

Sur une application de la méthode réfractométrique à la mesure de la concentration des milieux de culture

Autor(en): **Schopfer, W.H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **42 (1933)**

Heft 1

PDF erstellt am: **27.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-28394>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Sur une application de la méthode réfractométrique à la mesure de la concentration des milieux de culture.

Par *W. H. Schopfer*, Privat-Doctent à l'Université de Genève.

Manuscrit reçu le 26 janvier 1933.

L'établissement de la courbe de croissance d'un microorganisme nécessite l'emploi de la méthode suivante : une série de flacons sont ensemencés avec une quantité égale de spores du microorganisme considéré, un champignon par exemple; à intervalles réguliers une culture est sacrifiée, extraite du flacon, desséchée à 100° et pesée. Les poids successivement obtenus sont portés sur un graphique et leur réunion fournit la courbe de croissance cherchée. Un certain nombre de précautions sont à observer au cours de ces expériences si l'on tient à l'exactitude de la courbe; les flacons doivent être de même grandeur et de forme rigoureusement semblable; il en est de même pour la quantité et la composition du milieu, pour sa hauteur et sa surface dans le flacon. L'identité doit également être réalisée en ce qui concerne les conditions extérieures : température, lumière, humidité de même que pour la quantité et l'âge des spores ensemencées. Si cette identité n'est pas rigoureusement observée — et il est bien difficile qu'elle le soit complètement — les résultats sont sujets à caution et la courbe obtenue ne correspond pas exactement à la réalité. De toute façon cette méthode ne doit être utilisée qu'avec beaucoup de prudence et faute de mieux.

En étudiant la croissance de *Mucor hiemalis* en milieu synthétique, nous nous sommes demandé s'il n'y aurait pas intérêt à mesurer non seulement la croissance en poids, c'est-à-dire la production de matières, mais encore l'absorption des matières nutritives du milieu ou, si l'on veut, l'appauvrissement de ce dernier.

Dans un travail de 1928,¹ nous avons tenté l'essai en utilisant comme méthode de mesure la réfractométrie. La courbe obtenue ainsi est régulière et donne une idée assez exacte de la nutrition du cham-

¹ W. H. Schopfer. Recherches sur la sexualité des champignons. Bull. de la Soc. botanique de Genève, 1928, T. 20, p. 149—323. — Id. Sur l'interprétation des courbes d'absorption. Actes de la Soc. helvétique des Sciences nat., Davos 1929, p. 148—149.

pignon. Elle présente cet avantage capital d'être établie à l'aide d'une seule culture qui, il est vrai, doit être faite dans un flacon de grande taille.

