50376 1963 67

UNIVERSITE DE LILLE FACULTÉ DES SCIENCES

50376 1963 67

Mémoire présenté en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE SCIENCES NATURELLES

Contribution à l'étude des bactéries présentes dans les tubercules sains de pomme de terre

Soutenu à Lille, en Mai 1963 par Roland BLONDEAU

PLAN DU MEMOIRE.

	Management of the control of the con	Pages
Intro	oduction	2
I èr e	partie : Isolement des bactéries présentes	
	dans les tubercules de pommes de	
	terre	3
	I - techniques employées	3
	II - étude des bactéries présentes dans des tubercules d'origine différente	6
	III - étude des bactéries présentes dans des tubercules de variétés différentes	IO
	IV - étude des bactéries présentes dans les germes	16
	V - Conclusion	19
2ème	partie : Caractères et détermination des bace téries	22
3ème	partie: Relations entre l'évolution des bac- téries hébergées et la germination des tubercules	56
	I - Lot témoin	58
*.	II - Lot conservé à 4°C	62
	III - Lot à germination retardée	65
	IV - Lot à germination inhibée	68
	V - Lot égermé	71
	VI - Conclusion	71
Conc	lusion	74
RAFA	rences hibliographiques	76

L'étude des bactéries présentes dans les tubere cules sains de pomme de terre a déjà fait l'objet d'un cere tain nombre de travaux (2, 5, 7). Leur présence dans les tissus a été prouvée en ayant recours soit à des examens cyetologiques, soit en isolant les microrganismes et en les cultivant dans des milieux appropriés. Leur activité dans les tubercules a donné naissance à diverses théories sur leur rôle éventuel dans le métabolisme des cellules. Ceapendant un maillon manquait à cette chaîne car nous n'aevions aucune idée précise sur les caractères de ces bacetéries, ni sur leur nombre relatif.

Notre travail a donc consisté à isoler les bactéries présentes dans les différents lots de tubercules, puis à étudier leurs caractéristiques morphologiques et physiologiques, permettant leur détermination. Enfin, dans un troisième chapitre, nous avons essayé de voir s'il existe une relation entre l'évolution des bactéries hébergées, et la germination des tubercules.

PREMIERE PARTIE : ISOLEMENT DES BACTERIES PRESENTES

DANS LES TUBERCULES DE POMME DE TERRE.

I - Techniques employées

a) Prélèvement des explantats :

Les tubercules utilisés, toujours parfaitement sains, sont stérilisés une demi-heure au sublimé à 0,2%. Après avoir flambé la surface jusqu'à carbonisation complète, nous prélevons des explantats à l'aide d'un trocart stérile. Chaque explantat est introduit dans un tube renfermant un milieu de culture stérile composé de :

eau :	IOOOml
glucose :	20g
peptone Mactériologic	que IOg
Extrait de viande	IOg
Chlorure de sodium	5g.

Toutes ces opérations sont effectuées dans une chambre stérile.

Les tubes contenant les explantats sont placés à l'étuve (35°) pendant 4 à 5 jours. Nous constatons alors que le contenu d'un certain nombre d'entre eux se trouble, traduisant un développement bactérien.

b) Culture sur milieu gélosé :

0

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, nous prélevons une goutte de milieu troublé que nous diluons dans IOml d'eau stérile. Avec une seconde pipette, nous prélevons quelques gouttes de cette dilution que nous déposons sur un milieu de culture gélosé, contenu dans une boite de Pétri. Le milieu gélosé a la même composition que le milieu liquide précédemment utilisé. Nous y ajoutons simplement I5g de gélose par litre de milieu. Les boites de Pétri sont placées 2 à 3jours à l'étuve (35°).

Nous pouvons alors observer les colonies qui se sont développées à la surface du milieu. Chacune d'entre elles a une forme et un aspect caractéristiques de l'espèce bactérienne cultivée.

Remarque: généralement, toutes les colonies présentes dans une même boite ont la même forme et le même aspect, traduisant le fait qu'une seule espèce bactérienne s'est développée dans le milieu de culture liquide.

Parfois cependant, un même tube pollué fait apparaître

plusieurs colonies de formes différentes sur gélose.

Ainsi, dans nos résultats, le nombre de colonies isolées ne correspond pas toujours au nombre de tubes pollués étudiés.

c) Valeur de la technique :

C'est une méthode simple, qui ne demande pas beaucoup de manipulations du matériel à étudier, permettant
ainsi de réduire au minimum les risques de pollutions extérieures. C'est surtout pour cette raison que nous l'avons utilisée.

Cependant, elle a aussi des inconvénients :

- d'une part, seul un certain pourcentage de tubes sont pollués. Les tubes restés stériles ne sont d'aucune utilie té, donc à rejeter (le pourcentage varie d'ailleurs au cours de l'année, de 5 à 70%, et par conséquent pendant certaines périodes telles que la germination, la technique est beaucoup plus rentable pour l'étude des bactéries).
- d'autre part, pour un seul tubercule, nous ne pouvons isoler au maximum que 4 à 5 colonies, le nombre d'explantats qui peuvent être extraits est toujours assez faible. Ainsi, nous ne pouvons pas établir la fréquence de présence d'une bactérie donnée dans un seul tubercule. Pour l'étudier, il est toujours nécessaire de s'adresser à un lot assez important de tubercules.

II - Etude des bactéries présentes dans des tubercules d'origine différente.

- Notre premier travail consiste à isoler les bactéries présentes dans des lots de tubercules cultivés en des endancits différents. Le but de cette étude est donc de comparer la population microbienne interne de tubercules qui se sont développés dans diverses microflores; cette comparaison nous donne par ailleurs une idée sur le nombre d'espèces bactériennes hébergées, et sur leur importance relative.
- Les tubercules sont tous de variété Bintje.

 Ils proviennent de régions très différentes par la composition chimique et biologique de leur sol : Aisne, Ardennes,

Douaisis, Hesdinois, Littoral, Oise, Pays de Caux, Pévèle, Somme.

Nous avons effectué 216 explantats par lot, correspondant à 36 tubercules (6 explantats par tubercule), ce qui nous a permis d'isoler 40 à 60 colonies par région.

- Considérons maintenant nos résultats, rassemblés dans le tableau I. Les différentes souches sont représentées par des lettres : A, B, C, etc ...
- a) Nous constatons tout d'abord d'une part que les tumbercules hébergent un nombre assez restreint d'espèces bacm

tériennes, et d'autre part que certains lots sont relativement plus riches que d'autres :

Par exemple : pour le Douaisis et l'Oise : nous avons isolé 9 souches différentes; pour l'Hesdinois : II souches, alors que pour le Littoral et la Somme, nous n'obtenons que 6 souches.

b) Nous constatons que certaines souches sont très souvent présentes dans les tubercules : la "C est, dans tous les cas, quelle que soit la région considérée, la bactérie la plus représentative d'un lot.

Elle représente en effet :

50% des bactéries hébergées dans les tubercules de l'Aisne

48%	80	**	88.	300	du Pévele
45%	99	88	98	88	du Littoral
45%	80	89	88	319	du Pays de Caux
44%	88	99	99	96	de la Somme
43%	80	30	90	gg	de l'Oise
32%	DB	08	90	90	de l'Hesdinois
32%	95	90	8.5	96	du Douaišis
28%	96	Q Q	**	(w	des Ardennes.

Pour l'ensemble des régions, elle constitue donc environ 40% de la flore bactérienne vivant dans les tubercules de pomme de terre.

Si nous considérons les I5 autres souches isolées, nous

constatons que seuls 3 d'entre elles sont toujours présentes, ou presque, dans les tubercules : ce sont les souches F, K, et L (La souche F n'est absente que dans les tubercules de l'Aisne, et la souche K, que dans ceux du Pays de Caux).

Les autres souches ne figurent que dans un certain nombre de lots, mais en quantité toujours assez faible, de sorte qu'il est difficile de dire que telle bactérie est caractéristique de telle région.

En effet, l'ensemble des souches C + F + K + L représente :

90% des bactéries hébergées dans les tubercules du Littoral

88%	96	0	11	90	de la Somme
80%	81		90	88	du Pays de Caux
76%	90	0	90	90	de l'Aisne
76%	95		90	99	du Pévèle
74%	91	0	90	80	des Ardennes
65%	68		98	90	de l'Oise
55%	91	9	28	98	de l'Hesdinois
50%	11	ı	11	88	du Douaisis.

