



HAL
open science

Une méthode nouvelle pour la mesure quantitative de l'activité pectinolytique aérobie des terres

Paul Kàiser, M-A Chalvignac

► **To cite this version:**

Paul Kàiser, M-A Chalvignac. Une méthode nouvelle pour la mesure quantitative de l'activité pectinolytique aérobie des terres. Annales de l'Institut Pasteur, 1960. hal-01695670

HAL Id: hal-01695670

<https://hal.science/hal-01695670>

Submitted on 29 Jan 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

*A ma femme
bien-aimée qui
m'aide avec tant
d'amour*
Paul

Imprimé avec le périodique « *Annales de l'Institut Pasteur* »
N° d'ordre 3463. — (Extrait Septembre 1960. — Tome 99, pp. 462-465.)

**UNE MÉTHODE NOUVELLE
POUR LA MESURE QUANTITATIVE
DE L'ACTIVITÉ PECTINOLYTIQUE AÉROBIE
DES TERRES**

par P. KAISER et M.-A. CHALVIGNAC.

(*Institut Pasteur,
Service des Anaérobies et Service de Microbiologie du Sol*)

La mesure de l'activité pectinolytique d'une terre par le procédé de Wieringa [1, 2] demeurait jusqu'ici le seul procédé valable pour ce genre d'étude. Cette technique sur plaques offre toujours des avantages incontestables ; elle permet de reconnaître rapidement la qualité des groupes d'espèces pectinolytiques en cause (bactéries chromogènes ou non, actinomycètes, champignons) et rend facile l'isolement de ces espèces. Les inconvénients de la technique sur plaques se placent donc sur le plan quantitatif : il est souvent impossible de compter les godets de la pectinolyse dans les faibles dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), car les microorganismes non pectinolytiques y croissent en trop grand nombre. Enfin, cette technique ne s'aligne pas avec les techniques actuelles de numération (en tubes) de la microbiologie du sol ; elle ne permet ni la comparaison avec les autres fonctions du sol, ni l'établissement de courbes d'activité pour une terre donnée.

Nous basant sur le principe de Wieringa, nous avons mis au point un milieu en tubes pour parer aux désavantages cités plus haut :

MILIEU W_3t .

A. — *Couche de gélose :*

Gélose	15 g
Chlorure de calcium	5 g
Eau distillée	1 000 cm ³

après filtration, ajuster à pH 7,3 avec de la soude diluée, répartir à raison de 3 cm³ par tube de 22, stériliser vingt minutes à 120° C.

B. — *Couche de pectine :*

Pectine de pomme (1)	8 g
Nitrate d'ammonium	2 g
Solution standard de Winogradsky [3]	50 cm ³
Extrait de terre	50 cm ³
Eau distillée	900 cm ³
Lessive de soude au 1/10	5 cm ³

La préparation de la solution de pectine demande quelques précautions, car cette pectine fortement déméthylée ne se mélange pas facilement avec l'eau. Si l'on possède un « mixer », la pectine est mise directement dans la solution aqueuse chauffée à 80° C et on mélange jusqu'à obtention d'une solution homogène. Dans le cas contraire, on mettra la poudre de pectine dans un bocal de 2 l rigoureusement sec ; la pectine est alors « mouillée » avec 15 cm³ d'éthanol à 96° et la solu-

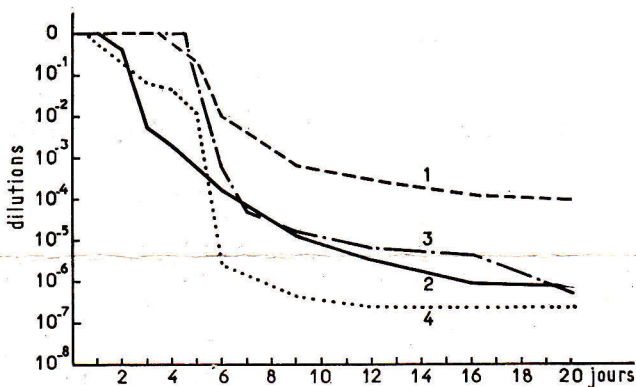


FIG. 1.

tion aqueuse chauffée à 80° C est versée d'un seul trait sur le mélange pectine-alcool.

Le pH de la solution est ensuite porté à 8 avec 5 cm³ de lessive de soude au 1/10 par litre de milieu. On répartit à raison de 15 cm³ par tube de 22. Pour la stérilisation, on porte l'autoclave à 120° C et l'on arrête le chauffage au moment où cette température est atteinte. De cette façon, la dégradation de la molécule de pectine est réduite au minimum. Le pH se trouve alors à 7,2. Au moment de l'emploi, chaque tube de gélose (solidifiée) reçoit 2 cm³ de la solution de pectine au moyen d'une pipette stérile de 10 cm³. Les tubes ainsi préparés sont rapidement ensemencés avec 1 cm³ de la dilution de terre (concentration finale de pectine : 5,33 p. 1 000). Les solutions de pectine sont complètement gélifiées par le calcium après six heures environ de contact avec la gélose. L'attaque de la pectine par un microorganisme

(1) Société Unipeptine, pectine ruban rouge.

se traduit par une liquéfaction visible du gel de pectine. Les lectures se font tous les jours jusqu'au dixième jour, puis on peut les espacer de trois ou quatre jours jusqu'au vingtième jour.