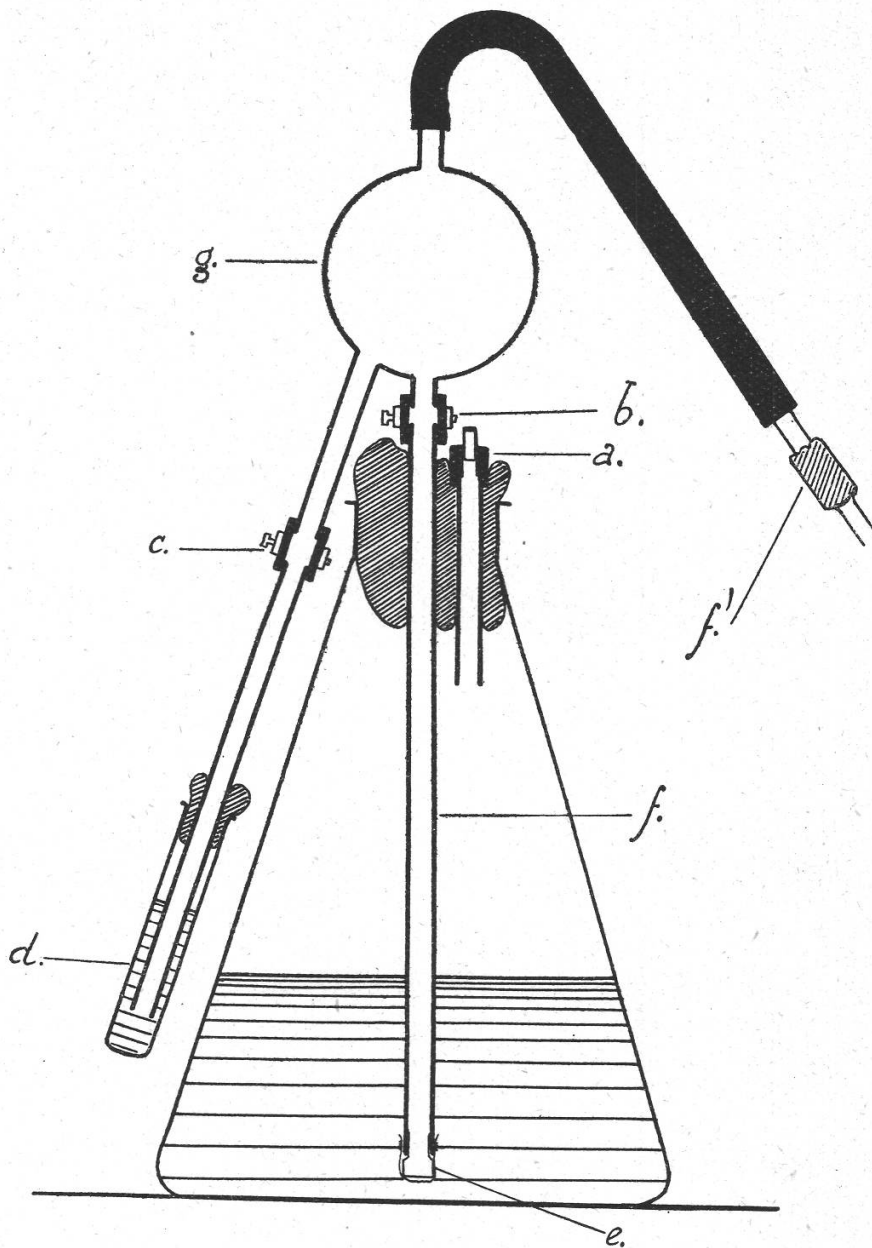


Fig. 1.

Extracteur stérile.

Après plusieurs essais comparatifs nous avons choisi la réfractométrie, de préférence à la cryoscopie et à la polarimétrie, par le fait de la précision et de la facilité des mesures.

L'appareil utilisé (l'extracteur stérile) a déjà été décrit en détail (1928) (voir figure 1). Nous rappelons ses caractéristiques : le tube *f* plonge dans le milieu sous le mycelium. Le tube *d* plonge au repos

dans une éprouvette contenant de l'alcool; l'ensemencement se fait par le tube latéral *a*. Le robinet *b* étant ouvert et *c* fermé, une certaine quantité de liquide est aspirée dans le boule *g*. Le robinet *c* étant ouvert et *b* fermé, le liquide retiré s'écoule par le tube *d* et est recueilli pour être analysé. Le tube *d* est assez long pour qu'aucune infection ne soit à craindre pendant l'écoulement.¹

Un essai préliminaire est effectué avec *Mucor hiemalis* (sexe —), sur un litre de milieu de Coons avec 10 % de maltose. Les analyses de glucide par la méthode de Bertrand donnent les résultats suivants :

jours	2	6	11	13	16	18	21	23	25	27	28
% de maltose absorbé	8.9	22.4	30.3	35.1	48.9	55.1	70.5	83.5	90	92.8	95

La source azotée étant de l'asparagine, un p^H compatible avec le développement normal du champignon se maintient et permet l'utilisation presque totale du sucre.

Dans un deuxième essai préliminaire, nous effectuons des mesures de concentration totale à l'aide du réfractomètre à immersion de Zeiss. Milieu de Coons avec 18 ‰ de maltose et 2 ‰ d'asparagine en plus des sels habituels.

Les indices sont donnés en degrés de l'échelle (à 17.5° C); 20° correspondent à un n^D de 1.33513.

jours	0	3	6	12	20	27	29	31	34	36	38	41	45	50
degrés réfractométriques	20	20	19.81	19.90	19.40	18.50	18.10	18	17.45	17.15	16.55	16.55	16.45	16.65

Au 38^{me} jour, la réaction de Fehling-Cammidgs est encore positive; au 45^{me} jour elle est négative; l'absorption du sucre est complète. Le léger relèvement final de la courbe est peut-être dû à une production de substance par le champignon.