Nous devons cependant remarquer que certaines souches n'ont été isolées que dans certains lots, et en quantité relativement importante : c'est le cas de souche A qui représente 8% de la population bactérienne des tubercules du Pévèle, de la souche D : 10% pour le Pévèle et 23% pour le Douaisis.

	nombre			3	000	HE	3				1.5	0 6	E 5					nombre	nembri
ORIGINE	polives (sur 216)	Α	В	C	D	F	G	Н	1	J	K	L	M	N	P	Q	R	de olonies isolees	dc souches isolees
AISNE	41			21	1			3	1	5	10	1						4 2	7
ARDENNES	53	1		16		12		9	4		11	3		1				57	8
DOUAISIS	5 8		2	20	14	6			2	2	1	4		9				60	9
HESDINOIS	50		3	17		2	5	2	6	2	8	2		5			1	53	11
LITTORAL	40	2		19	2	6					7	6						42	6
OISE	43		1	20		3		4	7		5	2	3	1				46	9
PAYS DE CAUX	40			18		9			1	1		5		3	2	1		40	8
PEVELE	47	4		24	5	3				2	6	5						49	7
SOMME	4 1			19		5	4	1			6	8						43	6

tableau 1



de la souche G: 9% pour la Somme et l'Hesdinois,

de la " M: I6% " les Ardennes,

de la " I : I5% " l'Oise et II% pour l'Hesdinois

de la " J: I2% " l'Aisne,

de la " N : I5% " le Douaisis et 9% pour l'Hesdinois.

Dans le même ordre d'idées, l'absence de la souche F dans les tubercules de l'Aisne par exemple pourrait caractériser ce lot.

- Nous pouvons conclure que cette étude ne nous permet pas d'affirmer que les tubercules hébergent des bactéries spécifiques du milieu où ils ont tubérisé. Les différences entre les populations bactériennes contenues dans les divers lots existent mais sont assez minimes.

III - Etude des bactéries présentes dans les tubercules de variétés différentes.

- Cette étude est en quelque sorte, complémentaire de la précédente : nous nous proposons d'isoler les bactéries présentes dans des tubercules de variétés différentes, mais cultivés dans un même sol.

Les variétés utilisées sont : Saskia, Viola, Bintje et Roseval.

Elles proviennent de régions très diverses, de façon à obtenir initialement le plus de différences bactériologiques possibles. En effet : la variété Saskia provient du Pévèle; la variété Bintje, du Nord de la Hollande; et les variétés Viola et Roseval, du Finistère.

0

- La plantation a été effectuée le IO Avril. Les variétés ont été plantées côte à côte, réduisant ainsi au maximum les variations qualitatives de la microflore du sol. Lorsque, pour une variété, les tubercules mères ont donné des tubercules fils suffisamment gros pour être étudiés, nous prélevons séparément 5 lots consécutifs de tubercules provenant chacun d'un même tubercule mère, et nous les analysons au laboratoire.

Les lots sont numérotés par une lettre correspondant à l'initiale du nom de la variété, et par un chiffre correspondant à l'ordre de la plantation.

Nous obtenons aînsî SI, S2, S3, etc ..., VI, V2, V3, etc... et nous pouvons déduire que SI s'est développé à côté de VI, S2 à côté de V2, etc ...

Nous avons récolté et étudié les tubercules de la variété Saskia (hâtive) à partir du 2 juillet,

ceux de la variété Viola (hâtive à mi hâtive) à partir du I3 Août,

ceux de la variété Bintje (demi-hâtive) à partir du I3/9,

" Roseval (demi-tardive) " 27/9.

La technique utilisée pour étudier les bactéries est toujours celle des explantats, exposée au début du mémoire : nous avons effectué 6 prélèvements par tubercule, ce qui nous a donné 48 à 72 explantats par lot suivant le nombre de tubercules utilisables.

Le nombre correspondant de tubes pollués est noté dans le tableau II.

Pour les différentes variétés, nous donnons dans le tableau II les résultats de chaque lot de tubercules fils (issus d'un même "plant"); et dans le tableau III, les résultats globaux.

- a) Le premier de ces tableaux est en effet nécessaire : il montre, pour une même variété, l'existence de très peu de variations relatives, du point de vue bactériologique, entre lots de tubercules fils. Pour la variété Saskia cependant, les résultats sont assez dispersés : la souche N est absente dans le lot S5 alors qu'elle est bien représentée dans les autres lots; la souche K a été isolée 4 fois dans le lot S4, et ceci à partir de tubercules différents, alors qu'elle est absente, à une exception près, dans les quatre autres lots.
 - b) Le tableau III nous permet de constater que :
- . Pour les 4 variétés, les tubercules hébergent un nombre assez restreint d'espèces bactériennes :

	Celer.	21	28	1-	35	30	32	33	24	22	39	34	16	28	38	30	34	0,4	88	56	4.9
	>																	-			
	כ										1			-							
	1		-				<u> </u>			_											
	S			-	-	-					=	•			,		•- ·· •				
1770	ď		-				-												-	L	
•	Ø	1																			
	0		S	2	3												2	*	-	1	
	Z	6	7		10	•			-		-	0	-	S	9	7		2	~	8	2
	Σ				2		-	~			-		-				*	-		2	
8 J W	1							-			-	2		-		-			-		2
3 3 7 0	¥				4	-	2	~	-		1		1			-				7	
0 5	L		-		-	9	~	•	80	2	7	•	2	•	9	2	7	9	ဖ	3	6
	E						8	••	3	*	7	8	2	S	9	2	9	2	S		1
	S	11	14	8	15	18	21	42	12	13	21	11	6	25	20	17	15	21	4-	15	11
em bre	tubes pollues	2.1	28	11	35	29	28	23	19	18	31	26	13	33	32	2.8	26	35	24	25	18
-	° c	Ŋ	り	ဟိ	Š	S,	>	>	>	ブ	>	ą	മ്	B	B	B,	ď	ď	ď	ď	Ŗ,
	VARIETE		_	SASK-A					A - 0 - >	, -				B N N N					ROSEVAL		

(





	319404			8 9 W 9 W 8	831						=	18 - 1 - 6 6 8			۲	3.00	2.20
VARIETE	***************************************	S	E	F	X	٦	Σ	Z	0	Ø	8	S	-	5	>	colonies	3 C C C P C P C P C P C P C P C P C P C
SASKIA	124	29		7	\$		8	30 10		-		7	~			125	9
VIOLA	119	79	27	28	7	0	4	N			-					150	•
BINTJE	132	82	21	21	8	4	-	22				-		8		156	60
ROSEVAL	128	8 76 14	14	25	2	တ	7	12	90						-	1 148	∞

tableau 3

(récapitulation du tableau 2)



Pour la variété Saskia, nous en avons 9 dont 5 fréquentes

88	Viola		8	5	Ħ
98	Bintje		9	5	ıı
88	Roseval	61	8	6	81

Quelle que soit la variété envisagée, c'est toujours la souche C qui est la plus fréquente. Elle représente en % des bactéries hébergées dans les tubercules :

54% pour la variété Saskia

53% " Viola

53% "Bintje

51% " Roseval.

Parmi les autres souches isolées, seules E, F, K, L, M, N, et O sont à considérer dans notre comparaison, car les autres n'ont pas été isolées assez souvent pour que l'on puisse les retenir.

Pour les premières citées, arrêtons-nous sur trois d'entre elles : les souches E, N et O : il semble exister pour elles une certaine spécificité avec les variétés étudiées. Ainsi, la souche E, qui représente :

18% des bactéries isolées dans la variété Viola,

I3% "Bintje, et 9% "Roseval,

est tout-à-fait absente dans la variété Saskia.

La souche N, qui représente respectivement 24%, I4% et 8% des bactéries isolées dans les variétés Saskia, Bintje

et Roseval, n'a été isolée que deux fois dans Viola.

0

Enfin, la souche O n'a été isolée que dans les variétés Saskia et Roseval. (Notons cependant que les souches N et O sont très voisines).

IV - Etude des bactéries présentes dans les germes.

Il nous a paru intéressant de confirmer les résultats cytologiques d'un diplôme précédent (8) qui a établi que les vaisseaux des jeunes stolons étaient très riches en bactéries. Dans ce but, nous avons donc comparé
les bactéries hébergées dans les tubercules, avec celles
qui se trouvent dans les germes.

Pour les tubercules (variété Sirtema), afin d'obtenir un résultat plus homogène, nous avons utilisé la descendance d'un seul tubercule en isolant les bactéries présentes dans les 9 tubercules fils qui en sont issus par la méthode des explantats, dans des conditions d'asepsie rigoureuse.

Pour les germes cependant, cette technique est un peu modifiée : détachés de leur tubercule, ils sont stérilisés I5mn au sublimé à 0,2%; puis, passés à l'alcool, flambés, et coupés transversalement à Icm environ de leur extrémité basale, à l'aide d'un scalpel préalablement chauffé au rouge.

Ceci permet d'obtenir une surface plane sur laquelle est enfoncé un trocart stérile de petit calibre (4mm de diamètre). Cette opération se fait d'ailleurs dans la flamme, de façon à éviter toute pollution extérieure. L'explantat ainsi prélevé est déposé dans un tube contenant un milieu de culture stérile.

Ensuite, l'expérience est poursuivie suivant la technique classique exposée au début de ce mémoire.

- Les résultats, rassemblés dans le tableau IV, ne semblent pas concordants à première vue. En effet, il n'y a pas identité parfaite entre espèces bactériennes isolées des germes et celles des tubercules correspondants.

