

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

**Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi
Tébessa**

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

Département : Biologie Appliquée

MICROBIOLOGIE DES EAUX ET DES SOLS

3EME ANNÉE LICENCE BIOLOGIE MOLECULAIRE

Dr. Hind FENGHOUR



2022-2023

Semestre: 6

Unité d'enseignement découverte 1 (UET 3.2.1)

Matière 1: Microbiologie des eaux et des sols

Crédits : 2

Coefficient : 2

OBJECTIF : montrer l'importance de la diversité des microorganismes aquatiques et terrestre et leur rôle de dans le fonctionnement des écosystèmes (flux de matières).illustration sur la gestion de la ressource EAU

Contenu de la matière

Microorganismes : diversité des fonctions

Dynamique des microorganismes dans les milieux aquatiques et sédimentaires

Microorganismes : types trophiques et habitats

- Dynamique de croissance des populations de microorganismes :
 - Facteurs physicochimiques, compétition pour la ressource
 - Microorganismes du sol et microhabitats
 - Stratégies nutritionnelles des microorganismes dans le sol
 - Rôle des principaux groupes de microorganismes dans le sol
 - Facteurs abiotiques et réponse des microorganismes aux facteurs du milieu
 - Quels liens entre aspects taxonomiques, physiologiques et fonctionnels
 - Synthèse : Les groupes trophiques microbiens et les cycles biogéochimiques
 - Microbiologie et gestion des risques rôle de microorganismes dans la dégradation et la restauration de la ressource eau
 - Protection de l'environnement, L'épuration des eaux pour l'alimentation humaine
- T D : Exercices sur l'implication des microorganismes dans le fonctionnement des écosystèmes Exercices sur les cycles biogéochimiques et les flux
- Fonctionnement d'une station d'épuration et gestion des risques sanitaire
- TP :visite de station d'épuration
- Les microorganismes aquatiques : mesures de biomasse et l'activité Communauté zooplanctoniques Dynamique des communautés algales d'un milieu naturel (bioessai) Et modélisation de cette production primaire
- Rôle des microorganismes dans le fonctionnement des sols (minéralisationCetN, activité globale)

Introduction

Le but de ce cours de Microbiologie du sol est de vous permettre de considérer le sol comme un milieu biologique, comme un véritable milieu vivant, c'est à dire hautement complexe dans lequel nous nous efforcerons de comprendre un certain nombre de mécanismes.

Le sol contient une multitude de cellules microbiennes actives, plus de 1 milliard souvent par gramme à coté de ses constituants minéraux sable, argile, limon et des résidus organiques morts. Certains auteurs les ont même comparés à un tissu vivant. Comme un tel tissu, il respire (CO₂; O₂).

On utilise la terminologie ; germes du sol ou microflore du sol ou microflore tellurique (tellus, terre en latin) qui signifie micro-organismes du sol.

- Les micro-organismes existent sur la terre depuis des milliards d'années.
- Les micro-organismes constituent un ensemble important et diversifié d'organismes microscopiques existant en tant que cellule seule ou en groupe.
- Les microorganismes fonctionnent en tant que populations ou assemblages d'organismes similaires.

Ces micro-organismes ont évolué tout en interagissant avec le monde inorganique et avec les organismes supérieurs, et ils jouent des rôles bénéfiques et vitaux.

Ces interactions des micro-organismes avec leur environnement contribuent au fonctionnement des écosystèmes.

Chapitre I. Microorganismes Diversité des fonctions

Actuellement, on considère que les bactéries cultivables à partir d'un échantillon environnemental ne représentent qu'un pour cent de la diversité totale.

Par Ailleurs le sol, loin d'être un substrat inerte, est un milieu dynamique et complexe grâce, en particulier, aux microorganismes qui l'habitent. Ces derniers constituent un des maillons du cycle biologique et l'étude de leur nature, de leur nombre, de leurs effets, est un élément nécessaire à la connaissance des sols en ce qui concerne la formation, la conservation, l'évolution et la fertilité. L'étude microbiologique d'un sol, faisant suite à la caractérisation physico-chimique de celui-ci, devra donc s'intéresser aux points suivants :

- Numération totale des microorganismes ; répartition au sein des grands groupes taxonomiques (Bactéries, Actinomycètes, Champignons a Algues) et éventuellement, détermination des espèces au moyen de tests morphologiques, sérologiques et nutritionnels.
- Evaluation des groupements fonctionnels au niveau des différents cycles (Azote, Carbone, Soufre, etc) (1)

I.2. Spécificité de l'écosystème tellurique

Le sol est à l'interface entre la lithosphère, l'atmosphère et hydrosphère et sert de support à une partie de la biosphère.

Il est constitué de cinq composants majeurs : fraction minérale, matière organique, eau, air et organismes vivants (**Figure 1**). Les matières organiques et minérales s'organisent de manière à créer des vides alors occupés par l'air et l'eau (les pores).

I.2.1. Composition : Les sols sont composés d'au moins quatre composantes. Celles-ci comprennent :

- (1) la matière inorganique minérale, typiquement **40%** ou plus du volume du sol,
- (2) de la matière organique, habituellement d'environ **5%**,
- (3) de l'air et de l'eau, plus ou moins **50%**, et
- (4) des microorganismes et des macro-organismes, environ **5%**.

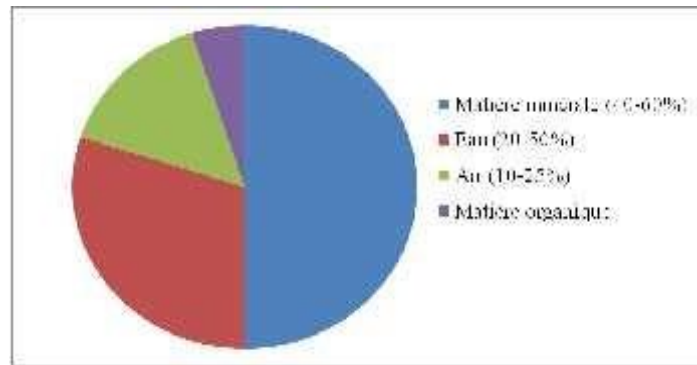


Figure 1. Proportion des principaux composants du sol en volume (2)

Des particules de tailles différentes sont présentes dans le sol,

- la gamme de 0,1-2 mm de diamètre sont appelés sable,
- celles comprise entre 0,002 et 0,1 mm du limon,
- et celles de moins de 0,002 mm de l'argile.