La très forte prépondérance du sucre dans la concentration totale indique naturellement que c'est aux variations de ce constituant que doivent être dues les variations observées avec la réfractométrie.

L'expérience suivante est effectuée sur un milieu de Coons dans lequel l'asparagine a été remplacée par du sulfate d'ammonium.

Maltose 11 ‰; sulfate d'ammonium 10 ‰; phosphate acide de potassium 1.36 ‰; sulfate de magnésium 0.5 ‰. Espèce utilisée : *Mucor hiemalis*.

¹ Le cliché de la figure 1, publiée en 1928, nous a été aimablement prêté par M. le Prof. R. Chodat, que nous remercions.

(sexe —) jours	0	17	20	27	39	43	48	
degrés réfractométriques . . . total	24.25	22.90	22.45	22.13	21.85	21.75	21.65	1
maltose restant	110	72	58	44	32	27	26	2
maltose absorbé	0	38	52	66	78	83	84	3
degré maltose restant	18.56	17.32	16.87	16.42	16.20	15.86	15.83	4
différence (1—4)	5.69	5.58	5.58	5.70	5.65	5.89	5.82	5
p ^H	6	4.5	—	3.1	—	—	2	6

(sexe +) jours	0	17	20	27	32	51	57	
	24.30	23	22.70	22.35	22.25	22	22.10	1
	110	74	56	42	—	—	44	2
	0	36	54	68	—	—	66	3
	18.56	17.38	16.60	16.30	—	—	16.36	4
	5.74	5.62	6.10	6.05	—	—	5.74	5
	6	4.5	—	4.2—4.3	3.4	—	2—2.1	6

Ligne 1: degré réfractométrique correspondant à la concentration totale.

Ligne 2: Maltose restant, en milligrammes pour 10 cc. de milieu (Méthode de Bertrand).

Ligne 3: Sucre absorbé exprimé en maltose.

Ligne 4: Indice de réfraction correspondant au sucre restant (exprimé en maltose). Il est calculé à l'aide d'une table établie par des mesures préalablement effectuées sur des solutions de maltose de titre connu.

Ligne 5: Différence des deux degrés réfractométriques.

Ligne 6: p^H déterminé colorimétriquement.

Dans ces deux expériences, l'absorption du maltose est beaucoup moins complète que précédemment; ceci est dû au fait que la forte acidité créée dans le milieu par l'hydrolyse du sulfate d'ammonium est incompatible avec le développement normal de cette Mucorinée; la respiration s'arrête avant que tout le sucre soit absorbé; rappelons que l'eau distillée donne à 17.5° C. un degré de réfraction de 15.

Pour le sexe (—) l'absorption de sucre est de 76.36 %, pour le sexe (+) de 60 % (par rapport à la quantité totale présente dans le milieu).

La figure 2 montre la superposition des deux courbes réfractométriques celle correspondant à la concentration totale, et celle qui exprime la concentration du sucre seul. Le parallélisme est satisfaisant.