Cependant, cette non concordance est explicable, car, pour un seul tubercule, notre technique ne nous permet pas de prétendre isoler toutes les espèces bactériennes présentes dans le tubercule. (d'autant plus que pendant cette période de germination avancée, la population bactérienne des tubercules est très réduite).

Il est donc nécessaire d'additionner nos résultats partiels et de les présenter dans un tableau récapitulatif (Tableau V).

de,		nembre		1000	H 8 8		180	1881		
tubercules		tube:	C	D	E	L	N	Q	R	
1	Tubercule Germe	_ 2	1		1		1			l
-	Germe	2	1			-			1	!
2	<u>T.</u> G.	_ 2 _		1	1					
		2		2						
3	<u>T.</u> 	3	1_	_2_						
	G.	2	2							
4	T. G.	3		1_		1	1			
		1		1						
5		_ 6 _	_3_	_1_			_2_			
	Ğ.	4		2			3			
6	<u>T.</u> G.	_ 5		_2_			3_			
		3	2	1						
7	T.	3	1_	1				1		
	<u> </u>	4	4							
8	!	2		_2_						1
	G	2		2						
9	T . G	_ 7_	3	1]	3			,
	G	3	1	2						

tableau 4

	nembre			168		isol	EES		nembre
	tubes pollves	С	D	Ε	L	N	Q	R	de colonies isolaes
Tubercules	3.5	9	11	2	1	10	1		3 4
Germes	23	10	10			3		1	24

récapitulation

Nous constatons alors une correspondance entre souches isolées respectivement des tubercules, et des germes.

Ainsi, la souche C, qui représente 26% des bactéries hébergées dans les tubercules, est retrouvée dans 42% des cas dans les germes.

La souche D, qui en représente 32% dans les tubercules, est retrouvée dans 42% des cas dans les germes.

Un problème se pose cependant au sujet de la souche N, isolée IO fois à partir des tubercules et seulement 3 fois à partir des germes.

Ce fait, nous pouvons l'expliquer, en considérant que toutes les bactéries ne passent pas forcément dans les germes au même moment, et que certaines seraient plus "stables" que d'autres.

V - Conclusion.

0

Le dernier résultat obtenu (tableau V), ainsi que l'étude comparée de la population bactérienne hébergée dans des lots de tubercules de pomme de terre de différentes provenances et de différentes variétés peut nous donner quelques indications sur l'origine de ces bactéries. Ce problème a déjà été soulevé dans le D.E.S. de Mademoiselle Youf (8) qui a remarqué par des observations cytologiques le passage des bactéries dans les germes. A partir d'une

étude quantitative des bactéries présentes dans les zones corticales et médullaires de tubercules mères en plantation, J. DUBOIS (3) note aussi, à une certaine période, un passage possible de bactéries dans les stolons et les tubercules en formation. Par notre étude, nous aboutissons aussi, tout au moins en partie, à cette conclusion.

En effet, à priori, deux théories sont possibles pour expliquer cette origine :

- I Les tubercules, en se développant, seraient contaminés par les bactéries du sol, et dans ce cas, la population bactérienne des tubercules devrait correspondre à celle du sol dans lequel ils ont tubérisé.
- 2 Les bactéries passeraient des tubercules mères aux tubercules fils par l'intermédiaire des stolons, et dans ce cas, nous devrions toujours avoir la même population bactérienne dans la descendance d'un tubercule mère.

D'après nos résultats, nous savons que la première théorie n'est pas entièrement valable car dans ce cas, d'une part le tableau I nous aurait donné des résultats beaucoup plus discordants suivant la provenance des lots étudiés, d'autre part le tableau III aurait présenté, au contraire, des résultats plus uniformes pour n'importe quelle variété envisagée.

En ce qui concerne la deuxième théorie, elle est confirmée

en partie par le tableau IV qui montre la possibilité pour les bactéries de passer des tubercules dans les germes.

Rien ne s'oppose alors à ce que ces microrganismes subsistent ou même se multiplient dans les stolons, et se retrouvent dans les tubercules fils issus de leur tubérisation.

La population bactérienne contenue dans les tubercules de pomme de terre aurait donc une double origine :

- d'une part les bactéries du tubercule mère qui ont cheminé dans les stolons,
- et d'autre part certaines bactéries du sol que le jeune tubercule en formation pourrait choisir.

Nous pensons qu'il faut surtout insister sur cette sorte de sélection, car étant donné le nombre relativement faible de souches isolées, le tubercule ne doit pas rester passif à toute attaque microbienne.

DEUXIEME PARTIE

CARACTERES ET DETERMINATION DES BACTERIES.

Il s'agit maintenant de déterminer les souches bactériennes isolées au cours de nos recherches, ou tout au moins d'étudier leurs caractères spécifiques. Cette détermination étant toujours assez longue à effectuer, les souches obtenues I, 2 ou 3 fois seulement n'ont pas été retemues. Ainsi, les souches P, Q, R, S, T, U, V n'ont pas requi de nom. En ce qui concerne les I5 autres souches, nous avons étudié successivement leurs caractères microscopiques, macroscopiques et physiologiques. Les techniques utilisées sont classiques et elles ont été précédemment exposées (5, 4). Nous nous contenterons ici de les résumer simplement. Pour la détermination, nous nous sommes servis du "Bergcy's manuel of determinative bactériology" (I) et du "Traité de systématique bactérienne" de A.R. Prévot (7).

I - Techniques de coloration pour l'étude microscopique.

Io Coloration Gram:

6

C'est la coloration classique au violet de gentiane, lugol et fuchsine phéniquée.

2º Coloration des spores : Méthode de Benito Trujillo (4) On utilise une solution aqueuse de vert malachite à 0,5% (5mm) en chauffant une seule fois jusqu'à émission de vapeur; puis, une solution aqueuse de fuchsine basique à 0,25% (20secondes). Les spores sont vertes, les bactéries rouges.

II - Milieux de culture.

Iº Bouillon peptoné-glucosé :

Sa composition est donnée au début de ce mémoire.

2º Bouillon peptoné, glucosé et gélosé:

Il contient I,5% de gélose et permet de distinguer les colonies de forme muqueuse, lisse ou rugueuse.

3° Culture sur pomme de terre :

La pomme de terre constitue un excellent milieu de culture pour les bactéries chromogènes.

4º Milieu pour la recherche des gaz :

Identique au précédent; on introduit simplement dans

le tube de culture un petit tube à hémolyse renversé qui est entraîné à la surface du liquide lors d'un dégagement gazeux.

5° Milieux sucrés pour l'étude des fermentations : La composition du milieu diffère selon qu'il s'agit de bactéries Gram + ou Gram -

- a) Milieux sucrés pour les bactéries Gram + l'azote est fourni sous forme de phosphate mono-ammonique,
- l'indicateur coloré est une solution de bromocrésol (zone de virage : 5,2 6,8)
- b) Milieux sucrés pour les bactéries Gram l'azote est ici fourni sous forme de peptone, l'indicateur coloré est le rouge de phénol (zone de virage 6,8 8,4).

6º Milieux gélatinés :

On utilise de la gélatine nutritive. La façon dont les bactéries vont liquéfier cette gélatine est un caractère de détermination très spécifique.

7° Fau peptonée pour la recherche de l'indole:

Cette recherche se fait avec une solution de NO2K à

I/I0.000 + SO4H2 pur. En présence d'indole, une coleration rouge apparaît: on peut la rassembler en surface par addition d'alcool amylique.

8º Eau peptonée pour la recherche des nitrites :

Utilisation d'une solution d'acide sulfanilique à 0,2% dans l'acide acétique à 30%, addition de quelques gouttes d'une solution acétique de naphtylamine à 0,5%. La présence de nitrites donne naissance à une coloration rose à rouge.

9° Eau peptonée salée :

Elle permet d'étudier les concentrations maximales compatibles avec la vie des bactéries.

IOº Milieu au lait :

L'indicateur est le pour pre de bromocrésol.

IIº Gelée d'amidon :

Elle permet de mettre en évidence les bactéries amylolytiques.

La solution d'urée doit être stérilisée par filtration sur bougie. L'indicateur utilisé est le rouge de phénol.

13° Recherche de l'acétyl-méthyl-carbinol=milieu de Beerens et Guillaume :

La recherche de l'A.M.C. est effectuée après 24 à 48h d'étuve : Introduction de 20 gouttes de soude à 16% + 10 gouttes d' naphtol : apparition d'une co-loration rouge groseille en présence d'A.M.C.

I4º Utilisation des citrates = Milieu de Simmons :

Ce milieu permet de détecter les bactéries capables d'utiliser le citrate d'ammonium comme seule source de carbone. L'indicateur utilisé est le bleu de Bromothymol.

15° Recherche des lécithinases :

Le milieu utilisé est une émulsion de jaune d'oeuf dans une solution de sels, stérilisée par filtration sur bougie. La présence de lécithinase est caractérisée par un trouble.

16° Milieu pour l'étude de la mobilité des bactéries :

Il est à base de tryptose.

