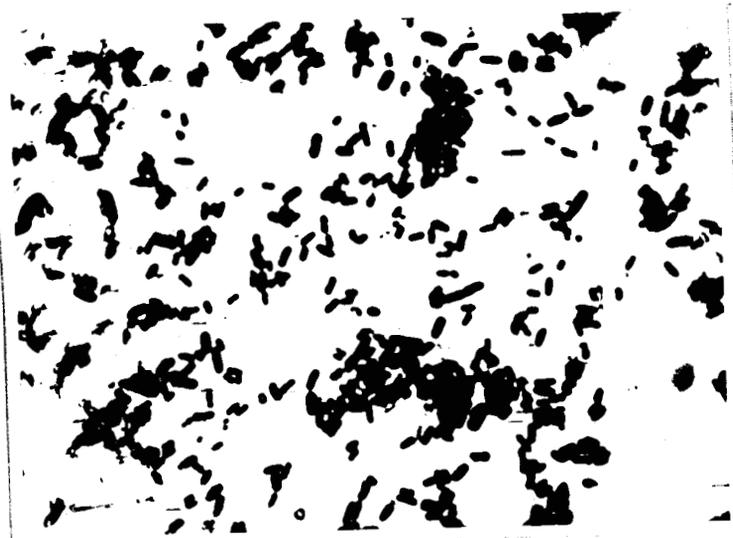
Bâtonnets courts, isolés ou en chaînes - Gram - . Pas de capsule.

**Caractères physiologiques**

Glucose	+	:	Réduction des nitrates	+
			avec gaz	
Xylose	+	:		
Arabinose	+	:	Formation des nitrites	0
Saccharose	+	:	Lait	+
			coagulation par acidification	
			puis digestion du caillot.	
Lactose	0	:	Indol	0
Sannitol	+	:	Urée	0
Amidon	0	:	A.M.C.	+
Dégagement gazeux	0	:	Lécithinase	0
Tolérance en ClNa 7A12%		:	Citrates	+
Gélatine	+	:	Mobilité	0
Liquéfaction en entonnoir.		:		
		:	Aérobic, anaérobic facultatif.	



3



**Souche No 4**

**Protéus rettgeri.**

**Caractères macroscopiques**

**Eau peptonée glucoasé : léger voile - trouble - faible dépôt - collerette.**

**Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 1 à 5mm, blanches, luisantes du type smooth, avec quelques auréoles concentriques, parfois tendance à l'étalement.**

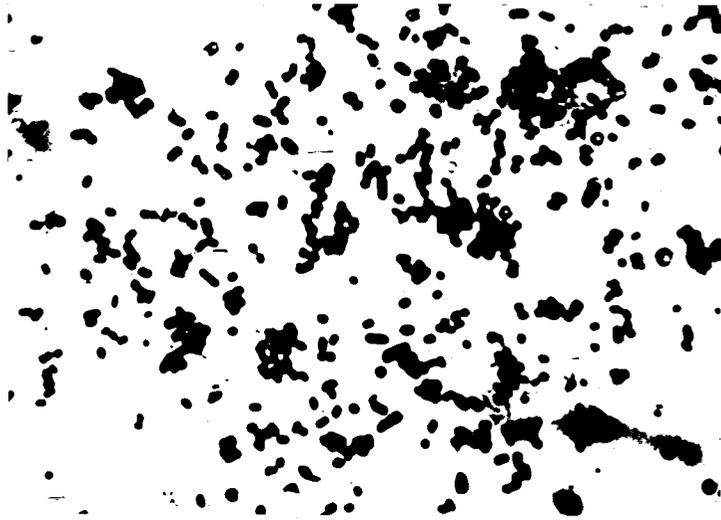
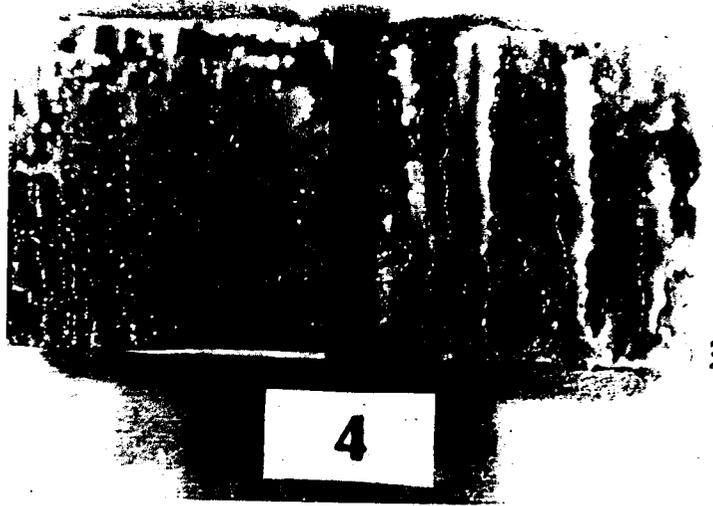
**Tranche de pomme de terre : pousse bien, blanche, légèrement colorée, luisante, épaisse.**

**Caractères microscopiques**

**Petits bacilles, courts, isolés, par deux ou en courtes chaînes. Gram -. Pas de capsule.**

**Caractères physiologiques**

<b>Glucose</b>	<b>0</b>	<b>:</b>	<b>Réduction des nitrates</b>	<b>+</b>
			<b>avec gaz</b>	
<b>Xylose</b>	<b>+</b>	<b>:</b>		
			<b>Formation de nitrites</b>	<b>0</b>
<b>Arabinose</b>	<b>0</b>	<b>:</b>		
			<b>Lait</b>	<b>+</b>
<b>Saccharose</b>	<b>+</b>	<b>:</b>	<b>coagulation avec acidifica-</b>	
			<b>tion du milieu puis peptoni-</b>	
<b>Lactose</b>	<b>+</b>	<b>:</b>	<b>sation.</b>	
<b>Mannitol</b>	<b>+</b>	<b>:</b>	<b>Indol</b>	<b>0</b>
<b>Amidon</b>	<b>0</b>	<b>:</b>	<b>Uréase</b>	<b>0</b>
<b>Dégagement gazeux</b>	<b>0</b>	<b>:</b>	<b>A.M.C.</b>	<b>+</b>
<b>Tolérance en ClNa</b>	<b>12%</b>	<b>:</b>	<b>Citrates</b>	<b>+</b>
<b>Gélatine</b>	<b>+</b>	<b>:</b>	<b>Lécithinase</b>	<b>0</b>
<b>liquéfaction en doigt</b>		<b>:</b>		
<b>de gant.</b>		<b>:</b>	<b>Mobilité</b>	<b>+</b>
		<b>:</b>	<b>Aérobie, anaérobie facultatif.</b>	



## Souche No 5

### Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : léger voile uni - léger trouble - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 10mm de diamètre et plus. Très plates, grisâtres, à contour non défini, la surface présentant quelques plis. N'adhèrent pas au milieu et se détachent d'une seule pièce.

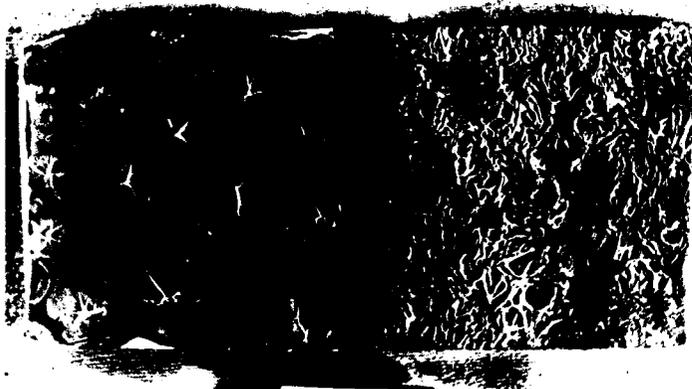
Tranche de pomme de terre : Pousse abondamment, grise avec de nombreux replis enchevêtrés.

### Caractères microscopiques

Bâtonnets de longueur variable, en général isolés. Gram +.  
Spore centrale non déformante. Pas de capsule.

### Caractères physiologiques

Glucose	+	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	0	:		
		:	Lait	0
Saccharose	0	:		
		:	Indol	0
Lactose	0	:		
		:	Uréase	0
Mannitol	+	:		
		:	A.M.C.	+
Amidon	+	:		
		:	Citrates	0
Dégagement gazeux	+	:		
		:	Lécithinase	0
Tolérance en ClNa	12%	:		
		:	Mobilité	+
Gélatine	+	:		
liquéfaction en cylindre.		:	Aérobie, anaérobie facultatif.	



5



Souche No 6

Pseudomonas non pigmenté (Espèce non déterminée).

Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Trouble jaunâtre - dépôt - collerette jaune.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 1 à 5 mm de diamètre en général. Rondes, plates, luisantes, translucides, jaunes pâles. Poussent assez mal.