Nous rapportons ici l'étude de quatre terres de nos régions. Comme contrôle elles sont ensemencées en même temps sur plaques (milieu de Wieringa modifié). La terre n° 1 est un terreau artificiel de pépins de raisin, humide, de couleur brun-noirâtre, de pH 4 (fig. 1).

Le n° 2 est une terre de jardin brun-gris, sableuse, de pH 7,5, prélevée dans l'enceinte de l'Institut Pasteur. Le n° 3, de pH 6,3, représente les terres de grandes cultures, brun-ocre, lourdes et compactes des plateaux des environs de Paris (Villacoublay).

Enfin, le n° 4 est un terreau de feuilles du parc de Saint-Cloud ; pH 7,2.

Le terreau de pépins de raisin (n° 1) est pauvre en microorganismes et pauvre aussi en microorganismes pectinolytiques qui sont ici des champignons. Il n'y a pectinolyse que le quatrième jour et elle ne dépasse pas la dilution 10^{-4} . La terre n° 2 de jardin possède une microflore pectinolytique mixte, bactérienne et fongique. Les bactéries sont responsables de l'attaque rapide (dès le deuxième jour) et de la régularité de descente de la courbe. Cette attaque se poursuit jusqu'à la dilution 10^{-6} . Les champignons pectinolytiques sont dominants et en assez grand nombre dans la terre n° 3 de grande culture. La liquéfaction des gels de pectine ne commence qu'entre le quatrième et le cinquième jour et la descente est brusque et rapide. Nous avons observé également ce phénomène sur plaques : les colonies fongiques ne montent, dans la plupart des cas, aucun godet durant les quatre premiers jours de leur existence ; puis, lorsque la colonie fongique devient suffisamment grosse, les godets de digestion apparaissent nettement. A partir du seizième jour, la courbe n° 3 amorce une nouvelle descente due à la prolifération tardive d'actinomycètes. Ces germes sont donc nombreux dans cette terre, mais leur croissance est lente. Le dessèchement des milieux n'a pas permis de poursuivre ce phénomène au delà du vingtième jour. Le terreau n° 4 est remarquablement actif du point de vue pectinolyse. Grâce aux bactéries, la pectinolyse s'amorce dès le deuxième jour ; les champignons en très grand nombre deviennent actifs le cinquième jour et provoquent une chute brusque de la courbe qui s'abaisse ensuite lentement pour aboutir à la dilution 10^{-7} .

Les résultats notés au vingtième jour permettent d'exprimer encore, par l'intermédiaire des tables de Mac Cready, le nombre approximatif de germes pectinolytiques par gramme de terre.

Nous aurons pour la terre n° 1 : 17 500 ; pour la terre n° 2 : 3 000 000 ; pour la terre n° 3 : 9 500 000 ; pour la terre n° 4 : 13 000 000 de germes par gramme de terre.

Ces chiffres n'ont aucune signification réelle, puisqu'il s'agit souvent de champignons, mais ils permettent de comparer sommairement les terres entre elles.

Les résultats sur plaques viennent pleinement confirmer qualitativement et quantitativement les résultats obtenus sur le milieu W_3t .

RÉSUMÉ. — Basé sur le principe de Wieringa, un milieu nouveau en tubes est élaboré pour l'étude de l'activité pectinolytique en aérobiose

d'une terre. Il s'aligne parfaitement avec les techniques actuelles de la microbiologie du sol, et permet, comme le montre l'étude de 4 terres, d'obtenir des courbes de pectinolyse régulière et de comparer ainsi les différentes terres entre elles.

SUMMARY

A NEW METHOD FOR A QUANTITATIVE DETERMINATION OF AEROBIC PECTINOLYTIC ACTIVITY IN SOIL.

Description of this new method, based on Wieringa's principle. It perfectly fits into the present techniques of soil microbiology and allows to obtain regular pectinolysis curves, and therefore to compare different soils (four different soils have been studied).

★
★★

Nous remercions M. le Professeur J. Pochon et M. le Professeur A.-R. Prévot, qui ont bien voulu s'intéresser à ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] WIERINGA (K. T.). *VI^e Congrès International de Microbiologie de Rome*, 1953, 6, 281.
- [2] KAISER (P.) et PRÉVOT (A. R.). *C. R. Acad. Sci.*, 1958, 247, 1065.
- [3] POCHON (J.). *Manuel technique d'analyse microbiologique du sol*, Masson et C^{ie}, Paris, 1954, 14.