I.2.2. Formation : Les sols ont été formés, et continuent de l'être, dans une grande variété d'environnements. Ces environnements vont de la toundra de l'Arctique, où environ 11% de la réserve de carbone dans le sol de la planète est stocké, jusque dans les vallées sèches de l'Antarctique, où il n'y a pas de plantes vasculaires.

La congélation, décongélation, et d'autres processus physiques contribuent à la formation du sol en formant des fissures dans les roches. Comme les particules générées se combinent avec la matière organique, offrent ainsi des sites pour l'établissement des plantes.

Les racines des plantes pénètrent plus loin dans les crevasses, fragmentant davantage la roche, et leurs exsudats sécrétés dans la rhizosphère stimule le développement de cellules microbiennes. Lorsque les plantes meurent, leurs restes deviennent des éléments nutritifs pour un développement microbien plus vaste (5).

I.3. Microorganismes : types trophiques et habitats

La diversité microbienne est immense. C'est la résultante de l'évolution sur presque quatre milliards d'années. Cette diversité peut être étudiée sous des angles multiples :

- variation de la taille des cellules,
- de la morphologie (forme),
- des stratégies métaboliques (physiologie),
- de la mobilité, pathogénèse, adaptation à l'environnement.....

Les microorganismes peuvent être classés selon leur source nutritionnelle en :

- ✓ **phototrophes** capturent l'énergie radiante du soleil,
- ✓ **chimioorganotrophes** oxydent les molécules organiques pour libérer de l'énergie,
- ✓ **chimiolithotrophes** emploient comme sources d'énergie des aliments inorganiques,
- ✓ **autotrophes**, cependant, par définition, seuls utilisent l'anhydride carbonique (CO₂) comme unique ou principale source de carbone,
- ✓ **hétérotrophes sont des** organismes qui utilisent des molécules organiques préformées, réduites, comme source de carbone,
- ✓ **extrêmophiles** sont des microbes qui vivent dans des conditions extrêmes de température, d'acidité, d'alcalinité ou de salinité (3)

La diversité des populations microbiennes, indique, c'est qu'ils profitent de toutes les niches trouvées dans leur environnement qui est de quelques millimètres dans le sol.

○ 5 conditions du milieu qui sélectionnent les espèces et influencent leur nombre:

- Différentes quantités d'oxygène (aération),
- L'humidité,
- La température,
- Le pH,
- Les éléments nutritifs, surtout le calcium qui a un rapport étroit avec le pH.
- ✓ **L'activité microbienne** est plus grande dans les couches superficielles du sol riches en matières organiques, en particulier dans et autour de la rhizosphère.
- ✓ **Le nombre et l'activité** des micro-organismes du sol dépendent dans une large mesure des quantités de nutriments présents. Les nutriments limitant dans les sols sont souvent les nutriments minéraux tels que le phosphore et l'azote (7).

I.4. Dynamique de croissance des populations de microorganismes

- **Les bactéries** : se trouvent le plus souvent sur les surfaces intérieures des pores plus petits du sol (2 à 6 μm de diamètre). Là, elles sont probablement moins susceptibles d'être consommées par les protozoaires, contrairement à celles qui se trouvent exposées sur la surface extérieure d'un grain de sable ou une particule de matière organique.

Les bactéries sont :

- ✚ Aérobie ou Anaérobie
- ✚ Hétérotrophe ou Autotrophe ou Semi-autotrophe
- ✚ Oxydante ou Réductrice

- ❖ **Les champignons** : ou mycètes, peuvent être des levures, des champignons supérieurs et des moisissures des genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Mucor*, *Trichoderma*.... Ils sont des êtres **hétérotrophes**, donc vivant au dépend des matières organiques. Si certains sont parasites (*Fusarium*, *Rhizoctone*...), la plupart sont saprophytes. D'autres, vivant en symbiose avec des plantes supérieures, contribuent grandement à leur développement et à leur santé. Le milieu qui leur convient est moins strict que celui que préfèrent les bactéries : Ils acceptent les milieux acides ou ils ne rencontrent pas la concurrence des bactéries.

Les champignons filamenteux terrestres établissent des ponts dans les zones entre les particules du sol ou des agrégats, et sont ainsi exposés à des niveaux élevés d'oxygène. Ces champignons ont tendance à former des structures imperméables à l'oxygène, comme les **sclérotés** et des **cordes hyphales**. Ceci est particulièrement important pour le fonctionnement des basidiomycètes, qui forment des structures étanches à l'oxygène. Dans ces structures, les champignons filamenteux déplacent les éléments nutritifs et l'eau sur de grandes distances, y compris à travers les espaces aériens.

- ❖ **Les Actinomycètes** leur nom signifie « champignons rayonnants ». Ce sont en fait des bactéries qui développent des filaments très fins 0,5 μm tout autour de la spore d'origine. Ils abondent dans la matière organique en décomposition et dans le sol auquel ils donnent l'odeur caractéristique que l'on perçoit au moment du labour (5).

Ils jouent un rôle essentiel dans la formation de l'humus en participant activement à la décomposition de la matière organique. Ils prennent le relais des bactéries lorsque l'activité de celles-ci diminue. Des Actinomycètes du genre *Frankia* forment des nodules au niveau des racines de certains arbres et arbustes et participent activement à la fixation de l'azote atmosphérique au même titre que les *Rhizobium* sur les racines des légumineuses. On peut observer ces nodules sur les racines des aulnes.

Tableau 1 : Groupes communs de micro-organismes présents dans le sol (4)

Type de sol basé sur la taille des particules (µm)	Groupe microbien	Exemple d'organisme	Taille en (µm)	Nombre par gramme de sol	Kg de masse humide/ha de sol
Argile <2.0	Virus	Tobacco mosaic	0.02×0.3	10 ¹⁰ -10 ¹¹	
Limon 2.0-75	Bactérie	<i>Pseudomonas</i>	0.5×1.5	10 ¹⁰ -10 ¹¹	300-3000
	Actinomycètes	<i>Streptomyces</i>	0.5-2.0	10 ⁸ -10 ⁹	300-3000
	Champignons	<i>Mucor</i>	8.0	10 ⁷ -10 ⁸	500-5000
	Algues	<i>Chlorella</i>	5×13	10 ⁵ -10 ⁶	10-1500
	Protozoaires	<i>Euglena</i>	15×50	10 ³ -10 ⁶	5-200
Sable 75-2000	Nématodes	<i>Pratylenchus</i>	1000	10 ³ -10 ⁵	1-100
Gravier 2000-150.000	Vers de terre	<i>Lumbricus</i>	100.000	10 ¹ -10 ²	10-1000

I.5. Techniques d'étude de la diversité bactérienne

I.5.1. La culture bactérienne

❖ **Approches traditionnelles** : Les techniques classiques de microbiologie par étalement d'un échantillon issu de l'environnement sur ou dans un milieu de culture ont été utilisées pour favoriser la croissance cellulaire et permettre ainsi la multiplication clonale des différentes bactéries. Quand appliquée avec un milieu de culture solidifié cette approche permet de dénombrer les colonies résultant de cette multiplication clonale et ainsi estimer le nombre initial de bactéries «cultivables» présentes dans l'échantillon.