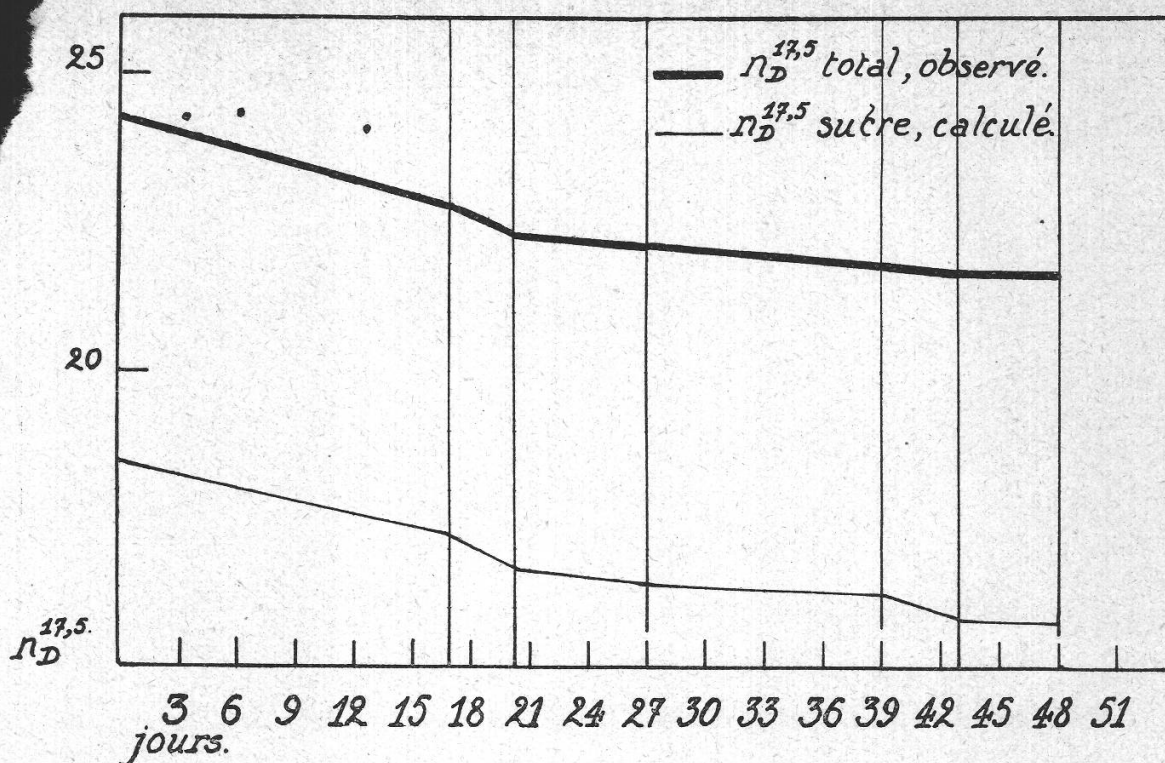


Fig. 2.

Courbe réfractométrique. Source azotée : sulfate d'ammonium.
(*Mucor hiemalis*, [—].)

Nous devons cependant dire que pour d'autres essais, dans les 15 premiers jours d'expérience, le parallélisme n'est pas toujours aussi net. Dans cette analyse, la différence entre les deux mesures est relativement constante. Ce fait peut être expliqué par la faible absorption de matières minérales ou par une production de matières par le champignon (produits d'autolyse?). Tout autre est le comportement d'une expérience dans laquelle la source azotée est de l'asparagine.

Mucor hiemalis sexe (—), sur milieu de Coons avec 7.8 % de maltose et 1.5 ‰ d'asparagine.

jours	0	2	9	11	13	16	18	20	21	23	25	27	28
maltose restant ¹	78	71	65	60	55	44	40	26	25	15	9	6.5	4.5
degré réfract. corresp. ²	17.51	17.29	17.10	16.94	16.78	16.41	16.29	15.83	15.80	15.48	15.28	15.20	15.14

¹ mg. sucre exprimé en maltose, rapporté à 10 cc. de milieu.
² degré réfractométrique calculé, correspondant au maltose restant.

La figure 3 montre la superposition de cette dernière courbe avec celle du premier essai qui se rapporte à la concentration totale. Les deux courbes ne sont cependant pas exactement comparables par le fait qu'elles n'ont pas été obtenues sur le même milieu de culture.