17° Milieu V-L : acrobiose-anacrobiose :

Il est à base d'extrait de viande et de levure bactériologique.

Dans les pages qui suivent, nous présentons les principaux caractères de chaque souche. Les caractères microscopiques sont accompagnés d'une microphotographie (G = 2000 X) après coloration Gram. Les caractères macroscopiques sont illustrés par une photographie grandeur nature présentant la culture sur milieu peptoné gélosé, et la culture sur tranche de pomme de terre.

Souche A

Espèce non déterminée du genre Achromobacter.

Caractères microscopiques

Bâtonnets de I à 3 microns, isolés Gram négatif - pas de spore.



Caractères macroscopiques :

Eau peptonée glucosée : présence d'un trouble assez léger - pas de formation de voile.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies circulaires, très peu développées, fines, lisses et
translucides - pas d'adhérence au milieu gélosé.
Tranche de pomme de terre : très peu de prolifération - formation d'une fine pellicule devenant grisâtre après quelques jours d'incubation.

Souche



Caractères physiologiques

- Fermentation	des su cr es (e	en présence de	peptone)
(Glucose	+	
	Xylose	0	
	Arabinose	0	
\$	Saccharose	0	
:	Lactose	+	
1	Mannitol	0	
- Amidon		0	
- Dégagement gaz	zeux	0	
- Tolérance en (ClNa	7%	
- Gélatine	liqu	éfaction lente	e (petite cupule)
GélatineNitrites	liqu	éfaction lente O	e (petite cupule)
	liqu		e (petite cupule)
- Nitrites	liqu	0	e (petite cupule)
- Nitrites - Lait	liqu	0	e (petite cupule)
NitritesLaitIndole		0 0 0	e (petite cupule)
NitritesLaitIndoleUréase		0 0 0 0	e (petite cupule)
 Nitrites Lait Indole Uréase Acétyl-méthyl- 		0 0 0 0 +	e (petite cupule)
- Nitrites - Lait - Indole - Uréase - Acétyl-méthyl Citrates		0 0 0 0 +	e (petite cupule)

Souche B

Bacillus pumilus.

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 2 à 3 microns, isolés Gram positif - Spores centrales et non déformantes.



Caractères macroscopiques

Wau peptonée glucosée : présence d'un trouble voile assez épais - collerette.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies rondes et bombées, légèrement brunâtres - surface lisse et luisante - aucune adhérence au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : croissance assez rapide formation d'un enduit épais, extensif, brunâtre après quelques jours d'incubation : noircissement
de la pomme de terre.

Souche



1,

Caractères physiologiques

- Fermentation	des sucres	(en présence de	sels d'ammo- nium.)
	Glucose	+	nrum.)
	Xylose	+	
	Arabinose	+	
	Saccharose	+	
	Lactose	Q	
	Mannitol	+	
- Amidon		0	
- Dégagement g	azeux	0	
- Tolérance en	ClNa	7 à 10%	
- Gélatine		liquéfaction]	
- Nitrites			noir)
- Lait		coagulation et pe	eptonisation
- Indole		0	
- Uréase		0	
- Acétyl-méthy	l-carbinol	+	
- Citrates		+ '-	
- Lécithinase		0	
- Mobilité		+	
- Aérobie			

Souche C

Bacillus cereus.

Caractères microscopiques

0

Bâtonnets de 3 à 5 microns, isolés ou en courtes chaînes - Gram positif - Spores centrales et non déformantes.



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : trouble peu abondant et uniforme - voile léger et granuleux au début, puis ridé - collerette.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies blanchâtres, plates, rugueuses, irrégulières, à bords arborescents.

Tranche de pomme de terre : développement très rapide formant un enduit épais, extensif, blanchâtre. Souche



Souche





- Fermentation	nde s sucr es ((en présence d	e sels d'ammo- nium) :
	Glucose	+	nrum):
	Xylose	0	
	Arabinose	0	
	Saccharose	0	
	Lactose	0	
	Mannitol	0	
- Amidon		+	
- Dégagement g	azeux	0	
- Tolérance en	ClNa	12%	
- Gélatine	liqu	léfaction en c	ylindre
- Nitrites		+	
- Lait	coae	gulation et pe	ptonisation
- Indole		0	
- Uréase		0	
- Acetyl-methy	l-carbinol	+	
- Citrates		0	
- Lécithinas e		+	
- Mobilité		+	
- Aérobie, ana	erobie facult	tatif	

Souche D

espèce non déterminée du genre Sarcina.

Caractères microscopiques

Cocci de I à 2 microns groupés en paquets réguliers Gram positif.



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : formation d'un dépôt important au fond du tube - pas de voile.

Bouillon gélosé en boite de Pétri : colonies blanches, très opaques, circulaires, à bords très nets surface granuleuse - parfois : présence de stries concentriques d'accroissement.

Tranche de pomme de terre : très peu de prolifération - formation d'un enduit fin et brillant.

Souche D



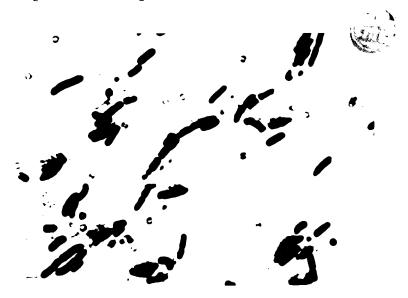
- Fermentation des sucres (en présence de sels d'ammonium): 0 Glucose Xylose 0 Arabinose Saccharose Lactose Mannitol 0 - Amidon 0 - Dégagement gazeux 0 pas de développement à 5% - Tolérance au ClNa liquéfaction lente (petit cylin-- Gélatine dre) 0 - Nitrites 0 - Lait 0 - Indole - Uréase - Acetyl-methyl-carbinol - Citrates 0 - Lecithinase - Mobilité 0 - Aeropie

Souche E

espèce non déterminée du genre Bacillus.

Caractères microscopiques.

Bâtonnets de 4 à 5 microns, isolés ou en chaînes - Gram positif - spores centrales non déformantes.



Caractères macroscopiques

Nau peptonée glucosée : trouble peu abondant - voile assez fin - collerette.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : petites colonies circulaires se développant très peu - couleur blanchâtre - contour un peu festonné - adhérence faible au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : formation d'un enduit blanchâtre, brumissant par la suite - développement assez peu extensif.

Souche E



**	OR NATIONAL PROPERTY AND			,					
•••	C	Fermentation	des	sucres	(en	présence	de		d:ammo- nium)
			Gluc	cose		+			m,
			Xylo	se		+			
			Arab	oinose		+			
			Saco	charose		+			
			Lact	ose		0			
			Manı	nitol		0			
	œ	Amiden				+			
	czn	Dégagement ga	nzeux	<		0			
	÷	Tolérance au	ClNa	l		I0%			
	(-)	Gélatine			liq	uéfaction	n ei	n cyl	indre
	çu	Nitrites				+			
	¢.5	Leit			cos	gulation	et	pept	
	Cill	Indole				Q			tion.
	t tio	Uréasə				0			
	نے	Acetyl-methyl	L⊸car	binol		4			
	CO	Citrates				0			
	සා	Lecithinase				0			
	cn.	Mobilité				+			
	co	Aerobie, anae	erobi	.e fa c ul	tati	f			

Souche F

Espèce non déterminée du genre Bacillus.

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 4 à 5 microns, isolés ou en chaînes - Gram positif - spores centrales non déformantes.



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : présence d'un trouble - voile léger mais uniforme - collerette.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies très visqueuses, circulaires ou ovalaires, à contours nets - surface lisse, présentant parfois des taches opaques et blanchêtres - pas d'adhérence au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : formation d'un enduit visqueux, gluant, blanchâtre et très extensif.

Caractères physiologiques

Identiques à la souche E, sauf fermentation du mannitol et coagulation + peptonisation du lait plus lentes.

Souche of



Souche G

Bacillus polymyxa

Caractères microscopiques

Longs bâtonnets de 3 à 7 microns, isolés - Gram variable - spores centrales, non déformantes et toujours très nombreuses.



Caractères macroscopiques.

Eau peptonée glucosée : trouble uniforme - voile parfois absent - pas de collerette.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : petites colonies circulaires, plates, blanchâtres et granuleuses adhérence faible au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : désagrégation avec production active de gaz.