A partir d'un gramme de sol, par exemple, la culture sur milieu solidifié peut révéler la présence de 10⁸ cellules. Une grande diversité de biotopes ont ainsi été étudiés mais la véritable révolution a eu lieu en 1980, où le dénombrement des micro-organismes a pu être fait *in situ*, grâce à des sondes fluorescentes comme le DAPI.

Ces techniques, indépendantes de la mise en culture, ont révélé l'existence d'une diversité jusque-là insoupçonnée et ont véritablement bouleversé notre vision du monde bactérien.

Par exemple, un gramme de sol peut contenir plus de 10^9 cellules. On a ainsi pu établir que 99% des bactéries de l'environnement ne sont pas cultivables dans les conditions du laboratoire.

❖ **Classification et identification bactérienne appliquée aux isolats bactériens :**

La taxonomie est l'ensemble des principes et théories qui permettent de classer puis de valider le classement des organismes.

Le besoin de procéder à des études de taxonomie en microbiologie existe, comme dans toutes les autres disciplines de la biologie depuis le tout début des travaux sur les microorganismes. Il faut décrire et classer les espèces en fonction d'un certain nombre de critères. Avant l'essor de la biologie moléculaire, les espèces pouvaient ainsi être classées et donc identifiées en fonction de leurs caractères :

- biochimiques (classification en biotypes ou biovars),
- antigéniques (classification en sérotypes ou sérovars),
- pathogéniques (classification en pathotypes ou pathovars),
- enzymatiques (classification en zymotypes ou zymovars),
- de sensibilité aux antibiotiques (classification en antibiotypes),
- de sensibilité aux bactériophages (classification en lysotypes ou lysovars).

D'autres critères se basent sur :

- la composition de la paroi, discernable selon la coloration des cellules après application du protocole de Gram (coloration de Gram positive ou négative),
- la morphologie microscopique (bactéries de type coque, bacille, vibron ; isolées, par deux, en chaînettes...),
- la morphologie macroscopique (taille, forme, couleur... des colonies sur milieux de culture gélosés),
- la mobilité (mobilité ou immobilité à une température donnée),
- la capacité à sporuler,
- la température de croissance,

- les besoins nutritionnels (nécessité de substances particulières pour le développement),
- le mode respiratoire (aérobie, anaérobie stricte, aéro-anaérobie facultative, microaérophilie...),
- la capacité de photosynthèse,
- l'utilisation des différentes sources de carbone ou d'azote (on parlera de biotypes ou biovars, de zymotypes ou zymovars).

Cependant ces tests sont rendus imprécis par la variabilité des réponses d'une souche à l'autre ou pour une même souche, en fonction du temps et du milieu sur lequel les bactéries sont mises à cultiver pour effectuer les tests.

I.5.2. Méthodes moléculaires

Une étape importante qui a changé la classification bactérienne a été de prendre en compte les propriétés génomiques des bactéries qui sont principalement le rapport entre les bases guanine, cytosine et adénine, thymine, dans la séquence d'ADN (exprimé par le pourcentage moléculaire en G+C) et la similarité de séquences d'ADN obtenue par la technique de hybridation ADN-ADN.

En microbiologie du sol le principal problème est celui de l'extraction de l'ADN du sol et l'obtention d'un matériel suffisamment pur représentatif qualitativement et quantitativement de la microflore du sol. Deux approches sont utilisées pour extraire l'ADN du sol :

- Méthode d'extraction directe
- Méthode d'extraction indirecte (3).

Chapitre II. Stratégies nutritionnelles des microorganismes dans le sol

Les micro-organismes peuvent être associés à d'autres organismes de multiples façons : 1- S'installe à la surface d'un autre : **ectosymbiote**.

2- Lorsqu'ils sont dissemblables mais de taille similaire on parle de **consortium**

3- S'installe à l'intérieur d'un autre : **endosymbiote**.

4- Il y a aussi de nombreux cas où les micro-organismes vivent à la fois à l'intérieur et à l'extérieur d'un autre organisme : **ecto/endosymbiote**.

Chaque organisme est adapté à un habitat particulier. Il n'est pas étonnant que plusieurs espèces puissent vivre dans un même habitat ou dans une niche spécifique. Les interactions qui se produisent entre représentants de deux espèces différentes peuvent être neutres, négatives ou positives (figure.II.1.).

II.1. Le neutralisme : correspond à une situation où deux espèces occupent le même habitat, mais pas la même niche.

II.2. La compétition : est une interaction négative là où deux (ou plusieurs) espèces occupent le même habitat et ont besoin, par exemple, de la même nourriture. Souvent l'espèce qui est la plus affectée par cette compétition est éliminée, tandis que l'espèce qui survit prospère.

Dans le sol, la compétition peut intervenir au niveau du substrat énergétique, d'ions minéraux nécessaires à la croissance (phosphate, magnésium) ou d'oligoéléments (cobalt, fer).

II.3. L'amensalisme du latin «pas à la même table» ; est une interaction négative entre une espèce affectée et une espèce inhibitrice, l'espèce affectée étant soumise à une influence défavorable, tandis que l'espèce inhibitrice n'est affectée d'aucune façon. Exemple : les streptocoques sont des espèces amensales, tandis que la moisissure *Penicillium* est une espèce inhibitrice. Quand ils sont combinés, la pénicilline, l'antibiotique produit par *Penicillium*, détruit les streptocoques sans affecter ce dernier (5).

II.4. Le parasitisme et la prédation : Il n'y a pas de frontière nette entre parasitisme et prédation: l'ingestion d'un petit organisme par un plus gros est appelé prédation, la destruction d'un gros organisme par un petit est le parasitisme. Ceux sont les formes extrêmes d'interaction négatives. Le parasitisme existe entre certaines bactéries dans le sol, par exemple entre les *Bdellovibrio* qui se fixent sur la membrane d'autres bactéries, pénètrent dans leur

cytoplasme, s'y multiplie et fait éclater la cellule hôte en libérant des bactéries filles. Tous les virus sont des parasites obligatoires.