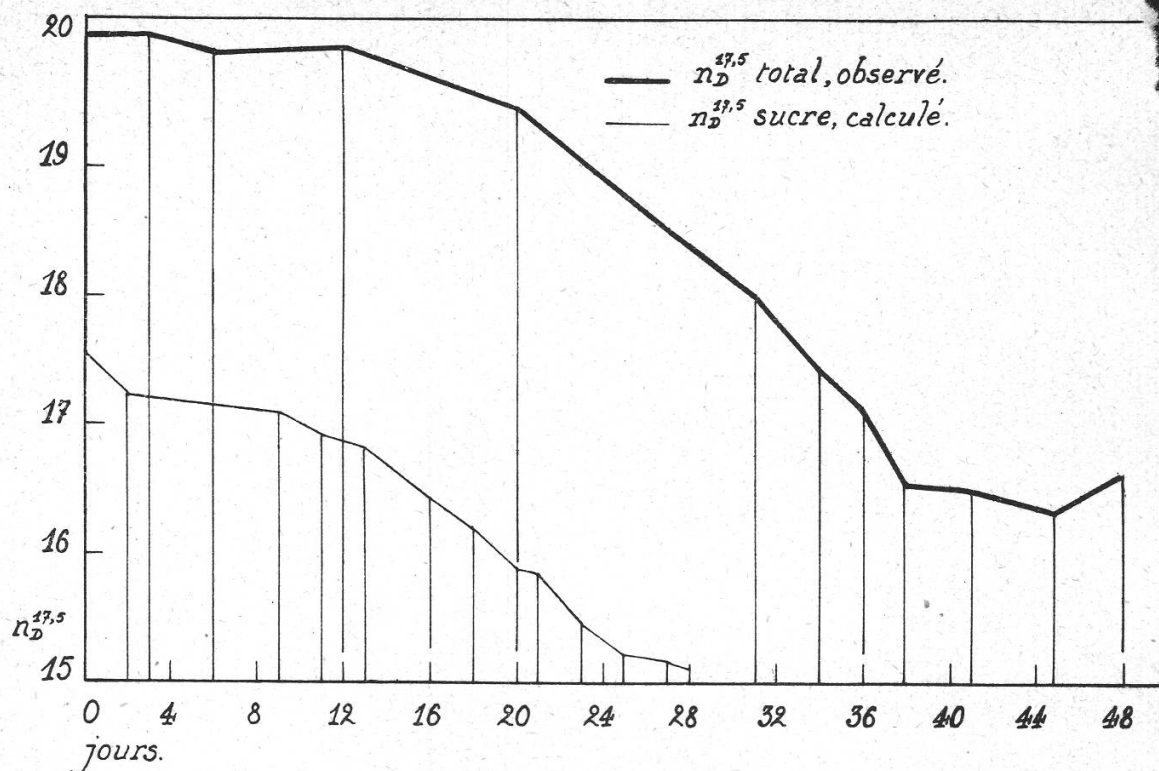


Fig. 3.

Courbe réfractométrique. Source azotée : asparagine.
(*Mucor hiemalis*, [—].)

La figure 4 résume les deux expériences : *Mucor hiemalis* sexe (—) avec asparagine et sulfate d'ammonium. En ordonnée, p^H et sucre, ce dernier étant exprimé en cc. de permanganate de potassium nécessaire à l'oxydation du sulfate ferreux; ce chiffre se rapporte à 10 cc. de milieu de culture.

En conclusion la méthode réfractométrique donne des indications précises et rapides sur l'évolution de la concentration totale d'un milieu de culture; elle peut être utilisée avec fruit lorsqu'il s'agit de comparer plusieurs milieux participant à une expérience en série; elle évite des mesures préliminaires d'extraits secs ou d'autres analyses chimiques plus longues. Les modalités de son application doivent naturellement être étudiées pour chaque nouveau milieu; elle semble s'adapter particulièrement bien au cas du milieu très riche en sucre.

Ajoutons que grâce à la superposition de deux prismes à l'extrémité du réfractomètre, entre lesquels on emprisonne une goutte du liquide à analyser, elle peut servir de microméthode. La méthode peut donc aussi s'appliquer aux milieux de culture de plus petites dimensions, sur lesquels il est impossible de prélever des quantités trop fortes de liquide.