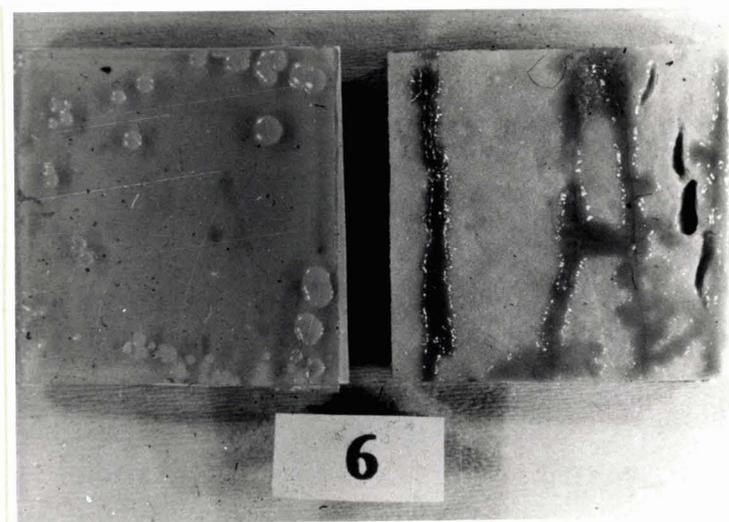
Tranche de pomme de terre : Colonies pigmentées en marron clair, luisantes, humides. Tendance à s'étaler un peu.

Caractères microscopiques

Bâtonnets seuls ou en chaînes courtes. Gram -. Pas de capsule.

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	0	:		
		:	Lait	0
Saccharose	0	:		
		:	Indol	0
Lactose	0	:		
		:	Uréase	0
Yannitol	0	:		
		:	A.M.C.	0
Amidon	0	:		
		:	Citrates	+
Dégagement gazeux	0	:		
		:	Lécithinase	0
Tolérance en ClNa	100/15%	:		
		:	Mobilité	+
Gélatine	+	:		
liquéfaction lente en entonnoir évasé.		:	Aérobie, anaérobie facultatif	
		:		



## Souche No 7

### Paracoli aeregenoides.

#### Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Voile très léger et dissocié. Trouble peu abondant. Dépôt léger. Légère collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 2 à 5mm de diamètre environ, blanches, épaisses, à centre plus foncé, luisantes. Puis le centre a tendance à s'éclaircir et la colonie semble entourée d'un bourrelet.

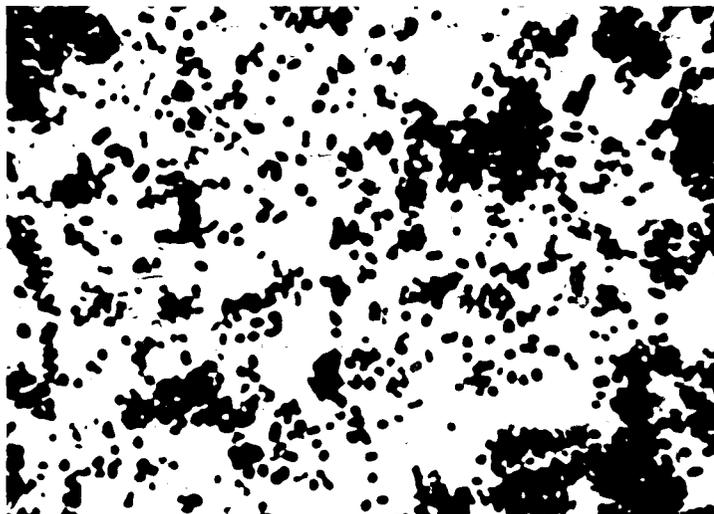
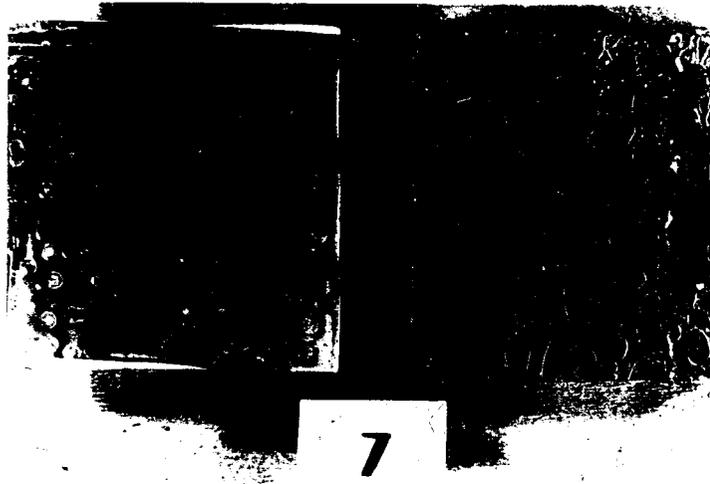
Tranche de pomme de terre : Colonies étalées, très plates, grisâtres à jaunâtres avec de légers plis.

#### Caractères microscopiques

Bacilles courts, en général isolés. Gram -. Encapsulés.

#### Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:		
Xylose	+	:	Formation de nitrites	+
		:		
Arabinose	+	:	Lait	+
		:	coagulation avec acidification. Légère peptonisation.	
Saccharose	+	:		
		:		
Lactose	+	:	Indol	0
		:		
Hammitol	+	:	Uréase	0
		:		
Amidon	0	:	Citrates	+
		:		
Dégagement gazeux	+	:	A.M.C.	+
		:		
Tolérance en Cl <sub>2</sub>	7312%	:	Lécithinase	0
		:		
Gélatine	+	:	Mobilité	+
		:		
Liquéfaction en entonnoir évasé.		:	Aérobie, anaérobie facultatif.	



Bouche No 8

Aerobacter cloaca.

Caractères macroscopiques

Tau peptonée glucosée : Epais voile crémeux - trouble laiteux.  
Dépôt abondant et visqueux - collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 5 à 10mm de diamètre, circulaires, épaisses, blanches, filantes, luisantes

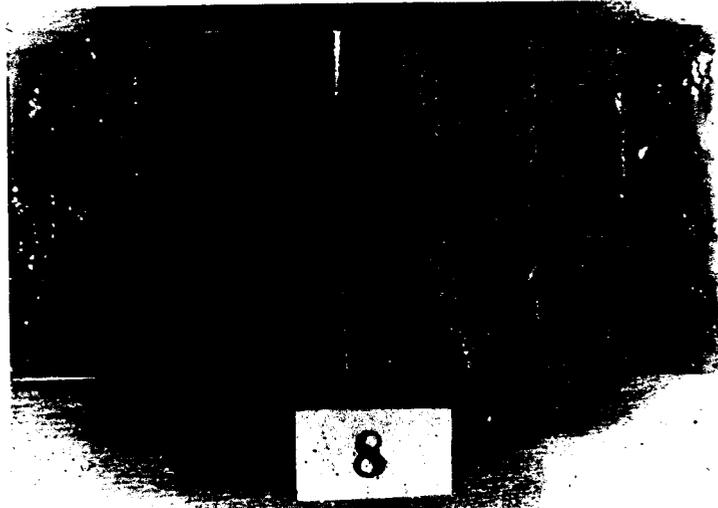
Tranche de pomme de terre : Colonies blanc-jaunâtres, luisantes, coulant un peu.

Caractères microscopiques

Petits bacilles isolés. Gram -. Pas de capsule.

Caractères physiologiques

Glucose	+	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	+	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	+	:		
		:	Lait	+
Saccharose	+	:	coagulation avec acidification puis légère peptonisation.	
Lactose	+	:		
		:		
mannitol	+	:	Inol	+
		:		
Asidon	0	:	Uréase	+
		:		
Dégagement gazeux	+	:	A.M.C.	+
		:		
Tolérance en O/Na	72/12%	:	Citrates	+
		:		
Gélatine	+	:	Lécithinase	0
lente liquéfaction en		:		
cupule.		:	Mobilité	+
		:		
		:	Aérobic, anaérobic facultatif.	



Caractères macroscopiques

Sur peptonée glucosée : voile grumeuleux - dépôt - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 7 à 15mm de diamètre. Très pâles, à centre fort roux, de plus en plus claires vers la périphérie. Aspect rugueux. Contours en dentelle.

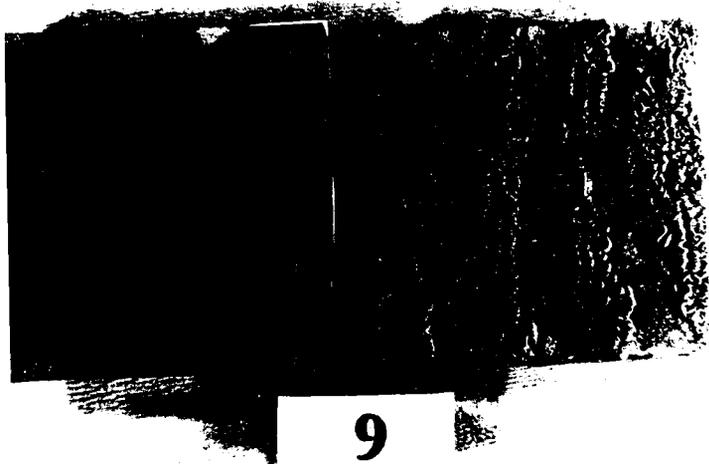
Tranche de pomme de terre : Pousse blanc. Contours sinueux. Gris à marron. Nombreux replis.