La plupart des protozoaires du sol sont des prédateurs de bactéries. Cette prédation joue certainement un rôle dans l'équilibre entre les groupes de microorganismes dans les sols.

De nombreux invertébrés de petite taille sont des prédateurs des micro-algues. Leur rôle est sans doute modeste dans les sols exondés, par contre il devient important dans les sols submergés et en particulier dans les rizières irriguées tropicales où la prédation des algues par le zooplancton est un facteur important du recyclage des éléments nutritifs et de la fertilité du sol.

II.5. La proto-coopération : est une relation positive dans laquelle les deux partenaires profitent de leur association, sans qu'elle soit obligatoire pour aucun d'eux.

II.6. Le commensalisme : est une relation positive où l'hôte n'est affecté de façon ni positive, ni négative, mais où l'espèce commensale (celle "qui mange à la même table") dépend de l'hôte pour sa survie. On trouve des exemples de commensalisme entre certaines algues qui favorisent la croissance de bactéries sans que leur propre taux de croissance soit modifié par la présence de la bactérie.

II.7. Le mutualisme (ou la symbiose) du latin *mutuus* (réciproque) ; est une relation positive qui est obligatoire pour les deux partenaires, aucun d'eux ne pouvant survivre en son absence. Ce type d'association est fréquent dans le sol, en raison des liens trophiques entre plusieurs groupements fonctionnels: fixateurs d'azotes et bactéries photosynthétiques, cellulolytiques et algues, sulfato-réductrices et sulfo-oxydantes, bactéries syntrophes avec bactéries méthanogènes ou sulfato-réductrices (5) .

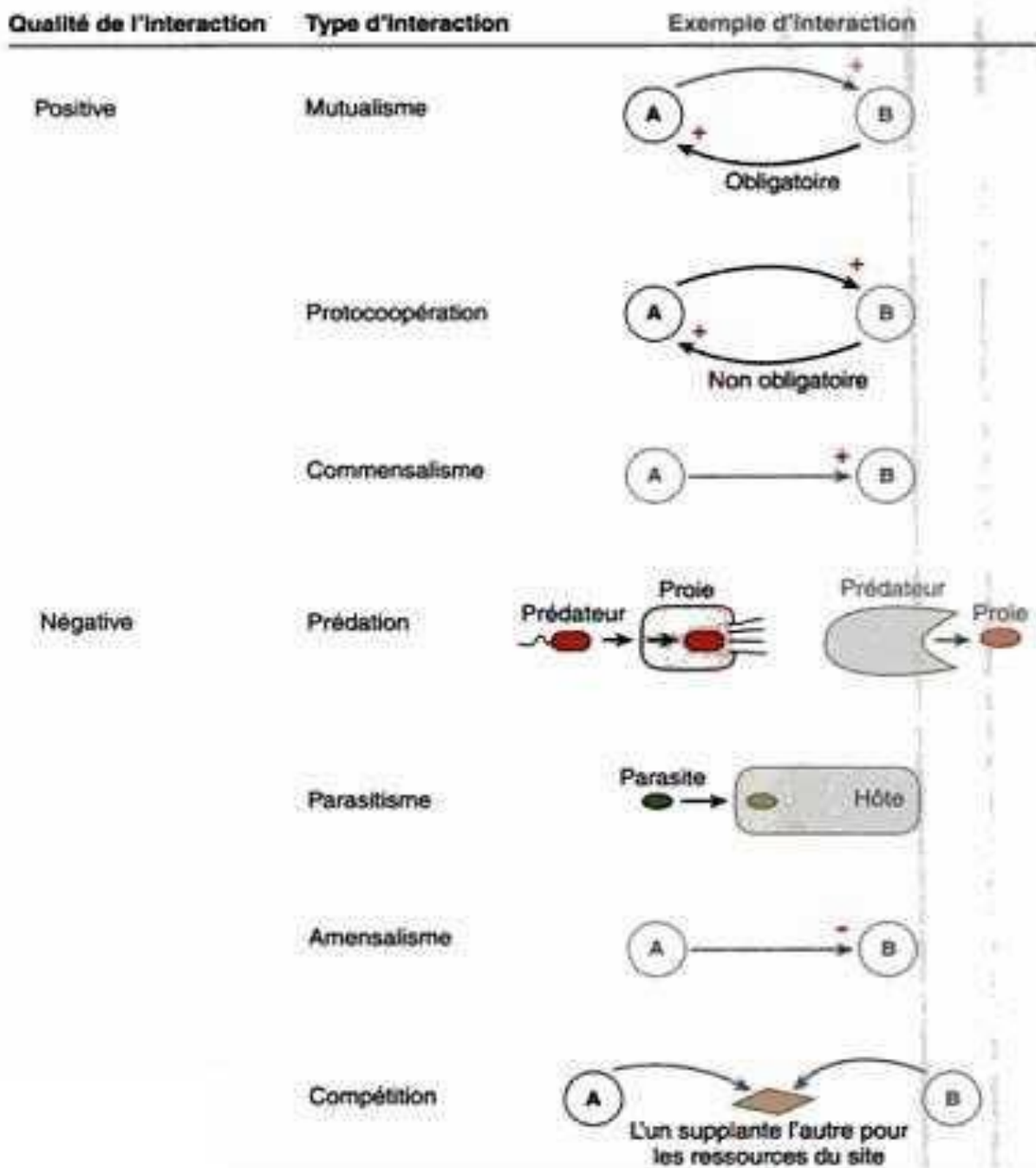


Figure 2 : Interactions Microbiennes
(6)

Chapitre III. Facteurs abiotiques et réponse des microorganismes aux facteurs du milieu

III.1. Effets des propriétés du sol sur la distribution des microorganismes

III.1.1. Facteurs énergétiques

- Le nombre et l'activité des microorganismes dépendent essentiellement de l'énergie qui peut être libérée à la suite de la décomposition de la matière organique.
- Le facteur le plus limitant de la masse microbienne dans le sol est l'insuffisance des substrats énergétiques pour la microflore, que ce soit le carbone pour les hétérotrophes ou des substances minérales réduites pour les chimiotrophes.
- Les fluctuations dans la micropopulation des sols dépendraient des substances introduites dans le sol et du rapport C/N du sol .