Souche



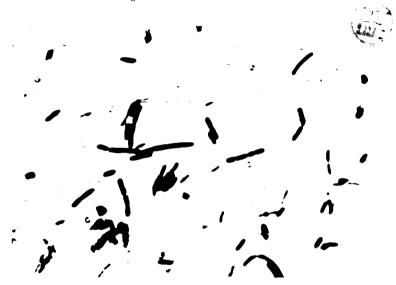
- Fermentation	des suc	res (en	présence	de	sels d'ammo-
	Glucose		+		nium)
	Xylose		+		
	Arabino	s e	+		
	Sacchar	ose	+		
	Lactose		+		
	Mannito	1	+		
- Amidon			+		
- Dégagement g	gazeux		+		
- Tolérance er	ClNa	pas d	le dévelo	ppen	ent à 5%
- Gélatine		liquéfa	ction le	nte	(doigt de
- Gélatine - Nitrites		liquéfa	ction le:	nte	(doigt de gant)
		liquéfa		nte	
∞ Nitrites		coagula	+ O Ation par	aci	gant)
□ Nitrites □ Indole		coagula	+ 0	aci	gant)
NitritesIndoleLait	l-car bin	coagula	+ O ation par auction de	aci	gant)
NitritesIndoleLaitUréase	l-carbine	coagula	+ 0 ation par action de 0	aci	gant)
 Nitrites Indole Lait Uréase Acetyl-methy 	l∽car bind	coagula	+ 0 ation par auction de 0 +	aci	gant)
Nitrites Indole Lait Uréase Acetyl-methy Citrates	l-carbind	coagula	+ 0 ation par auction de 0 + 0	aci	gant)

Souche H

Bacillus coagulans

Caractères microscopiques

Batonnets de 3 à 5 microns, isolés - Gram positif ou variable - spores terminales.



Caractères macroscopiques.

Eau peptonée glucosée : voile uni et fin - trouble - dépôt assez important.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : petites colonies rondes, opaques, bombées, présentant des stries rayonnantes - légère adhérence au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : peu de développement - légère pigmentation.

Souchear





- Fermentation	des sucres	(en présence de	sels d'ammo-
	Glucose	+	nium)
	Xylose	0	
	Arabinose	0	
	Saccharose	0	
	Lactose	0	
	Mannitol	O .	
- Amidon		+	
- Dégagement ga	azeux	0	
- Tolérance en	ClNa	7%	
∝ Gélatine		liquéfaction p	resque nulle
- Nitrites		0	
- L ait	coagula	tion et légère	peptonisa-
- Indole		0	tion.
- Uréase		0	
- Acetyl-méthy:	l-carbinol	+	
- Citrates		0	
- Lecithinase		0	
- Mobilité		+	
- Aerobie, ana	erobie fa c ul	tatif	

Souche I

Espèce non déterminée du genre Achromobacter.

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 2 à 4 microns, isolés ou en chaînes. Gram négatif - pas de spore.



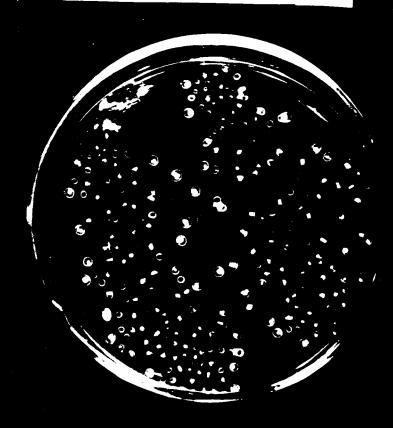
Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : léger trouble du bouillon - pas de formation de voile.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies circulaires, plates, translucides, mais présentant une tache centrale plus blanche et opaque - pas d'adhérence au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : formation d'un enduit blanc, opaque, peu extensif.

ine ®





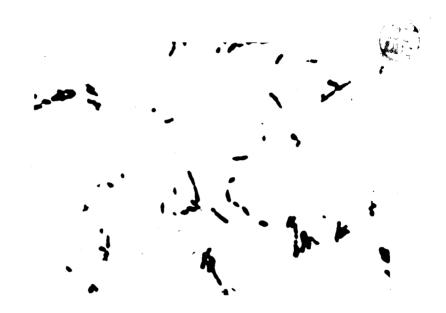
	MITTER Albert Wood, Green or processing the	
- Fermentation	des sucres (en pi	résence de peptone d'ammonium)
	Glucose	+
	Xylose	Q
	Arabinose	Q
	Saccharose	0
	Lactose	+
	Mannitol	+
- Amidon		0
- Dégagement ga	azeux	0
- Tolérance en	ClNa	7%
- Gélatine	liquéfac	tion lente (petit cy- lindre)
~ Nitrites		+ Timare)
- L ait		Q
- Indole		O
- Uréase		Q
- Acetyl-méthy	l-carbinol	uf-
- Citrates		0
- L ecithinase		0
- Mobilité		+
- Aerobie facu	ltaitf	

Souche J

Espèce non déterminée du genre Bacillus.

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 2 à 4 microns, isolés - Gram positif - spores centrales non déformantes.



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : présence d'un trouble léger - pas de formation de voile.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies très plates, fines, translucides, à bords festonnés = un peu adhérent au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : formation d'un enduit peu épais, assez extensif - coloration jaune orangé très caractéristique.

Jouche



- Fermentation	n des sucres	(en prése	nce de	sels d'ammo-
	Glucose	+		nium)
	Xylose	+		
	Arabinose	+		
	Saccharose	0		
	Lactose			
	Mannitol	O		
- Amidon		0		
- Dégagement g	gazeux	Q		
- Tolérance en	n ClNa	I0%	,)	
- Gél atine	liqu	uéfaction	lente	(cupule)
- Gélatine - Nitrites	liqu	uéfaction O	lente	(cupule)
	liqu		(après	6jours d'in-
- Nitrites	liqu	O		6jours d'in-
⇔ Nitrites ⇔ L ait	liqı	0	(après	6jours d'in-
NitritesLaitIndole		0 0	(après	6jours d'in-
NitritesLaitIndoleUréase		0 0	(après	6jours d'in-
 Nitrites Lait Indole Uréase Acetylaméthy 		0 0 0 +	(après	6jours d'in-
 Nitrites Lait Indole Uréase Acetyl-méthy Citrates 		0 0 0 + 0	(après	6jours d'in-

Souche K

Bacillus licheniformis

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 2 à 3 microns, isolés -

Gram positif - spores centrales et non déformantes.



Caractères macroscopiques

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

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies de grande taille, rugueuses, chevelues et extensives - coloration rose au début, puis de plus en plus brunâtre - forte adhérence au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : formation d'un enduit épais, plissé, dont la surface présente parfois de nombreuses petites vésicules - coloration pose.

Souche K



ca»	Fermentation	des sucres	s (en pré	sence	dе	sels d'ammo- nium)
		Glucose		+		ria di la j
		Xylose		+		
		Arabinose		+		
		Saccharose)	+		
		Lactose	•	Q.		
		Mannitol		+		
c:)	Amidon			+		
œ	Dégagement ga	ızeux		0		
en)	Tolérance en	ClNa	1	2%		
St.	Gélatine		liquéfac	tion e	en e	entonnoir
e i	Nitrites			+		
ලා	Lait	coagul	ation et	légèr	e I	peptonisa- tion
ret n	Indole			0		CTOIT
a	Ur éa se			Q		
ආ	Acetyl-methyl	carbinol		÷		
æı	Citrates			0		
ø	Lécithinase			0		
0	Mobilité		•	+		

Souche L

Bacillus subtilis.

Caractères microscopiques

Batonnets de 2 à 3 microns, isolés -

Gram positif - spores centrales non déformantes.



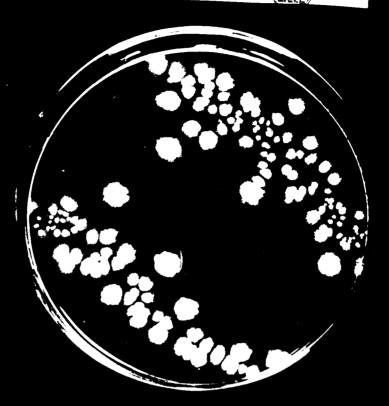
Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : pas de trouble - voile épais et cireux - collerette.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies blanchâtres, opaques, rugueuses, très plates et très extensives - peu d'adhérence au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : développement très rapide - enduit blanchâtre épais, extensif - surface granuleuse.