Caractères microscopiques

Bâtonnets de longueur moyenne, seuls ou par deux. Gram +. Spore centrale. Capsule.

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
Xylose	0	:	Formation de nitrites	+
Arabinose	0	:	Lait	+
Saccharose	+	:	coagulation avec acidification puis peptonisation.	
Lactose	0	:	Indol	0
Mannitol	0	:	Uréase	0
Amidon	+	:	A.M.C.	+
Dégagement gazeux	0	:	Citrates	0
Tolérance en Cl <sub>2</sub> 7&12%		:	Lécithinase	0
Gélatine	+	:	Mobilité	0
liquéfaction en entonnoir.		:	Aérobie, anaérobie facultatif.	



Bouche No 10

Bacillus megatherius.

Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Pas de voile - trouble uniforme - léger dépôt - collerette jaune par endroits.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 5 à 10mm de diamètre, luisantes, humides, rondes, convexes, blanches à jaunâtres. Restent entières, ne s'étalent pas.

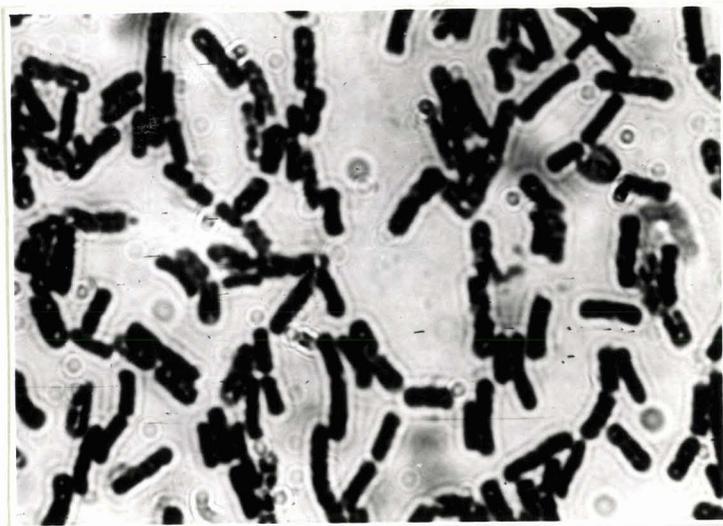
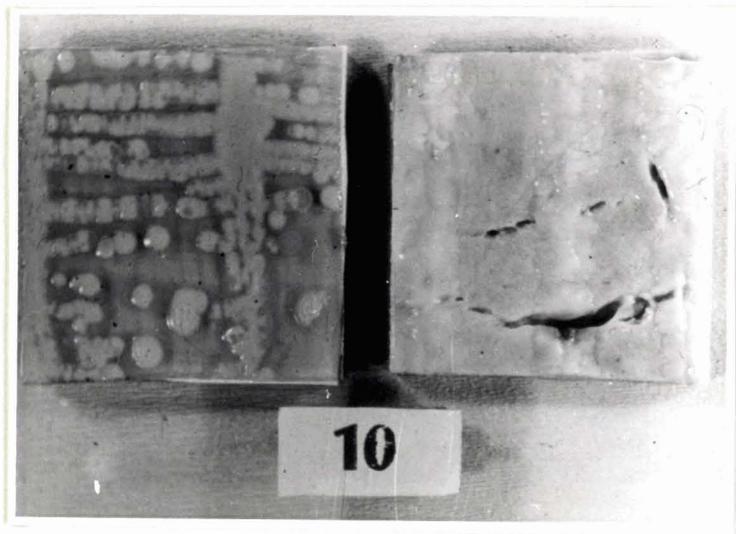
Tranche de pomme de terre : Pousse bien, lisse, de couleur crème. S'étale un peu.

Caractères microscopiques

Gros bâtonnets, à bouts arrondis, seuls ou en courtes chaînes. Gram +. Spores centrales non déformantes. Capsule.

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	0
		:		
Xylose	0	:	Formation de nitrites	0
		:		
Arabinose	0	:	lait	0
		:		
Saccharose	0	:	Indol	0
		:		
Lactose	0	:	Uréase	+
		:		
Mannitol	0	:	A.M.C.	0
		:		
Acidon	0	:	Citrates	0
		:		
Dégagement gazeux	0	:	Lécithinase	0
		:		
Tolérance en Glna	5%	:	Mobilité	0
		:		
Gélatine	+	:	Aérobie	
liquéfaction en doigt de gant.		:		



## Souche No II

---

### Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Voile très léger - trouble - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies très plates, finement granuleuses et à aspect rugueux. Contours peu nets. Le centre de la colonie est clair.

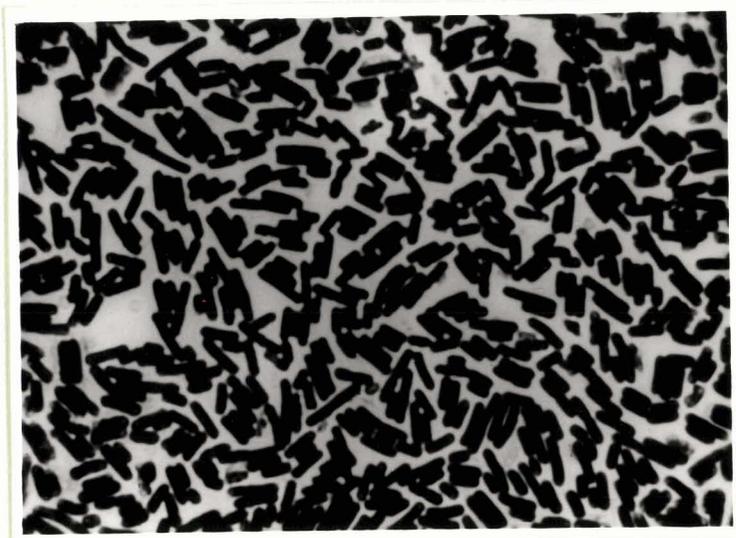
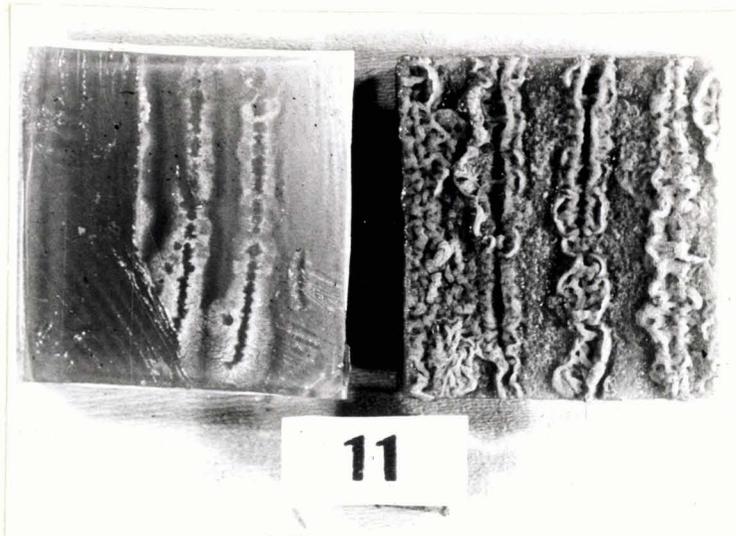
Tranche de pomme de terre : Pousse abondamment. Pigmentée un peu en marron. Croît suivant les lignes d'ensemencement en gros replis contournés.

### Caractères microscopiques

Bâtonnets de longueur variable, en général isolés. Gram + .  
Spore terminale.

### Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates avec gaz	+
Xylose	0	:	Formation de nitrites	0
Arabinose	+	:	Lait	0
Saccharose	0	:	Indol	0
Lactose	0	:	Uréease	0
Mannitol	±	:	A.M.C.	+
Amidon	+	:	Citrates	0
Dégagement gazeux	0	:	Lécithinase	0
Tolérance ClNa	12%	:	Mobilité	0
Géistine liquéfaction en cylindre.	+	:	Aérobie	



Souche No 12

Caractères macroscopiques

Peau porterie gincosée : léger voile dissocié - trouble abondant - liquide ambré : dépôt - collerette.

Exemplon gelosé en boites de Pétri : Colonies de 5 à 10mm de diamètre, blanches, luisantes, humides, s'étalant fortement après 24 heures d'étuve.