III.1.2. Les facteurs physiques

III.1.2.1. La texture du sol

La texture du sol intervient de deux façons :

- Façon directe, par l'action de différentes fractions minérales;
- Façon indirecte, par son rôle majeur dans la genèse de la structure du sol.

Dans un sol sableux suffisamment humide, la continuité du film liquide autour des particules assure une propagation rapide de l'activité microbienne. Cette propagation est ralentie par la présence d'argile, l'action directe des particules argileuses tient en premier lieu à leur effet protecteur des substances organiques par formation de complexes organo-minéraux moins accessibles à l'activité microbienne.

III.1.2.2. Structure

La qualité structurale du sol est fortement influencée par la valeur du pouvoir d'oxydoréduction de ce sol. Cette valeur oriente la nature et l'intensité de la population microbienne. Deux actions opposées sont possibles :

- L'inclusion des substances organiques à l'intérieur d'un agrégat, le rend temporairement inaccessible aux microorganismes;
- La rupture des agrégats par broyage stimule la minéralisation rendue d'autant plus aisée que la dimension des agrégats est plus grande (5) .

III.1.3. Les facteurs climatiques

III.1.3.1. L'humidité du sol

-Les sols secs ne présentent qu'une activité microbienne faible, mais lorsque l'humidité augmente l'activité de microorganismes augmente progressivement jusqu' à un maximum puis décroît.

-L'excès d'eau entraîne une aération déficiente et détermine une sélection des germes. Un manque chronique d'eau entraîne également une sélection, mais la microflore inhibée est évidemment différente de la précédente. Les alternances de dessiccation et d'humectation stimulent l'activité des microorganismes.

III.1.3.2. Température

Pour chaque espèce existe un seuil au-dessous duquel l'activité est nulle. Un optimum correspondant à une activité maxima et une limite supérieure au-delà de laquelle la cellule vivante est détruite (température létale). D'une manière générale la plupart des bactéries et actinomycètes ont un développement optimal entre **25** et **40C°**, les champignons, leur température optimale se situant aux environs de **26C°**.

III.1.3.3. Influence des saisons

L'humidité et la température sont deux facteurs essentiels dont la combinaison oriente l'intensité saisonnière de l'activité microbienne. Ainsi il devient évident que la succession des saisons exerce un effet très important sur la microflore des sols.

Les variations saisonnières de la microflore sont probablement dues en grande partie à des changements en qualité et quantité dans les apports nutritifs que constituent feuilles et branches mortes.

Les maxima d'activité situent au printemps et en automne (l'humidité et température favorable) le maximum automnal, toutefois peut être estompe ou absent.

III.1.4. Les facteurs chimiques

III.1.4.1. Réaction du sol (pH): Le degré d'acidité du sol constitue l'un des principaux facteurs limitant, pour les germes qui y sont généralement très sensibles, telles que les bactéries et actinomycètes qui sont plus favorisées par des milieux proches de la neutralité, alors que les champignons s'accroissent de pH bas, c'est-à-dire de sol acides (1).

Donc chaque espèce microbienne est active entre des limites qui lui sont propres, avec une valeur optimale. Par exemple les bactéries nitrifiantes pH optimum en culture tel que les Nitrosomonas 8,5 à 8,8 Nitrobacter 8,3 à 9,3 Bactéries cellulolytiques 6,0 à 8, 5.

III.1.4.2. Pouvoir d'oxydoréduction : La nature et l'intensité de l'activité microbienne du sol relèvent largement de la valeur de son pouvoir oxydo-réducteur, à une conséquence directe sur les processus de dégradation des substances organique: de bonnes conditions d'aérobioses induisent une oxydation aisée des substances organiques.

III.1.4.3. Salure : Le taux de salinité à une grande influence sur l'évolution de la microflore du sol, l'augmentation de la quantité fait diminuer le nombre de microorganismes, de tous les processus biologiques, la nitrification est la plus touchée, ainsi que la réduction de la respiration.

Les sols salés constituent pour les micro-organismes telluriques, un milieu défavorable en raison:

- De la présence d'ions toxiques;
- De la salure asphyxiant;
- De leur tension osmotique parfois élevée (7) .

III.2. Role des principaux groupes de microorganismes dans le sol

III 2. 1. Rôle des microorganismes dans la structure de sol

Les microorganismes du sol influencent différemment la stabilité de la structure d'un sol en fonction de leur type, de leur activité et de leurs produits de synthèse. Ils présentent entre eux des différences d'efficacité en ce qui concerne leur aptitude à induire l'agrégation et à la maintenir.

- **Les champignons :** sont efficaces dans la stabilisation des agrégats de sol, car ils ont la capacité de lier les particules du sol via plusieurs mécanismes (rétention mécanique, adhésion par les glues fongiques, ...). En effet, de nombreux champignons secrètent des substances agrégeant à fort pouvoir collant comme les polysaccharides et les gommés. Les mycéliums des champignons consolident également directement la structure du sol par enchevêtrement mécanique des particules minérales entre les hyphes et/ou par la résistance mécanique des filaments fongiques aux contraintes physiques.

Les champignons ayant l'effet le plus marqué dans le processus d'agrégation et de stabilisation des agrégats sont des espèces saprophytes appartenant essentiellement aux genres *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mucor*, *Sclerotium*, diverses levures et des Basidiomycetes.

- **Les bactéries et des actinomycètes** : Leur rôle dans le processus d'agrégation et la stabilisation des agrégats est nettement moins importante que celle des champignons. Les bactéries interviennent plutôt dans la stabilisation des particules de la taille des argiles et des limons. Elles synthétisent des substances gluantes telles que les polysaccharides et peuvent constituer le centre de formation de microagrégats.
- **Les Algues** : agrègent les particules élémentaires en surfaces des profils et contribuent ainsi en association avec les Champignons filamenteux ainsi qu'à la formation de croûtes (structure continue) notamment sur les sols sableux (5).

CHAPITRE IV. Les Groupes Trophiques Microbiens et les cycles Biogéochimiques

Les micro-organismes sont des acteurs clés dans de nombreux processus écologiques essentiels tels que le cycle biogéochimique du carbone, de l'azote et du soufre où leurs activités influencent directement toutes les vies sur Terre.

1. Cycle du carbone

Le cycle du carbone est le plus important des cycles biogéochimiques. À l'échelle du globe, le carbone (C) circule comme CO_2 (forme gazeuse) à travers tous ses principaux réservoirs (**Figure 3**). Les formes oxydées du carbone (CO_2 , carbonate, bicarbonate) sont réduites en composés organiques $(\text{CH}_2\text{O})_n$ et par la suite ces derniers peuvent être oxydés pour revenir à la case de départ, principalement sous l'action des micro-organismes (**Figure 4**). Les principaux réservoirs du carbone sur la Terre sont : les roches et les sédiments, les océans, les hydrates de méthane, les combustibles fossiles, la biosphère terrestre et la biosphère aquatique (**Tableau 2**).

