Université Oum El-Bouaghi

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département de la Nature et la Vie

Niveau : **Master I Microbiologie Appliquée**.

Module : **Interaction microbienne.**

**TP N°2/ Isolement des microorganismes du sol.**

L’isolement des microorganismes du sol consiste à réaliser, à partir d’un échantillon, des suspensions dilution du sol. Ces dernières sont ensemencées sur milieu de culture solide et mis en incubation, afin d’explorer la biodiversité du sol. Ainsi, le comptage des colonies permet d’estimer la quantité de germes contenue dans le sol étudié.

**I-Prélèvement**

* Avant le prélèvement, débarrasser la surface du sol des feuilles mortes et des débris végétaux. La prise d’échantillon doit ensuite être effectuée dans les couches superficielles (de 30 à 40 cm d’épaisseur). L’échantillon est soigneusement recueilli dans des boîtes en plastique.
* Tamiser et peser 10 g de sol et ajouter 90 ml d’eau distillée dans une fiole (10-1).
* Agiter pendant 20 min.

**II- Dilutions**

Pour préparer une série de dilution :

* Prélever 1 ml de la dilution 10-1.
* Mélanger cette solution à 9 ml d’eau distillé stérile, d’eau peptonée ou d’eau physiologique (la dilution 10-2 est ainsi réalisée).
* Continuer cette manipulation jusqu'à l’obtention de la dilution 10-6.

**III- Ensemencement**

* Ensemencer par 0,1mL des dilutions 10-1  jusqu'à 10-6, à la surface des milieux PDA, GN, YMA.
* Pour chaque dilution, réaliser deux répétitions.
* Incuber les boites de Pétri à une température de 27°C.
* Observer après 24, 48 et 72 heures.

**IV- Identification**

* Après incubation, réaliser une étude macroscopique des différentes colonies obtenues.
* Faire une observation microscopique à l’état frais, par coloration de Gram (pour les colonies bactériennes), et une coloration des spores (bleu de méthylène).