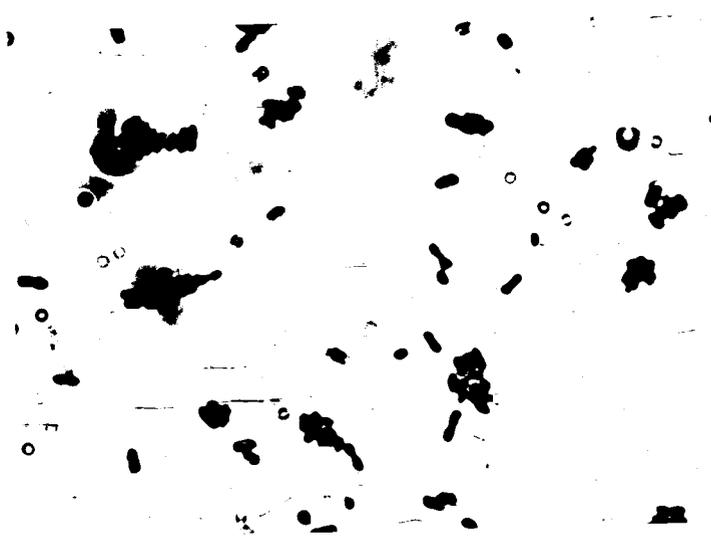
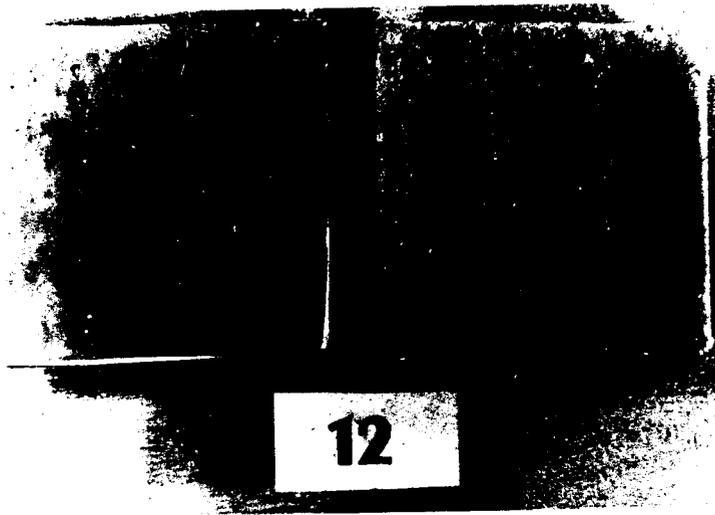
Tranche de pomme de terre : Blanche, légèrement pigmentée, luisante, humide.

Caractères microscopiques

Bacilles très courts, en paquets. Gram -.

Caractères physiologiques

Glucose	+	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	+	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	+	:		
		:	Lait	+
Saccharose	+	:	coagulation avec acidification.	
Lactose	+	:		
		:	Indol	0
Mannitol	+	:		
		:	Uréase	0
Amidon	0	:		
		:	A.M.C.	+
Dégagement gazeux	+	:		
		:	Citrates	+
Tolérance en ClNa	7&12	:		
		:	Lécithinase	0
Gélatine	+	:		
liquéfaction en cupule.		:	Mobilité	+
		:		
		:	Aérobic.	



Souche No 13

Bacillus coagulans.

Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Voile uni - trouble jaunâtre - épais dépôt - collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Petites colonies de 1 à 3mm de diamètre, grises, bombées avec quelques stries rayonnantes. Elles diffusent un peu dans le milieu puis s'éclaircissent peu à peu et semblent disparaître.

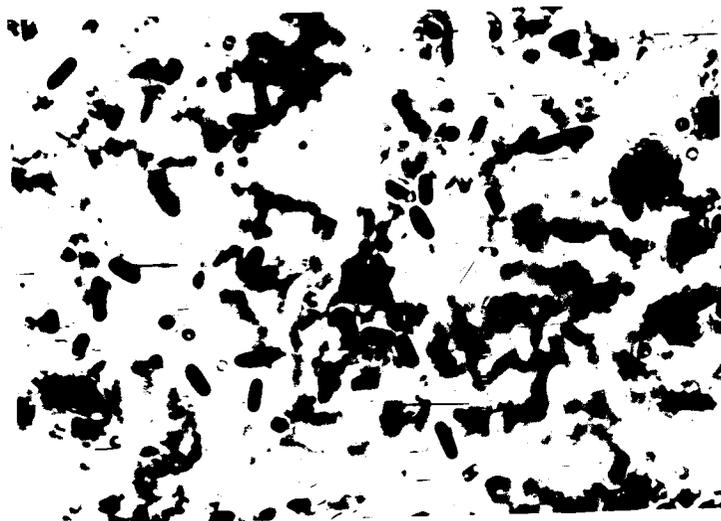
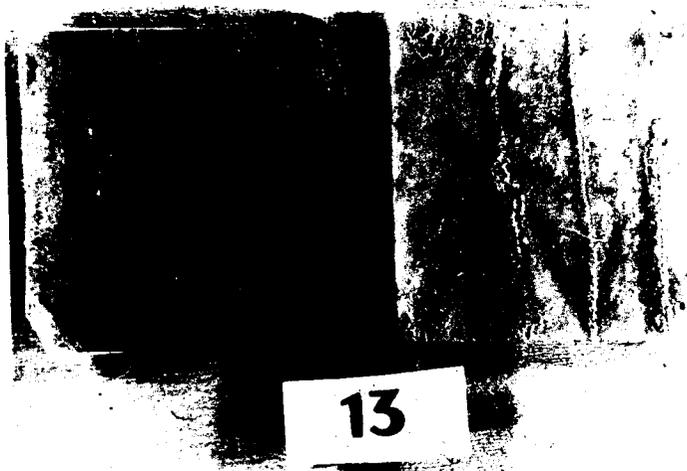
Tranche de pomme de terre : Pousse assez mal. Est légèrement pigmentée.

Caractères microscopiques

Bâtonnets isolés ou par deux, rarement en chaînes. Gram + . Spores terminales.

Caractères physiologiques

Glucose	+	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	+	:		
		:	Formation de nitrites	+
Arabinose	+	:		
		:	Lait	0
Saccharose	0	:		
		:	Iniol	0
Lactose	0	:		
		:	Uréase	0
Mannitol	0	:		
		:	A.M.C.	+
Amidon	+	:		
		:	Citrates	0
Dégagement gazeux	0	:		
		:	Lécithinase	0
Tolérance en ClNa	7A12%	:		
		:	Mobilité	+
Gélatine	+	:		
très faible - liquéfac-		:	Aérobie, anaérobie facultatif.	
tion en surface.		:		



Souche No 14

Pseudomonas pigmenté (espèce non déterminée).

Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : voile épais et uni - trouble abondant, rouge orangé. Au bout de 6 jours devient nettement rouille. Colliette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Les colonies de 5mm de diamètre environ ayant tendance à s'étaler, sont circulaires, grasses, à bords rose-roux, à centre rouge ou verdâtre, puis l'ensemble devient nettement brun. Un pigment brun foncé diffuse dans le milieu gélosé.

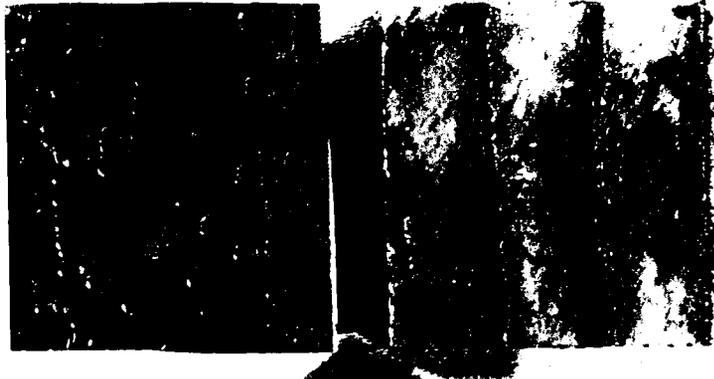
Tranche de pomme de terre : pousse bien, brun clair puis en vieillissant devient foncée.

Caractères microscopiques

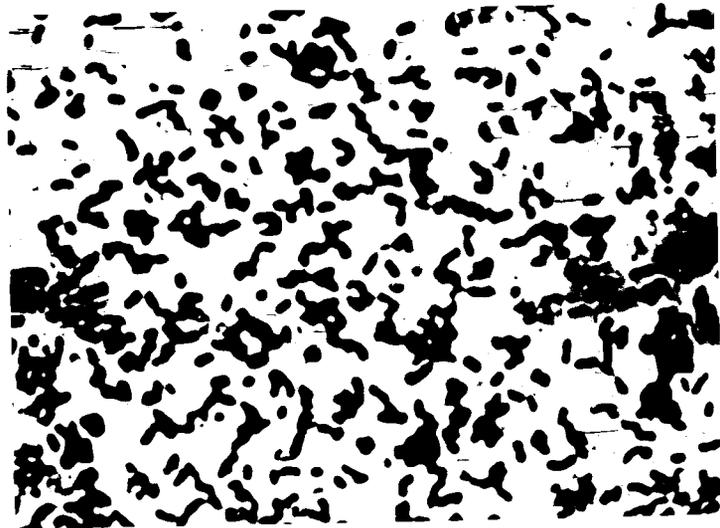
Petits bâtonnets seuls ou en chaînes courtes. Gram -. Pas de capsule.