Souche L





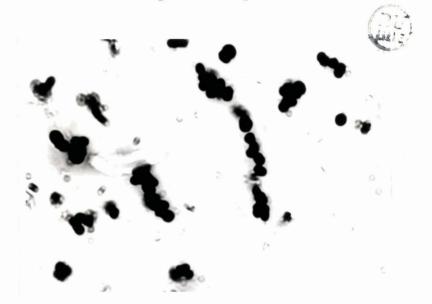
Fer mentation	des suci	es	(en	présence	de	
	Glucose			+		nium)
	Xylose			+		
	Arabinos	бе		+		
	Sacchard	se		+		
	Lactose			O		
	Manni to:	L		+		
Amidon				+		
Dégagement ga	ızeux			Q		
Tolérance en	ClNa			12%		
Gélatine		lio	quéf	action e	n e	ylindr e
Nitrites				+		
Lait		cos	agul	ation et	per	ptonisation
Indele				O		
Uréase				O		
Acetyl-méthyl	L∽ear bino	1		*		
Citrates				O		
L écithinase				0		
Mobilité						
Aerobie						
	Amidon Dégagement ga Tolérance en Gélatine Nitrites Lait Indole Uréase Acetyl-méthyl Citrates Lécithinase Mobilité	Clucose Xylose Arabinos Saccharo Lactose Mannitol Amidon Dégagement gazeux Tolérance en ClNa Gélatine Nitrites Lait Indole Uréase Acetyl-méthyl-carbino Citrates Lécithinase Mobilité	Glucose Xylose Arabinose Saccharose Lactose Mannitol Amidon Dégagement gazeux Tolérance en ClNa Gélatine lie Nitrites Lait com Indele Uréase Acetyl-méthyl-carbinol Citrates Lécithinase Mobilité	Glucose Xylose Arabinose Saccharose Lactose Mannitol Amidon Dégagement gazeux Tolérance en ClNa Gélatine liquéf Nitrites Lait coagul Indele Uréase Acetyl-méthyl-carbinol Citrates Lécithinase Mobilité	Glucose + Xylose + Arabinose + Saccharose + Lactose 0 Mannitol + Amidon + Dégagement gazeux 0 Tolérance en ClNa 12% Gélatine liquéfaction e Nitrites + Lait coagulation et Indole 0 Uréase 0 Acetyl-méthyl-carbinol + Citrates 0 Lécithinase 0 Mobilité +	Xylose + Arabinose + Saccharose + Lactose 0 Mannitol + Amidon + Dégagement gazeux 0 Tolérance en ClNa 12% Gélatine liquéfaction en constitutes + Lait coagulation et per Indole 0 Uréase 0 Acetyl-méthyl-carbinol + Citrates 0 Lécithinase 0 Mobilité +

Souche M

Bacillus sphaericus.

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 2 à 7 microns, isolés ou en courtes chaînes - Gram négatif - spores sub.terminales.



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : présence d'un trouble et dépôt granuleux - pas de voile.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies rondes, assez petites, fines et translucides - surface lisse - pas d'adhérence au milieu gélosé.

Tranche de pomme de terre : peu de prolifération - formation d'un enduit très mince et grisâtre.

Souche



- Aerobie

- Fermentation des sucres (en présence de peptone) Glucose 0 Xylose Arabinose Saccharose Lactose Mannitol O - Amidon 0 - Dégagement gazeux - Tolérance en ClNa pas de développement à 7% liquéfaction partielle - Gélatine - Nitrites 0 - Lait 0 - Indole + faiblement ⊸ Uréase - Acetyl-methyl-carbinol 0 - Citrates Q - Lécithinase - Mobilité

Souche N

Bacillus cereus var. mycoides (variété I)

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 3 à 5 microns, isolés ou en chaînes.

Gram positif - spores centrales et non déformantes.



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : trouble peu abondant et uniforme = voile léger s'étendant progressivement = petite collerette.

Bouillon gélosé en boites de Fétri : colonies blanchâtres, plates, très extensives - centre lisse et un peu translucide, périphérie granuleuse, à bords irréguliers.

Tranche de pomme de terre : développement très rapide - enduit blanchatre, mou, extensif, à surface légèrement granuleuse.

Souche



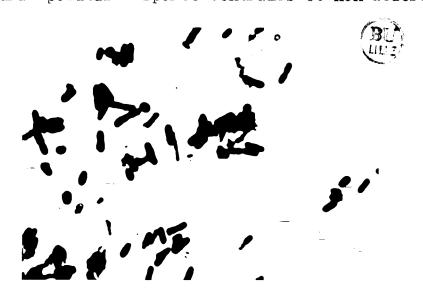
0	Fer mentation	des s	ucres	(en	présend	ce de	sels d'ammo- nium)
		Gluco	se		+		III (III)
		Xylos	е		+		
		Arabi	nose		0		
		Saccha	arose		+		
		Lacto	s e		0		
		Manni	tol		+		
(2)	Amidon				+		
ca	Dégagement ga	zeux			0		
C	Tolérance en	ClNa			12%		
0	Gélatine		liq	uéfa	ction e	n ent	connoir ou
co	Nitrites				+	CATI	lndr e
CO	Lait		coa	gula	tion et	; pept	conisation
czo	Indole				0	lent	Ge .
₩	Uréase				0		
(CC)	Acetyl-methy]	-carb	inol		+		
සා	Citrates				0		
	L écithinase				+ (f	aible	ement)
0	Mobilité				+		
C	Aerobie, anae	robie	facul	tati	f		

Souche 0

Bacillus cereus var. mycoides (variété 2)

Caractères microscopiques

Bâtonnets de 3 à 5 microns, isolés ou en chaînes - Gram positif - spores centrales et non déformantes.



Caractères macroscopiques

Eau peptonée glucosée : trouble peu abondant et uniforme - voile très léger - petite collerette ou pas.

Bouillon gélosé en boites de Pétri : colonies blanchâtres, plates, présentant comme la souche N une partie périphérique, granuleuse, est très peu développée.

Tranche de pomme de terre : même aspect que pour la souche N, mais développement moins rapide.

Caractères physiologiques

Identiques à la souche N, sauf une peptonisation plus rapide dans le cas du lait.

Souche BUD

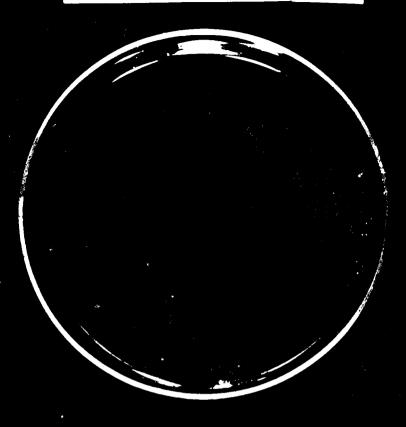




TABLEAU RECAPITULATIF

DES CARACTERES

DES SOUCHES BACTERIENNES

ISOLEES.

										,		,	,		
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	MOBILITE
•	+	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	CITRATES
+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	A. M. C.
0	0	+	0	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	INDOLE
4+>	4+5	0	d+3	c+b	0	0	4+>	. DD	4+>	d+>	0	d+>	d+>	0	TIAJ
+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	NITRITES
+	+	+	+	+	-	-	0	∓	+	+	7	+	7	7	GELATINE
12%	7.21	7.4>	15%	15%	10%	7.4	7.4	7.5>	%01	%01	7.5>	12%	XOF	7.4	CLNA
0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	•	0	0	0	Z ¥ 9
+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	NOGIMA
+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	•	JOTINNAM
0	0	0	•	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0	+	LACTOSE
+	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	0	0	+	0	SACCHAROSE
0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	0	•	+	0	BEONIBARA
+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	0	•	+	•	XALOSE
+	+	O	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	GLUCOSE
+	+	+	+	+	+	0	+	+.	+	+	0	+	+	0	SPORES
+	+		+	+	+	_	+	Ŧ	+	+	+	+	+	-	MARD
0	N	M	٦	K	<u></u>	1	Н	ອ	4	3	a	Э	8	\forall	

TROISIEME PARTIE

RELATIONS ENTRE L'EVOLUTION DES BACTERIES HEBERGEES,

ET LA GERMINATION DES TUBERCULES.

- Au cours de notre étude sur les bactéries présentes dans des tubercules d'origine différentes, nous avons constaté que le pourcentage de tubes pollués augmentait considérablement pendant la période de germination des tubercules. Nous avons en effet, pour l'ensemble des lots, et pour la période I96I-I962, obtenu les résultats suivants:

Date des prélè- vements des ex- plantats	Nombre dºex- plantats effec- tués	Nombre de tubes pollués	Pour centage
I au 15/11/1961	288	29	Ι0%
16au30/11/1961	312	36	II,5%
I au 15/12/1961	II2	38	33,9%
I6 au31/12/1961	168	115	68,4%
I au 15/1/1962	240	170	70,8%
I6 au 31/1/1962	234	145	6I,9%
I au 15/2/1962	168	41	24,4%
I5 au 28/2/I962	82	IO	I2,2%

- Au cours de l'année 1962-1963, nous avons entrepris plusieurs expériences, destinées à vérifier si cette évolution de la population bactérienne est vraiment en relation avec la germination.
- Il était indispensable, pour ces expériences, d'avoir un matériel le plus homogène possible. C'est pourquoi nous avons choisi des tubercules de variété Bintje, provenant tous d'un même lieu de culture. Nous avons aussi pris la précaution d'éliminer, pendant la période de tubérisation, tous les pieds atteints de maladies à virus. Enfin, tous les tubercules utilisés sont de même calibre et ont ainsi un âge physiologique très voisin.
- Nous avons réparti cette réserve de tubercules en 5 lots qui ont subi divers traitements destinés à retarder la germination.

Ces expériences ont commencé le 2 novembre 1962.

- . Le Ier lot a servi de témoin. Il a été placé dans une pièce à température voisine de 15°C.
- . Le 2ème lot a été placé dans un frigidaire, à la température de 4°C.
- . Le 3ème a aussi été placé dans le frigidaire jusqu'au 3 janvier 1963, puis il a été remis dans les mêmes conditions que le témoin.