Tableau 2. Réservoirs du carbone sur Terre (**Madigan et al. 2018**).

Réservoir	Pourcentage (%)
Roches et sédiments	99,5
Océans	0,05
Hydrates de méthane	0,014
Combustibles fossiles	0,006
Biosphère terrestre	0,003
Biosphère aquatique	0,000002

Les environnements aquatiques jouent un rôle important dans le cycle du carbone, ils agissent comme un tampon puisqu'elles peuvent dissoudre le CO_2 atmosphérique en grande quantité. Ils le gardent en réserve et peuvent le restituer pour maintenir l'équilibre atmosphérique du CO_2 . Le cycle biologique du carbone est contrôlé par deux phénomènes, celui de la photosynthèse et de la décomposition terrestre et marine. Deux formes gazeuses du carbone qui dominent le cycle biologique du carbone, le CO_2 et le CH_4 .

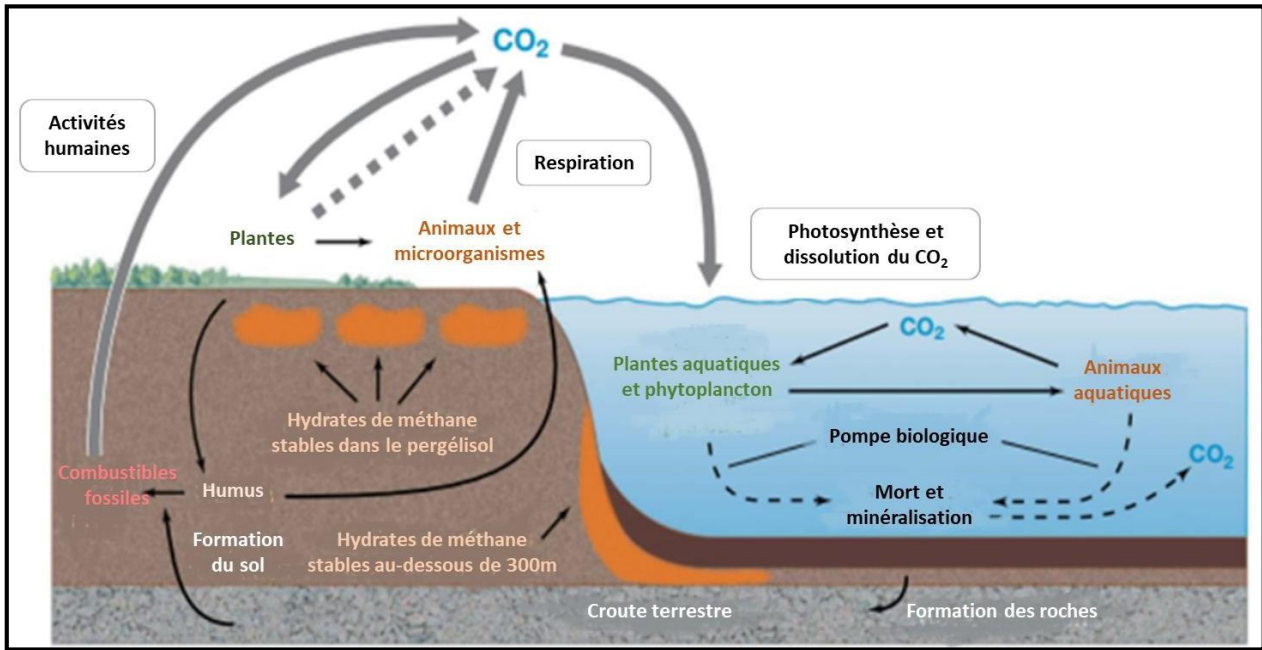


Figure 3. Cycle du carbone. Les cycles du carbone et de l'oxygène sont étroitement liés, car la photosynthèse oxygénique élimine à la fois le CO₂ et produit de l'O₂, et la respiration produit à la fois du CO₂ et élimine l'O₂ (Madigan *et al.* 2018).

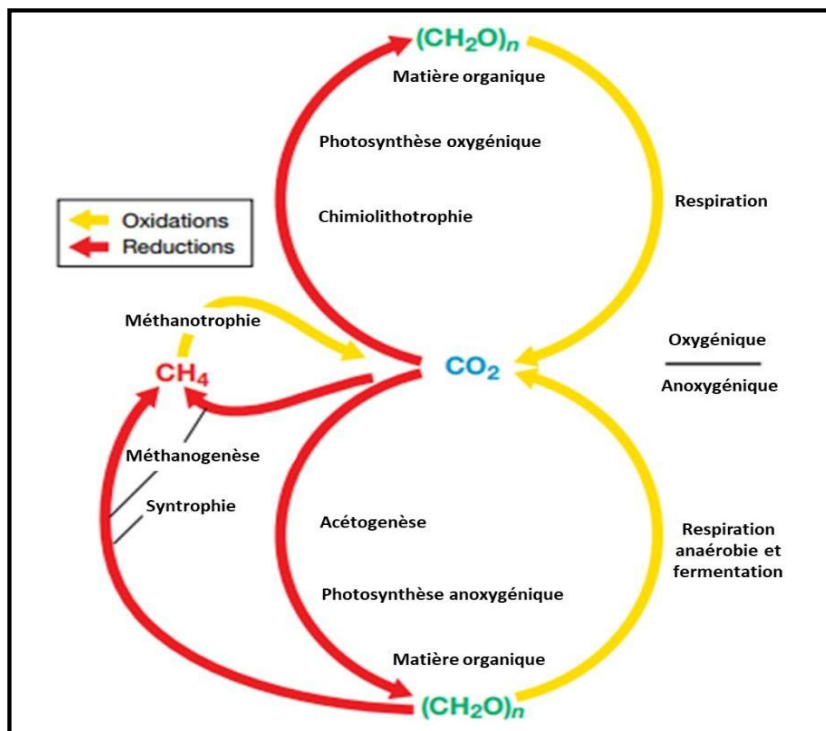


Figure 4. Cycle redox du carbone. Le diagramme illustre les processus d'autotrophie et d'hétérotrophie (Madigan *et al.* 2018).