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	0
		:		
Xylose	+	:	Formation de nitrites	0
action très lente		:		
		:	Lait	0
Arabinose	0	:	Indol	0
Saccharose	0	:	Urée	+
Lactose	0	:	action très faible	
		:		
Mannitol	0	:	A.M.C.	+
		:		
Amidon	0	:	Citrates	+
		:		
Dégagement gazeux	0	:	Lécithinase	0
		:		
Tolérance en ClNa	7&12%	:	Mobilité	+
		:		
Gélatine	+	+	Aérobic, anaérobic, facultatif.	
liquéfaction en cylindre.				



14



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Voile épais et filant, jaune - trouble jaunâtre - dépôt - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies petites de 2 mm de diamètre environ, circulaires, un peu convexes, luisantes, blanc-jaunâtres à contour très nets.

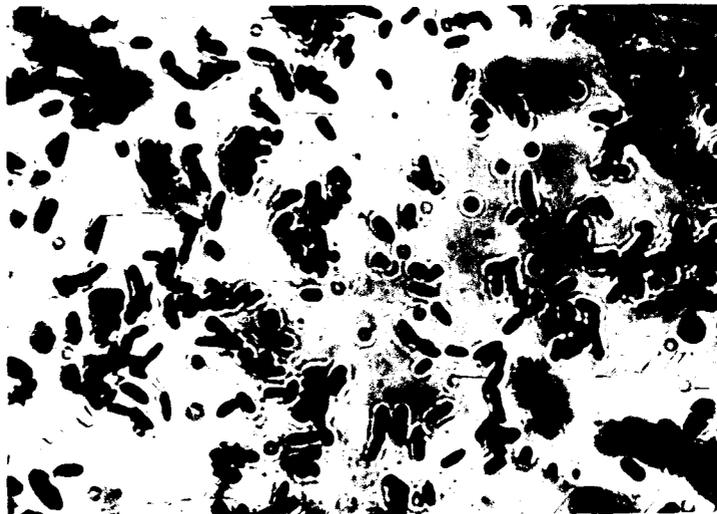
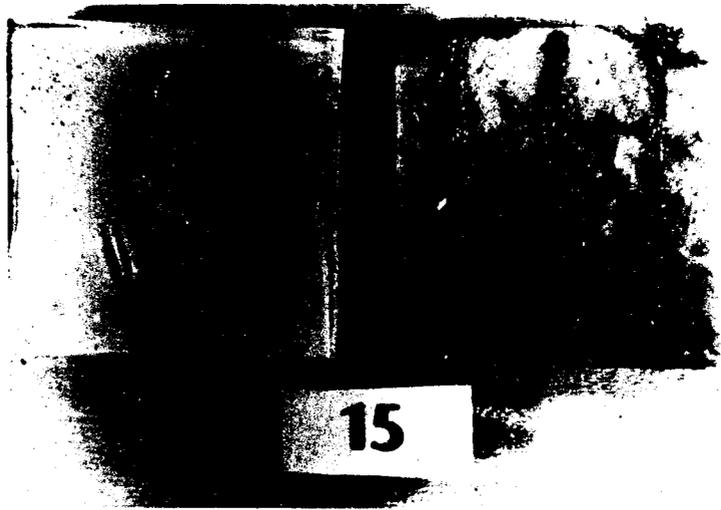
Tranches de pomme de terre : Poussent mal. Colonies luisantes, pigmentées en marron.

Caractères microscopiques

Petits bâtonnets en général par paires ou isolés. Gram --.

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	+	:		
		:	Lait	+
Saccharose	+	:	coagulation avec acidifica-	
		:	tion et dégagement gazeux	
Lactose	+	:	puis peptonisation.	
		:		
Mannitol	+	:	Indol	0
		:		
Amidon	+	:	Urée	+
		:	action faible	
Dégagement gazeux	+	:		
		:	A.M.C.	+
Tolérance en ClNa	7%	:		
		:	Citrates	+
Gélatine	+	:		
liquéfaction en cupule		:	Lécithinase	0
		:		
		:	Mobilité	+
		:	Aérobie.	



Klebsiella aerogenes.

Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Pas de voile - trouble abondant et jaune - épais dépôt mucosé - collerette jaune.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Les colonies de 5 à 10mm de diamètre environ, luisantes, blanches, épaisses, convexes, lisses, diffusent un pigment brun qui colore fortement le milieu gélosé.

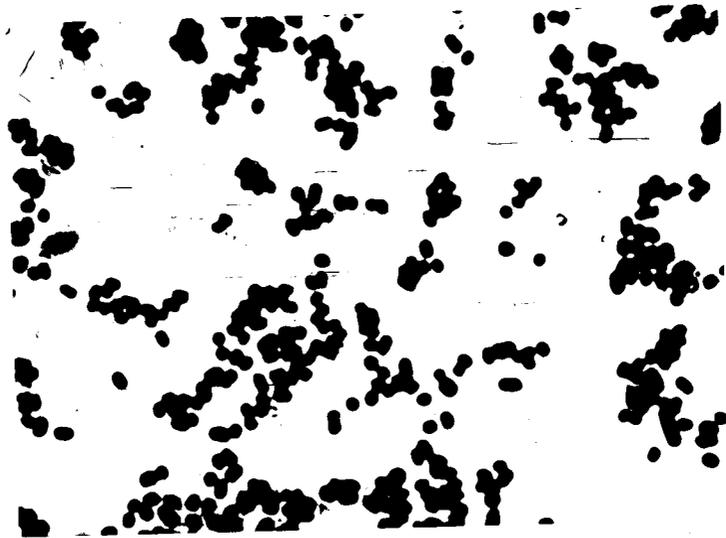
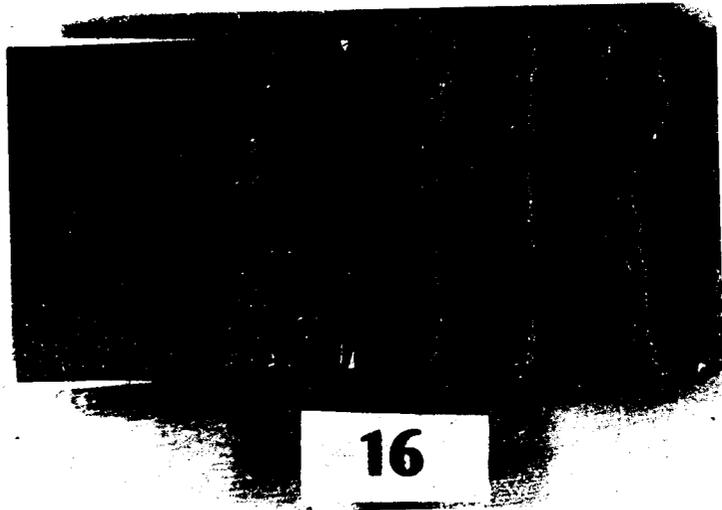
Tranche de pomme de terre : Colonies blanches, parfois jaunâtres, épaisses, visqueuses.

Caractères microscopiques

Bâtonnets courts : coccobacilles. Gram - . Encapsulés.

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	+	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	+	:		
		:	lait	+
Saccharose	+	:	coagulation avec légère aci-	
		:	dification	
Lactose	+	:		
		:	Indol	+
Mannitol	+	:		
		:	Uréase	+
Amidon	0	:	action très lente	
		:		
Dégagement gazeux	+	:	A.M.C.	+
		:		
Tolérance en ClNa	7&12%	:	Citrates	+
		:		
Gélatine	0	:	Lécithinase	0
		:		
		:	Mobilité	0
		:		
		:	Aérobic, anaérobic facultatif.	



Souche No 18

Pseudomonas non pigmenté (Espèce non déterminée).

Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Pas de voile - trouble abondant - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 5 à 10mm de diamètre environ. Circulaires, épaisses, convexes, luisantes, humides puis s'étalent abondamment. Centre plus foncé.

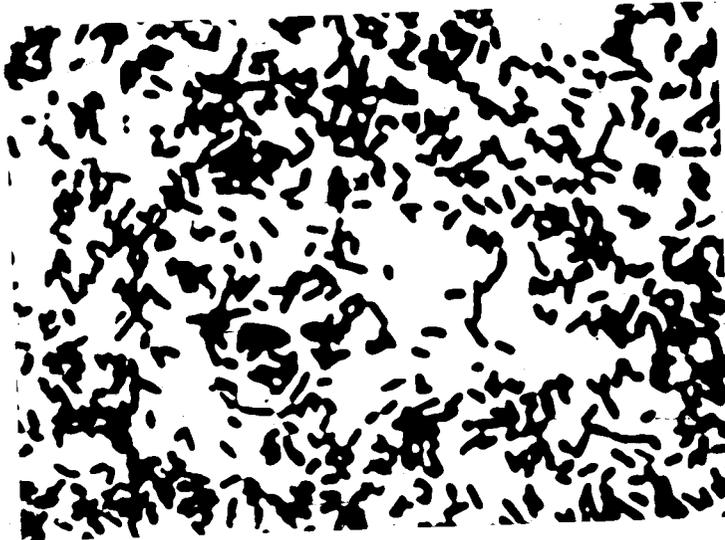
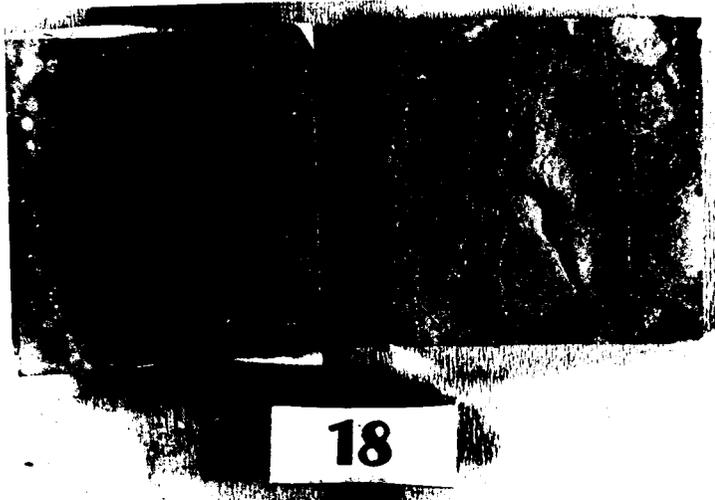
Tranche de pomme de terre : Pousse bien - colonies luisantes, humides, s'étalant un peu, fortement pigmentées en brun chocolat.