- . Le 4ème a reçu un inhibiteur de germination. Il a également été conservé à 15°C.
- . Le 5ème lot enfin, conservé comme le témoin, a subi un égermage le I5 janvier 1963.
- Nous ne reviendrons pas sur la technique employée. Précisons cependant que les séries d'explantats sont effectuées toutes les quinzaines, et que chacune de ces séries comprend 60 explantats, prélevés dans IO tubercules (à raison de 6 explantats par tubercule). Ces 60 explantats donnent en effet une erreur suffisamment faible par rapport à une moyenne établie sur un grand nombre d'explantats pour que l'on puisse prendre les résultats en considération.

I) - Etude du Ier lot (témoin).

- Ce lot de tubercule a été, comme nous l'avons signalé plus haut, placé dans un local à I5°C. La germination s'est donc déroulée dans les conditions normales, et les résultats obtenus pourront nous servir de référence lorsque nous étudierons les lots suivants.
- cù l'on peut lire, en abscisse, la date des prélèvements, et en ordonnée, le pourcentage de tubes pollués.

Pour concrétiser l'état de la germination, avant chaque expérience nous égermons les IO tubercules qui seront

utilisés et nous pesons le poids frais des germes. Nous obtenons ainsi des résultats qui sont portés en ordonnée sur le graphique.

Date de prélève- ments des 60 ex- plantats		Pourcentage	Poids frais des germes en g
2 Nov.	5	8,3%	0
17 00	6	10%	0,36
4 déc.	IO	16,6%	I,14
17 00	41	68,3%	2,43
3 Janv.	25	41,6%	5,12
T.4. 00	18	30%	8,08
Ier Févr.	15	25%	8,25

- La courbe représentée sur le graphique I montre que la population bactérienne des tubercules varie considérable-ment.
- . Dans un premier stade : de novembre à décembre, le nombre de cellules hébergeant des bactéries augmente progressivement. Nous passons de IO% de tubes pollués à la mi-novembre, à 68,3% à la mi-décembre, soit environ 7 fois plus.

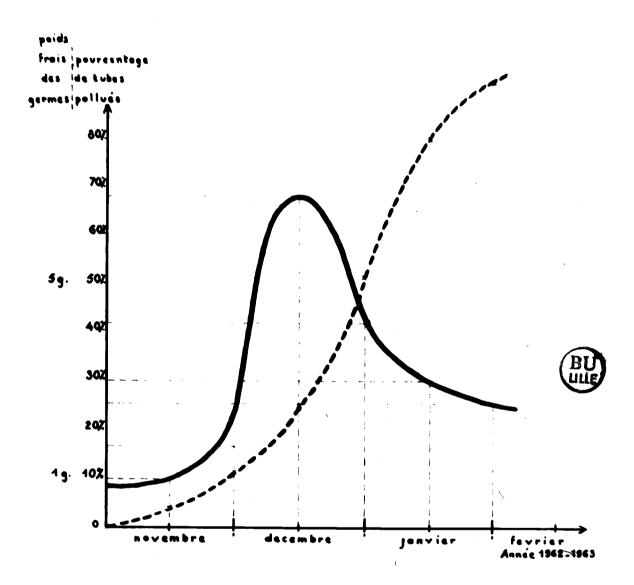
Si nous nous reportons à la courbe de germination, nous voyons qu'elle est parallèle à la courbe précédente; nous constatons cependant un certain retard de l'évolution des bactéries par rapport à l'état de germination.

En effet, nous avons décelé une germination commençante vers la mi-novembre (0,36g de germes pour IO tubercules, ces germes avaient une longueur moyenne de I à 2mm) alors que l'augmentation des tubes pollués n'est décelable qu'au début de décembre (où nous passons de IO% à I6,6% de tubes pollués).

L'accroissement du nombre de cellules polluées n'est donc pas en rapport avec l'apparition des germes sur les tuber-cules, mais avec le début du développement de ceux-ci.

Dans un second stade, de décembre à janvier, alors que la germination est encore très active, le phénomène inverse se produit. Cette partie descendante de la courbe n'est cependant pas aussi abrupte que l'accroissement constaté dans la première phase de l'évolution des bactéries.

Comment expliquer ces variations de la population bactérienne dans les tubercules ? Avant de répondre, il nous semble préférable d'étudier le comportement des lots suivants.



--- pourcentage de tubes pollués

GRAPHIQUE 1 (lot témoin)

2) - Etude du 2ème lot (conservé à 4° C)

Ce lot de tubercules a été placé le 2 novembre 1962 dans un frigidaire dont la température a été stabilisée à 4°C. A cette époque, des explantats prélevés dans des tubercules semblables ont donné 8,3% de tubes pollués (Ier résultat du lot témoin). Nous avons effectué la première série d'explantats le 3 janvier 1963.

Pendant toute la durée de l'expérience, aucun indice de germination n'a été décelé.

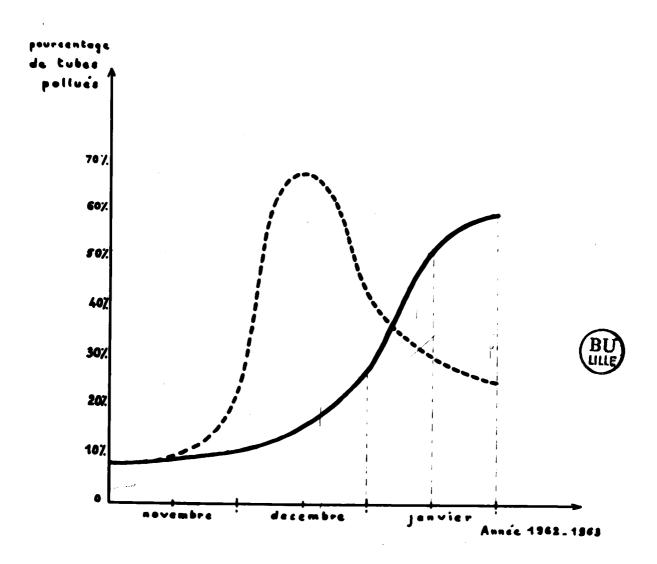
Résultats :

	Date de prélève- ment des 60 explan- tats.	nombre de tubes pollués	. pour centage
The second secon	2 nov.	5	8,3%
	3 jany.	16	27%
	19 00	3I	52%
	2 févr.	36	60%

Ces résultats sont portés sur le graphique 2, où figure aussi, en pointillés, la courbe obtenue avec le lot témoin, qui nous sert de référence.

La courbe correspondant à l'évolution des bactéries dans les tubercules de ce 2ème lot peut nous surprendre. En effet, nous nous attendions plutôt à un pourcentage plus ou moins constant de tubes pollués, la température étant défavorable à un développement bactérien. Or, nous obtenons une augmentation progressive de la population bactérienne,

qui atteint presque le même pourcentage que dans le lot témoin. Soulignons cependant que ce résultat est obtenu 45 jours plus tard. La température a donc freiné le phénomène qui nous intéresse, mais sans l'amortir.



- let conservé à 4°C

GRAPHIQUE 2 (lot conservé à 4°c)

3) - Etude du 3ème lot (germination retardée).

Avec cette expérience, nous voulions voir l'effet d'une germination retardée par le froid sur l'évolution des bactéries. Ce lot est constitué de tubercules qui ont séjourné au frigidaire à 4°C jusqu'au 5 janvier 1963, date à laquelle nous les avons placés dans une pièce dont la température est voisine de 15°C. A partir de ce moment, nous avons noté le poids frais des germes avant chaque série d'explantats, comme pour le Ier lot.

Résultats :

Date de prélè- vements des 60 explantats	Nombre de tu- bes pollués	Pourcentage	Poids frais des germes en g.
2 Nov.	5	8,3%	0
3 Janv.	16	27%	0
19	55	92%	0,27
2 Févr .	IO	16,6%	2,65

Ces résultats sont reportés sur le graphique 3, où la courbe en pointillés représente le poids frais des germes. La courbe traduisant le pourcentage de tubes pollués a le même aspect que celle obtenue pour le lot témoin, tout au moins en ne considérant que le séjour à 15°C.

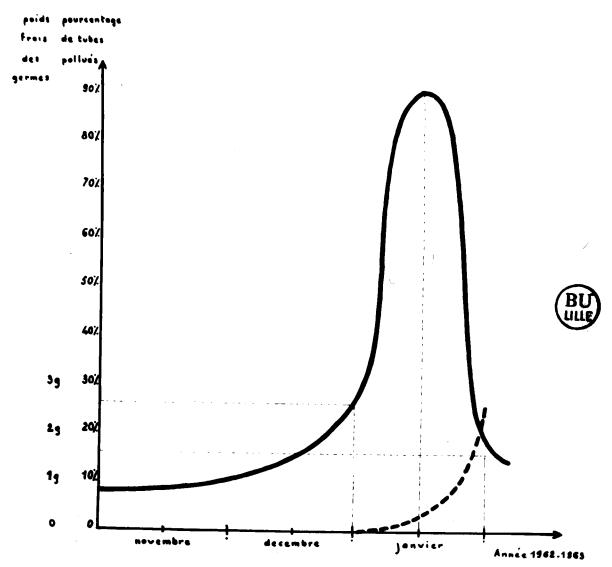
Nous retrouvons en effet une première phase où la population bactérienne augmente considérablement, puis

une seconde phase, où elle décroît brusquement.