1.1. La fixation du CO₂

Les nouveaux composés organiques ne sont synthétisés biologiquement sur Terre que par fixation du CO₂ par les phototrophes et les chimiolithotrophes. Il existe deux groupes d'organismes capables de réaliser la photosynthèse oxygénique : les plantes et les micro-organismes. Les plantes sont les organismes phototrophes dominants des environnements terrestres, tandis que les micro-organismes phototrophes dominent dans les environnements aquatiques. Les phototrophes et les chimiolithotrophes anoxygéniques produisent également des composés organiques, mais dans la plupart des environnements, la contribution de ces organismes à l'accumulation nette de la matière organique n'est pas significative en comparaison avec celle des phototrophes oxygéniques (7).

1.2. Décomposition

La deuxième étape du cycle du carbone est la dégradation de la matière organique par le processus d'oxydation permettant la libération des gaz carboniques CO₂ et CH₄. Le dioxyde de carbone, dont la plupart est d'origine microbienne, est produit par des respirations aérobies et anaérobies. Bien que les plantes et les animaux y participent, les microorganismes sont ceux qui jouent le rôle principal. Le méthane est produit dans les environnements anoxiques par la méthanogenèse.

Pour satisfaire leurs besoins énergétiques, les chimiohétérotrophes, ainsi que les plantes, oxydent la matière organique par respiration cellulaire au cours de laquelle le CO₂ est émis dans l'atmosphère. Cependant, la plus grande partie du carbone demeure dans leurs organismes. Après leur mort, toute cette matière organique, dont la plus grande partie est végétale de nature cellulosique ou ligneuse, retourne à la terre. À ce niveau, plusieurs bactéries spécialisées aérobies ou anaérobies interviennent dans la décomposition comme *Pseudomonas*, bactéries cellulolytiques (*Cytophaga*), pectinolytiques, dénitrifiantes, actinomycètes et *Bacillus* conduisant ainsi à la formation de l'humus. Les champignons du sol jouent un rôle majeur dans la décomposition des résidus végétaux contenant de la lignine, de la cellulose et de l'hémicellulose. En outre, il a été démontré que de nombreux groupes de bactéries, y compris les membres des *Proteobacteria*, les actinomycètes, les *Firmicutes* et les *Bacteroides*, produisent des enzymes capables de dégrader ces polymères végétaux. La minéralisation de la matière organique peut avoir lieu aussi dans les fonds marins, les vases des étangs et des rivières. Le méthane est produit dans les environnements anoxiques par les méthanogènes à partir de la réduction du CO₂ avec de l'hydrogène (H₂) ou de la transformation de l'acétate

(CH_3COOH) en méthane (CH_4) et CO_2 . Le méthane est généré dans les sols humides et riches en carbone organique au cours de processus anaérobies, y compris la fermentation par des bactéries suivie de la respiration anaérobie par un groupe spécifique d'archées, dénommées archées méthanogènes. La voie de méthanogenèse la plus courante utilise le CO_2 comme substrat, mais il existe d'autres mécanismes impliquant des composés méthylés ou de petits acides organiques tels que l'acétate. Le méthane produit dans les habitats anoxiques est insoluble et se diffuse le plus souvent rapidement dans les environnements bien oxygénés où il est soit rejeté dans l'atmosphère ou oxydé en CO_2 par les méthanotrophes qui sont des α et γ -*Proteobacteria* spécialisées. Par conséquent, la plupart du carbone des composés organiques retourne finalement au CO_2 .

La photosynthèse et la respiration ont lieu aussi dans les milieux aquatiques, où le CO_2 dissout est fixé par les organismes responsables. Inversement, le CO_2 est libéré par respiration et en se dissolvant dans l'eau, produit de l'acide carbonique qui réagit avec le carbonate de calcium (CaCO_3) des sédiments. Cette réaction produit des ions carbonates dissous qui seront utilisés par les autotrophes océaniques comme source de carbone. De plus, comme les organismes terrestres, après la mort des organismes aquatiques, ils sont dégradés par les bactéries et le CO_2 réintègre le cycle.

Parallèlement au cycle du carbone, se juxtapose le cycle de l'oxygène : production de l'oxygène moléculaire au cours de l'étape de la fixation du CO_2 puis dans la seconde étape de l'oxydation des composés organiques, l'oxygène moléculaire joue le rôle d'accepteur final des électrons (8) .

2. Cycle de l'azote

Aucun autre élément essentiel à la vie ne prend autant de formes dans le sol que l'azote (**Tableau 4**), où les transformations entre ces formes sont principalement médiées par des microbes (**Tableau 5**). La microbiologie du sol joue donc encore un autre rôle crucial dans le fonctionnement des écosystèmes, particulièrement dans la plupart des écosystèmes terrestres. L'azote limite la croissance des plantes, et donc la production primaire nette est en fonction de l'importance de l'activité des microbes transformant l'azote en formes utilisables par les plantes. La compréhension des transformations de l'azote assurées par les activités des microbes du sol est essentielle pour une bonne gestion de la santé et la productivité des écosystèmes. La figure 8 résume les différentes étapes du cycle de l'azote.

Tableau 3. Principales formes d'azote dans le sol. (Paul, 2014).

Nom	Formule chimique
Nitrate	NO_3^-
Dioxyde d'azote (g)	NO_2
Nitrite	NO_2^-
Acide nitreux (g)	NO
Oxyde nitreux (g)	N_2O
Diazote (g)	N_2
Ammoniac (g)	NH_3
Ammonium	NH_4^+
Azote organique	R-NH_2

(g) : gaz

Tableau 4. Processus clés et microorganismes du cycle d'azote (Madigan *et al.* 2018).