Caractères microscopiques

Bâtonnets courts seuls ou en chaînes courtes. Gram -

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	0	:		
		:	Lait	0
Saccharose	0	:		
		:	Indol	0
Lactose	0	:		
		:	Uréase	0
Mannitol	0	:		
		:	A.M.C.	0
Amidon	0	:		
		:	Citrates	+
Dégagement gazeux	+	:		
		:	Lécithinase	0
Tolérance en ClNa	12 à 15%	::		
		:	Mobilité	0
Gélatine	0	:		
		:	Aérobie, anaérobie facultatif.	



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : Léger voile grumeleux - trouble - dépôt - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de Pétri : Les colonies de 2 à 10mm de diamètre sont blanches, plates, entourées d'un bourrelet, avec des dessins intérieurs, elles envoient des prolongements filiformes et enchevêtrés dans le milieu.

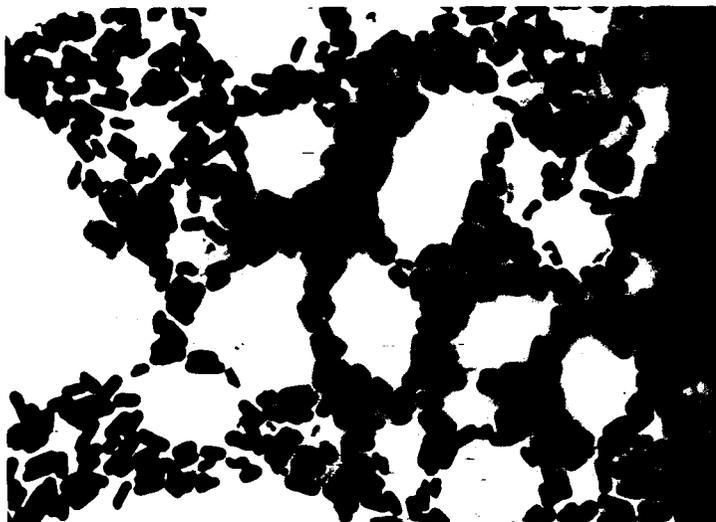
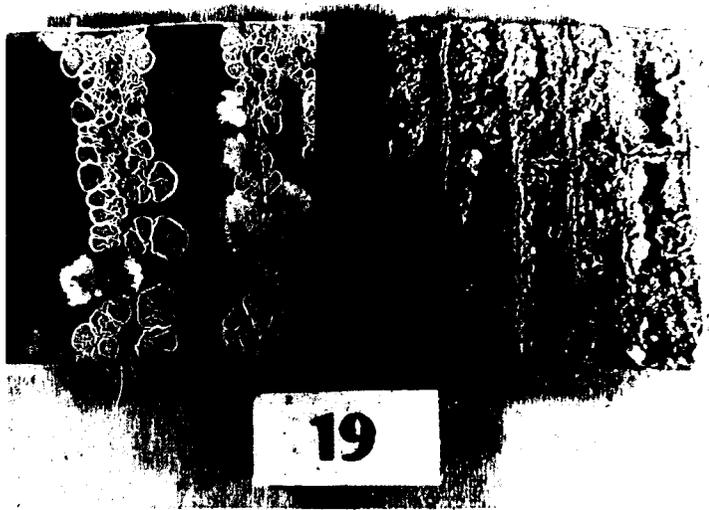
Tranche de pomme de terre : Pousse bien, un peu pigmentée, quelques replis.

Caractères microscopiques

Bâtonnets non en chaînes. Gram + . Spore terminale. Capsule.

Caractères physiologiques

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	+
Arabinose	0	:		
		:	Lait	0
Saccharose	+	:		
		:	Indol	0
Lactose	0	:		
		:	Uréase	0
Mannitol	0	:		
		:	A.M.C.	+
Amidon	+	:		
		:	Citrates	0
Dégagement gazeux	0	:		
		:	Lécithinase	0
Tolérance en ClNa	7à12%	:		
		:	Mobilité	0
Gélatine	+	:		
liquéfaction en enton-		:		
noir.		:	Aérobie.	



**Caractères macroscopiques**

Eau peptonée glucosée : Trouble uniforme - pas de voile ni de dépôt ni de collerette.

Bouillon gélosé en boîtes de pétri : Colonies de 10mm de diamètre et plus, blanc-grisâtre, luisantes, humides, à contours nets puis s'étalent et coulent.

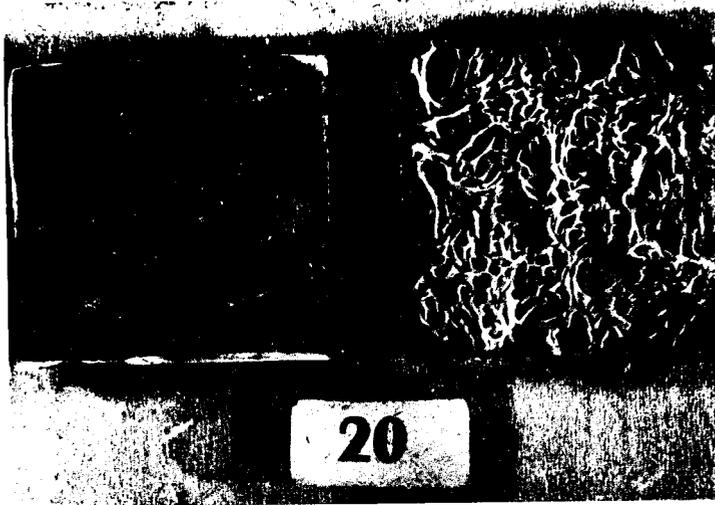
Tranche de pomme de terre : Pousse bien, toute la tranche est couverte. Blanche, fins réseaux enchevêtrés, aspect de dentelle.

**Caractères microscopiques**

Bâtonnets seuls ou en chaînes courtes. Gram variable. Spore terminale.

**Caractères physiologiques**

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	+
Arabinose	0	:		
		:	Lait	0
Saccharose	+	:		
		:	Indol	0
Lactose	0	:		
		:	Uréase	0
Mannitol	0	:		
		:	A.M.C.	+
Amidon	+	:		
		:	Citrates	0
Dégagement gazeux	+	:		
		:	Lécithinase	0
Tolérance en ClNa	7A12%	:		
		:	Mobilité	0
Gélatine	+	:		
Liquéfaction rapide en cylindre.		:	Aérobie	



**Caractères macroscopiques**

Eau peptonée glucosée : Voile uni - léger trouble - pas de collerette.

Milieu gélosé en boîtes de Pétri : Petites colonies de 1 à 3mm de diamètre. Circulaires, à contour net, luisantes, centre plus jaune que la périphérie.

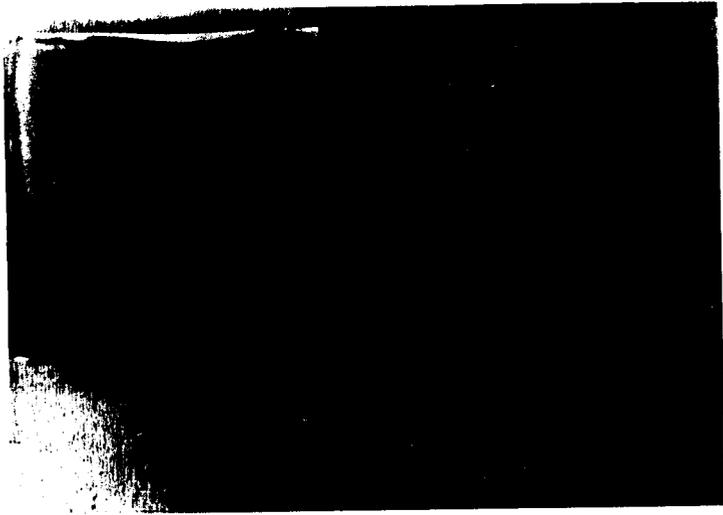
Tranche de pomme de terre : Pousse très mal. Jaune très pâle.