Les indications fournies par la méthode sont naturellement globales et ne suppriment pas une analyse plus détaillée des phénomènes *si le*

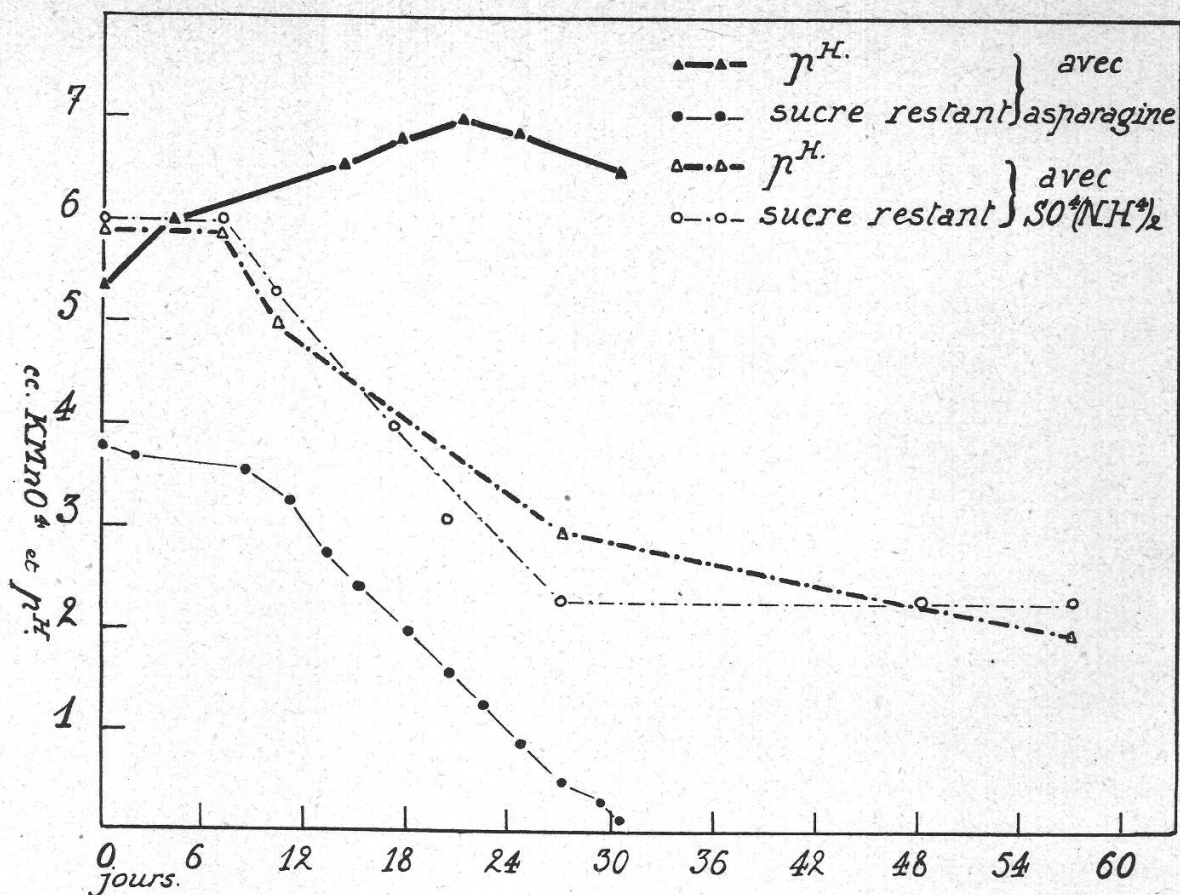


Fig. 4.
Variations du maltose et du pH. (*Mucor hiemalis*, [—].)

besoin s'en fait sentir. Mais si l'on se souvient que le poids d'un organisme est la résultante de toutes les réactions de son métabolisme, on conviendra qu'une courbe d'absorption n'est guère plus globale qu'une courbe de croissance.

Une réserve doit cependant être faite : parmi les substances utilisées pour la préparation de ce milieu, le maltose disparaît complètement lorsque les conditions de pH sont favorables. Mais il réapparaît dans le milieu des corps secondaires, produits des diverses réactions du métabolisme du champignon (acides organiques par exemple); ces produits contribuent à maintenir la concentration et peuvent masquer l'appauvrissement cherché. La courbe réfractométrique totale n'indique pas ce phénomène secondaire. Si ces substances sont produites en trop grande quantité, ce qui n'est pas toujours le cas, la courbe générale obtenue n'est plus qu'une résultante qu'il faut interpréter différemment.

Nos mesures réfractométriques ont été effectuées au Laboratoire cantonal de Chimie. Nous remercions vivement son directeur, M. le Dr Valencien, chargé de cours.