La portion ascendante de la courbe est ici directement en relation avec le début de la germination. Il semblerait donc que l'accélération des phénomènes physiologiques qui provoquent l'apparition des germes, a eu pour effet d'augmenter la population bactérienne des tubercules.

Cependant, il ne faut pas oublier que, les conditions de température ayant changé, les bactéries ont pu, elles aussi, être influencées par une température favorable à leur multiplication.

Ce facteur a pu s'ajouter aux phénomènes précédemment cités, si bien que la courbe obtenue entre le 3 et le 19 janvier doit être considérée plutôt comme une résultante de deux actions.



- let à germination retardée

GRAPHIQUE 3
(lot à germination retardée)

4) - Etude du 4ème lot (germination inhibée).

Ce lot de tubercules a subi l'action d'un inhibiteur de germination d'utilisation courante, à base de 2,4 Isopropyl-Phényl-Carbamate (IPPC). Il a été saupoudré le 2 novembre 1962, et la première série d'explantats a été effectuée le 4 décembre.

Ce lot, comme le témoin, a été placé à 15°C.

Pendant toute la durée de l'expérience, nous n'avons jamais constaté de croissance des germes, bien que la germination n'ait pas été inhibée complètement car vers la
mi-décembre, nous avons décelé une germination commençante
(germes de 0,5mm en moyenne) qui n'a jamais évolué d'avan-

Résultats :

tage).

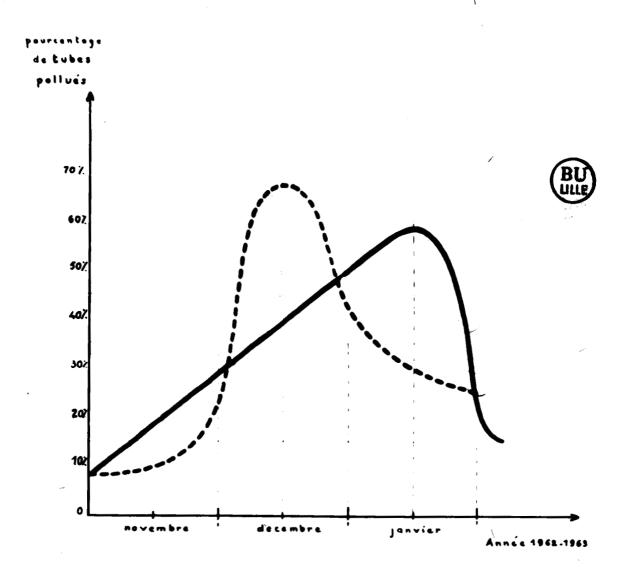
Date de prélève- ment des ex- plantats.	nombre de tubes pollués.	pourcentage
2 nov.	5	8,3%
4 déc.	20	33%
IS déc.	27	45%
4 jany.	21	35%
T4. 00	36	60%
Ier févr.	9	15%

Ces résultats assez irréguliers sont reportés sur le gra-

phique 4, où nous avons représenté en pointillés le lot témoin. La courbe relative à ce 4ème lot fait un peu abstraction du résultat obtenu le 4 janvier, qui est assez énigmatique et qui est probablement dû à l'intervention d'un facteur étranger à notre étude et qui nous a échappé.

Cette courbe montre une augmentation très progressive de la population bactérienne jusqu'à la mi-janvier, où nous obtenons le maximum de tubes pollués (60%). Ensuite, dans la 2ème quinzaine de janvier, nous constatons une brusque chute de la courbe, alors qu'il n'y a jamais eu développement de germes.

Par rapport au lot témoin, nous avons donc un maximum de la courbe moins important (60% au lieu de 68,3%) ainsi qu'un décalage de ce maximum dans le temps.



lot avec inhibiteur de germination

mama let témoin

GRAPHIQUE 4 (inhibition de la germination)

5° - Etude du 5ème lot (égermage)

Ce lot est constitué de tubercules provenant du lot témoin, qui ont subi un égermage le I4 janvier.

Nous serons très brefs sur cette étude car nous n'avons effectué qu'une seule série d'explantats I5 jours après l'égermage, et les résultats obtenus n'indiquent aucune modification du comportement des bactéries.

En effet, le 14 janvier, nous avions pour le lot témoin 30% de tubes pollués.

Le Ier féwrier, nous avons obtenu :

	lot témoin	lot égermé
Nombre de tubes pollué	s 15	17
Pourcentage	25%	28,3%
Poids frais des germes	0	I,17g.

Nous pouvons donc conclure qu'un égermage suivi d'une reprise de la germination ne se répercute absolument pas sur la population bactérienne des tubercules.

Conclusions de cette 3ème partie :

L'étude de ces différents lots de tubercules va nous permettre de résoudre deux problèmes qui étaient restés en suspens et qui sont :

I - L'évolution de la population bactérienne est-elle en rapport avec la germination du tubercule ?

- 2 Comment expliquer une diminution naturelle de cette même population ?
- □ En ce qui concerne l'augmentation de la population bactérienne :
- . Nous savons qu'elle n'est pas forcément en rapport avec la germination. Les courbes des graphiques 2 et 4 en témoignent; mais dans ces deux cas, elle se produit avec un certain retard, et elle est toujours moins importante.
- . Cependant, nous savons aussi que cette germination favorise la multiplication bactérienne (courbe du graphique 3).
- . Enfin, dans les conditions normales (graphique I), nous pouvons préciser qu'elle est en rapport avec un "phénomène physiologique" se produisant un certain temps après l'apparition des premiers germes (IO à I5 jours).

 D'après les travaux effectués sur la germination des tubercules de pomme de terre, tant au point de vue physiologique que biochimique, nous devons mettre en parallèle ce "phénomène physiologique", soit avec l'hydrolyse de l'amidon des cellules (2), soit avec la teneur des tubercules en auxine libre.

- Nous pouvons interpréter la diminution de la population bactérienne des tubercules en considérant qu'elle subit un cycle de transformations à l'intérieur des cellules, passant alternativement par des périodes d'activation et d'inhibition. Nous ne pouvons admettre l'hypothèse suivant laquelle les bactéries passant dans les germes, ne se retrouvent plus dans les tubercules puisque même en germination inhibée, le nombre de tubes pollués diminue dans les mêmes proportions qu'en germination naturelle.

CONCLUSION.

Résumons brièvement les résultats acquis au cours de nos recherches :

- I Les bactéries isolées de tubercules sains de pommes de terre sont en majorité des bacilles faisant partie du genre Bacillus. Parmi ceux-ci, B. cereus, B. licheniformis et B. subtilis sont les espèces les plus fréquemment rencontrées.
- 2 Dans un lot donné de tubercules, le nombre d'espèces bactériennes est assez restreint par rapport à la di-
- 3 Les microrganismes de tubercules d'origine différente ne montrent pas de spécificité propre aux régions.
- 4 Confirmant cette observation : différentes variétés cultivées dans un même sol ne donnent pas de résultats uniformes.
- 5 Les germes des tubercules hébergent aussi des bactéries provenant de ces tubercules.
- 6 Dans les conditions normales de conservation des tubercules, leur population bactérienne évolue et cette évolution est en rapport avec la germination.

- 7 Lorsque la germination des tubercules est inhibée artificiellement, l'évolution de la population bactérienne a encore lieu, mais elle se produit avec un certain retard.
- 8 Un égermage des tubercules ne modifie nullement leur évolution bactérienne ultérieure.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- I BERGEY, J.: Manual of déterminative bactériology
 7ème édition Williams et Wilkins Compa
 ny 1957 Baltimore.
- 2 COLIN, H. & FRANQUET, R.: La génèse de l'amidon dans la pomme de terre.

 Bull.Soc.Bot.Fr. I927 74 45I 458
- J. : Activité répartition et évolution des bactiries présentes dans les tubercules sains de pomme de terre.
 D.E.S. Lille Fév. 1962.
- 4 LAMBIN, S.& GERMAN: Précis de microbiologie TI Masson Paris.
- 5 LAPERE, G.: Isolement, caractères et détermination des bactéries vivant dans les organes végétaux. D.E.S. Lille Janvier 1963.

6 - MONTUELLE, B. :

- a): Présence de bactéries dans les tubercules de pomme de terre. Bull.Soc.Bot. du Nord de la France. 1959. 12 140-4.
- b): Localisation cytologique des bactéries présentes dans le tubercule de pomme de terre.

 C.R. Ac. Sc. 1961 252 452 4.

- 7 PREVOT, A.R.: Traité de systématique bactérienne 1961 Dunod Paris.
- 8 YOUF, J.: Localisation et évolution des bactéries

 présentes dans les tissus de la pomme de

 terre à différents stades de son dévelop
 pement.

D.E.S. Lille Mai 1962.

0000000000000000