**Caractères microscopiques**

Courts bâtonnets en général seuls ou par paires. Gram - .

**Caractères physiologiques**

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	0	:		
		:	Formation de nitrites	0
Arabinose	0	:		
		:	Lait	+
Saccharose	+	:	coagulation lente avec aci-	
		:	dification et dégagement ga-	
Lactose	0	:	zeux puis peptonisation.	
		:	totale.	
Mannitol	+	:		
		:	Indol	0
Amidon	0	:		
		:	Uréase	0
Dégagement gazeux	0	:		
		:	A.M.C.	+
Tolérance en ClNa	7%	:		
		:	Citrates	0
Gélatine	0	:		
		:	Lécithinase	0
		:		
		:	Mobilité	0
		:		
		:	Aérobie, anaérobie faculta-	
		:	tif.	



**Caractères macroscopiques**

---

Sur peptone glicose : Voile uni, avec quelques grumeaux - trouble uniforme - pas de collerette.

Milieu gélosé en boîtes de Pétri : Colonies de 10mm de diamètre environ. Plâtes, circulaires, présentant des rides, colorées en rose.

Tranche de pomme de terre : Pousse abondamment. Luisante, humide, rose avec à la surface des vésicules ayant l'aspect de verrues.

**Caractères microscopiques**

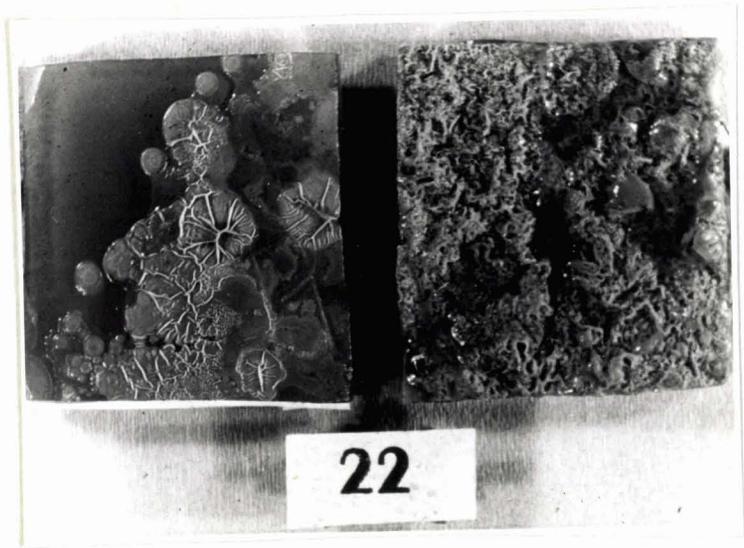
---

Bâtonnets seuls par paires ou en chaînes. Gram + . Spore terminale.

**Caractères physiologiques**

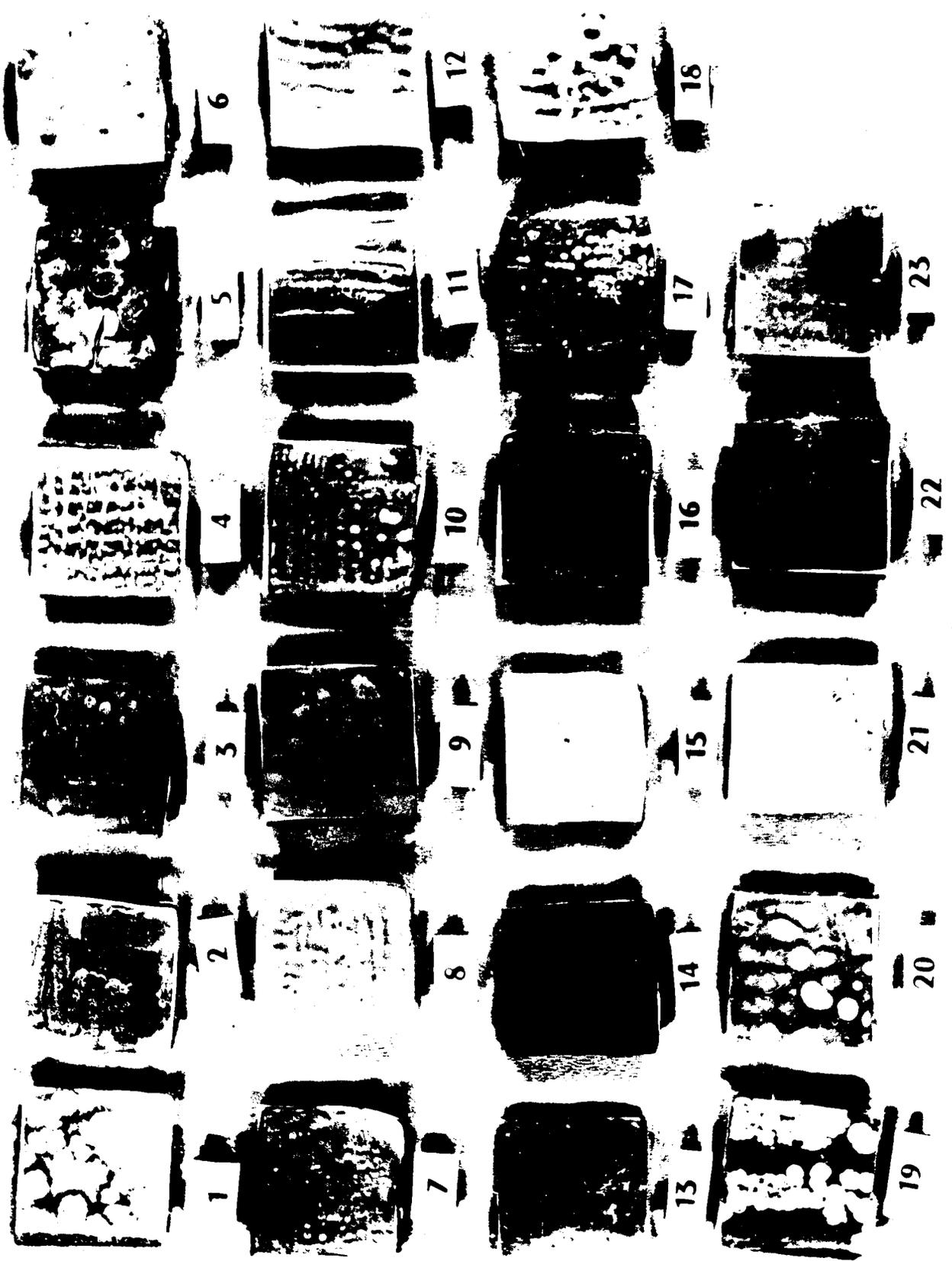
---

Glucose	0	:	Réduction des nitrates	+
		:	avec gaz	
Xylose	+	:		
		:	Formation de nitrites	+
Arabinose	+	:		
		:	Lait	+
Saccharose	+	:	coagulation sans acidification puis peptonisation.	
Lactose	+	:		
		:	Indol	0
Mannitol	+	:		
		:	Uréase	0
Amidon	0	:		
		:	A.M.C.	+
Dégagement gazeux	+	:		
		:	Citrates	0
Tolérance en ClNa	7012%	:		
		:	Lécithinase	0
Gélatine	+	:		
liquéfaction en cupule		:	Mobilité	+
		:		
		:	Aérobic.	



BU  
LILLE





1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

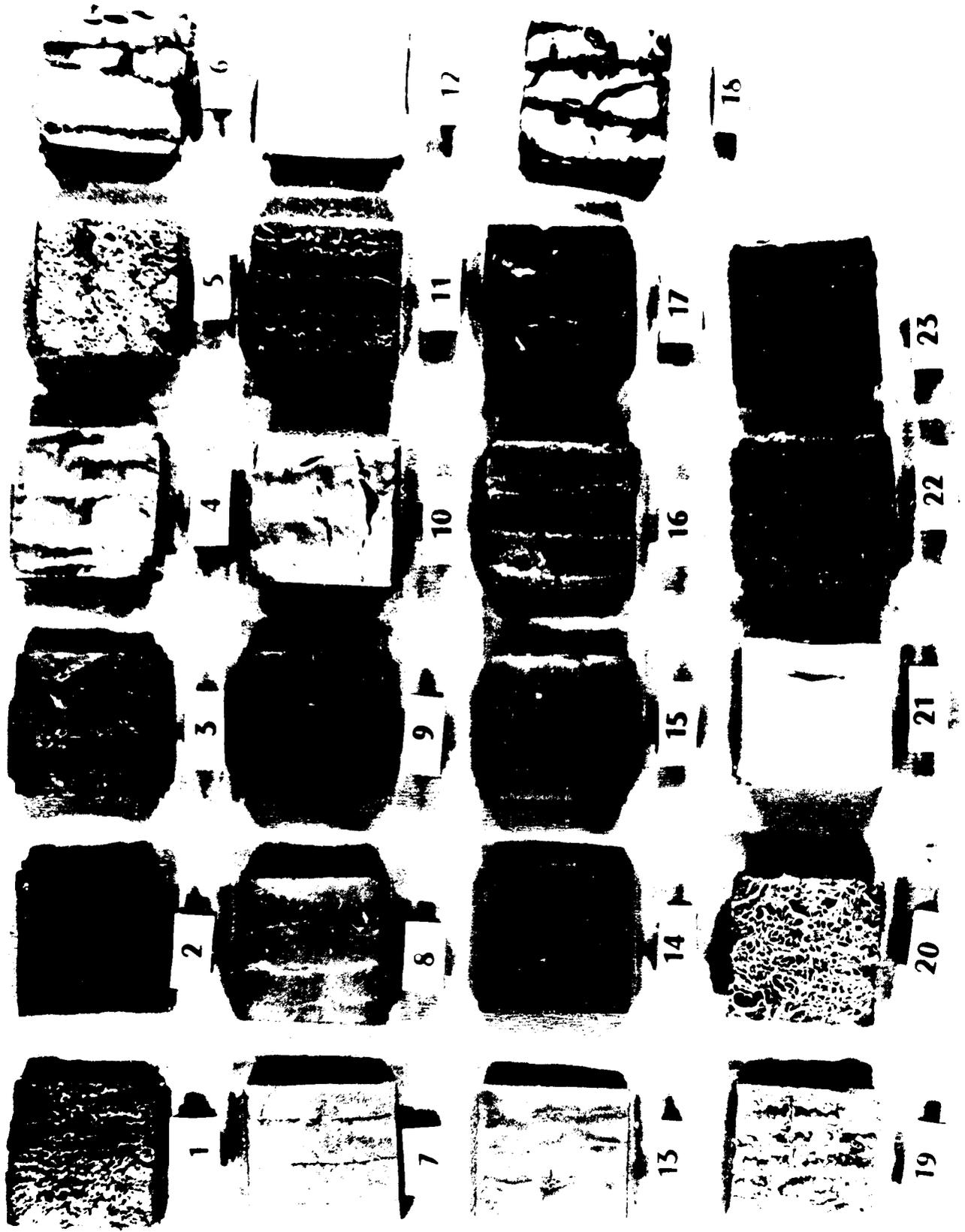
19

20

21

22

23



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	18	19	20	21	22
GLUCOSE	+	+	+	0	+	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
XYLOSE	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	+
ARABINOSE	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+
SACCHAROSE	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	+
LACTOSE	+	0	0	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+
MANNITOL	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+
AMIDON	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0
DEGAG. GAZEUX	0	0	0	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+
GELATINE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RED. DES NITRATES	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+
FORM. DE NITRITES	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+
LAIT	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+
INDOL	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
AMC	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+
CITRATES	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0
UREASE	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0
LECITHINASE	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CLNA	12%	7-12%	7-12%	12%	12%	12-15%	7-12%	7-12%	7-12%	5%	12%	7-12%	7-12%	7-12%	7%	7-12%	12-15%	7-12%	7-12%	7%	7-12%
MOBILITE	+	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	+

TABLEAU RECAPITULATIF DES CARACTERES PHYSIOLOGIQUES



#### IV - Répartition des souches bactériennes dans les différents végétaux

##### et conclusion :

Comment se répartissent dans les différents végétaux les espèces bactériennes que nous venons d'étudier et de déterminer ?

Pour séparer ces différentes souches, nous avons réalisé un grand nombre d'expériences d'isolement sur boîtes de Pétri : pour les tubercules environ 250. Quant aux grains et aux embryons, nous en avons placés plusieurs par tube de broyage et les souches obtenues proviennent de l'étude d'environ 400 caryopses de blé et de maïs et 500 embryons de haricot.

Nous avons d'autre part, au cours de ces isolements constaté, suivant la période de prélèvement, une certaine variabilité dans l'importance du peuplement bactérien qui se traduit par une instabilité du pourcentage de tubes pollués par rapport aux tubes mis en expérience. Nous avons noté ces résultats mais leur exposé



sortirait du cadre que nous voulons garder à ce mémoire.

Les résultats ont été groupés dans un tableau récapitulatif

(p. 72) d'où nous tirons les remarques suivantes :

- Tous les végétaux étudiés ont permis d'isoler des bactéries.
- Toutes les bactéries isolées sont des bacilles.
- Le nombre d'espèces bactériennes vivant dans chaque végétal est variable.

Nous avons en effet mis en évidence chez :

- Beta vulgaris	5 espèces
- Raphanus sativus var. niger	7 "
- Cichorium intybus	7 "
- Daucus Carota	8 "
- Brassica Napus var. esculenta	9 "
- Helianthus tuberosus	5 "
- Apium graveolens	6 "
- Triticum sativum	5 "
- Zea mays	3 "
- Phaseolus vulgaris	5 "

- Des végétaux différents peuvent héberger des bactéries semblables.

Les souches N°1 & N°2 se retrouvent dans tous les végétaux étudiés.

"	"	N°3 & N°5	"	"	4	"	"
"	"	N°6 & N°9	"	"	3	"	"
"	"	N°10 & N°13	"	"	2	"	"

	BETTERAVE	RADIS NOIR	CHILDRÉE	CAROTTE	NAVET	TOURNAPOUR	CELÉRI	MAIS	BLE	HAICOT
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3			+		+	+	+			
4	+	+	+			+				
5			+	+			+			+
6	+			+	+					
7				+		+		+		
8		+	+				+			
9		+						+		+
10				+	+					
11				+			+			
12	+				+					
13									+	+
14					+					
15				+						
16			+							
18					+					
19								+		
20		+								
21		+								
22					+					



- Nous n'avons rencontré les souches N°14 à N°22 que plus rarement et dans la limite de nos expériences on pourrait les considérer comme particulières à un végétal donné.

D'autres observations s'imposent également :

- Les espèces N° 1 et N° 2 ont été isolées de tous les végétaux étudiés. Ce sont respectivement Bacillus cereus et Bacillus licheniformis, bactéries communes dans le sol. Nous ne pouvons que constater leur présence sans qu'il nous soit possible d'expliquer leur mode de pénétration dans la plante.

- La mise en évidence de bactéries dans les caryopses et même dans les embryons peut paraître étonnante. On peut supposer qu'elles circulent dans la plante, passent dans les gamètes et après fécondation se retrouveraient dans la graine.

- Signalons enfin que parmi les espèces déterminées, il est curieux de remarquer la présence de 3 bactéries fécales chez la chicorée : Proteus rettgeri, souche N°4; aerobacter cloaca, souche N°8; et Klebsiella aerogenoides, souche N°16.

Ceci ~~fait~~ confirme les observations de l'Institut Pasteur de Lille relatives à des infections pathologiques provoquées par la consommation des endives.

Pour conclure, nous pouvons, semble-t-il, puisque tous les végétaux étudiés ont permis d'isoler des bactéries, à penser qu'il en serait de même pour bon nombre d'autres plantes.

Sauf cas particuliers, (nodosités des légumineuses par exemple) on considérait généralement que les organes végétaux apparemment sains étaient indemnes de bactéries : nos travaux ne vérifient pas cette conception et posent bien sûr de nombreux problèmes.

Les techniques de détermination des bactéries n'étaient pas jusqu'ici courantes au laboratoire de l'Institut de Botanique de Lille, elles ont nécessité de nombreuses et délicates mises au point tant théoriques que matérielles : le sujet qui nous a été proposé se limitait donc nécessairement à : isoler, caractériser et déterminer les bactéries vivant dans des organes végétaux.

Les déterminations que nous avons conduites et les caractères physiologiques des souches seront sans doute indispensables lors de l'étude de l'origine et du rôle des micro-organismes au sein des cellules.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1 - LAMBIN S. & GERMAN A. "Précis de Microbiologie" tome I - 1961.
- 2 - MONTUELLE B. "Présence de bactéries dans les embryons de Phaseolus vulgaris"  
Bull. Soc. Bot. du Nord de la France 1957 10 N° 4  
p. 137 - 9.
- 3 - MONTUELLE B. "Présence de bactéries dans la carotte".  
Bull. Soc. Bot. du Nord de la France 1960 13 N° I  
p. 13 - 15.
- 4 - MONTUELLE B. "Mise en évidence cytologique de bactéries dans les racines de betteraves"  
CR. A s. Sc. 1961 252 - p. 2950.
- 5 - SAMISCH Z. & DINANT D. "Bacterial population in fresh healthy cucumbers".  
Food Manuf. T34 - 1959 - p. 17 à 20.
- 6 - SAMISCH Z., ETINGER, TULCZYNSKA R. & RICK M.  
"Microflora within healthy tomatoes"  
Applied - microb. 1961 - 9 - p. 20 à 25.
- 7 - TONZIG S. & BRACCIO ORSENIGO L.  
"Sulla presenza di batteri nei vari organi della piante superiori".  
Soc. Bot. Ital. Firenze 1955 - Vol. LXII N° 1-2,  
p. 1 - 8.