Processus	Exemple de microorganismes
Nitrification ($\text{NH}_4^+ \longrightarrow \text{NO}_3^-$) $\text{NH}_4^+ \longrightarrow \text{NO}_3^-$ $\text{NH}_4^+ \longrightarrow \text{NO}_2^-$ $\text{NO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_3^-$	<i>Nitrospira</i> spp. (Comammox) <i>Nitrosomonas</i> , <i>Nitrosopumilus</i> (Archaea) <i>Nitrobacter</i>
Dénitrification ($\text{NO}_3^- \longrightarrow \text{N}_2$)	<i>Bacillus</i> , <i>Paracoccus</i> , <i>Pseudomonas</i>
Fixation de N₂ ($\text{N}_2 + 8\text{H} \longrightarrow 2\text{NH}_3 + \text{H}_2$)	
Libres	
Aérobie	<i>Azotobacter</i> , <i>Cyanobacteria</i>
Anaérobie	<i>Clostridium</i> , bactéries phototrophes vertes et pourpres, <i>Methanobacterium</i> (Archaea)
Symbiotiques	<i>Rhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Frankia</i>
Ammonification (azote organique $\longrightarrow \text{NH}_4^+$)	Plusieurs types d'organismes peuvent être impliqués
Anammox ($\text{NO}_2^- + \text{NH}_3 \longrightarrow 2\text{N}_2$)	<i>Brocadia</i>

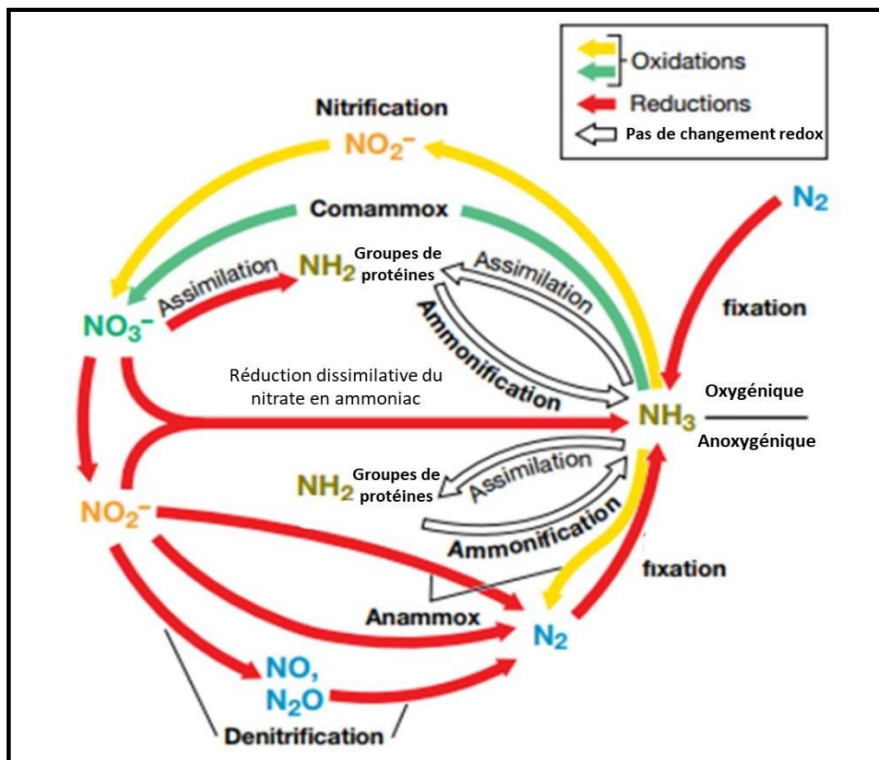


Figure 5. Cycle d'oxydoréduction de l'azote. (Madigan *et al.* 2018).

Anammox, anaerobic ammonium oxidation (oxydation anaérobie de l'ammonium) ; Comammox, complete ammonia oxidiser (organisme pouvant réaliser l'oxydation complète de l'ammoniac).

2.1. Fixation d'azote

L'azote atmosphérique (N_2) est la forme la plus stable et constitue le réservoir majeur de l'azote sur Terre. Cependant, seulement un nombre relativement faible de bactéries et d'archées, possédant l'enzyme nitrogénase, sont capables d'utiliser le N_2 comme source d'azote par un processus dépendant de l'énergie appelé la fixation de l'azote pour former de l'ammoniac selon la réaction suivante : $\text{N}_2 + 8 \text{H} \longrightarrow 2 \text{NH}_3 + \text{H}_2$. Ce dernier peut ensuite être assimilé et intégrer la chaîne alimentaire. La nitrogénase est un complexe enzymatique qui est composé de deux protéines (la dinitrogénase et la dinitrogénase réductase).

Les bactéries qui utilisent le N_2 comme seule source d'azote sont appelées **diazotrophes**. Ces bactéries peuvent être des phototrophes, des lithotrophes ou des hétérotrophes, et elles sont représentées par des aérobies obligatoires et des anaérobies

facultatifs et obligatoires. Cette diversité métabolique permet aux diazotrophes d'exercer leur fonction dans une grande variété d'environnements.

Deux catégories de bactéries fixent l'azote atmosphérique ; les bactéries libres dans le sol et celles vivant en associations symbiotiques. La première catégorie se trouve en forte concentration dans la rhizosphère (la partie du sol qui est directement en contact avec les racines des plantes). Parmi les bactéries de ce groupe on trouve des aérobies comme *Azotobacter* et *Beijerinckia*, des cyanobactéries photosynthétiques et des anaérobies strictes comme *Clostridium pasteurianum*. Bien que la fixation biologique de l'azote est un processus limité aux procaryotes des domaines *Archaea* et *Bacteria*, il existe de nombreux exemples d'associations symbiotiques qui se sont développées entre les eucaryotes et les procaryotes qui couvrent les besoins des eucaryotes en azote. La fixation d'azote est souvent réalisée par des bactéries endophytes dans des associations symbiotiques avec des plantes. Il existe deux grands groupes fonctionnels d'endosymbiontes diazotrophes. Le premier est constitué des bactéries qui induisent leur plante hôte à former des structures appelées les nodules racinaires, dans lesquels ils prolifèrent et sécrètent des quantités importantes d'azote au cours de la croissance de la plante. Ces dernières fixent l'azote atmosphérique qui gagnera la matière organique des plantes et ne sera libéré qu'après la mort cellulaire. Une autre association entre les bactéries fixatrices d'azote et des eucaryotes peut avoir lieu à travers l'association d'un mycète et une algue « cyanobactéries » ; c'est les lichens dont l'apport en azote est important.

En effet, l'enzyme clé dans le processus de fixation d'azote, la nitrogénase, est extrêmement sensible à la dénaturation par l'oxygène. Par conséquent, les bactéries aérobies fixatrices d'azote ont développé divers mécanismes de protection. Certaines cyanobactéries diazotrophes produisent des cellules spécialisées appelées hétérocystes dans des conditions de fixation d'azote (**Figure 6**). Les hétérocystes ne se divisent pas comme les cellules végétatives voisines, ne fixent pas le CO₂, et utilisent l'énergie lumineuse pour fournir l'énergie nécessaire à la fixation d'azote. D'autres bactéries comme *Azotobacter*, métabolise très rapidement l'oxygène ce qui réduit au minimum sa diffusion intracellulaire (9).

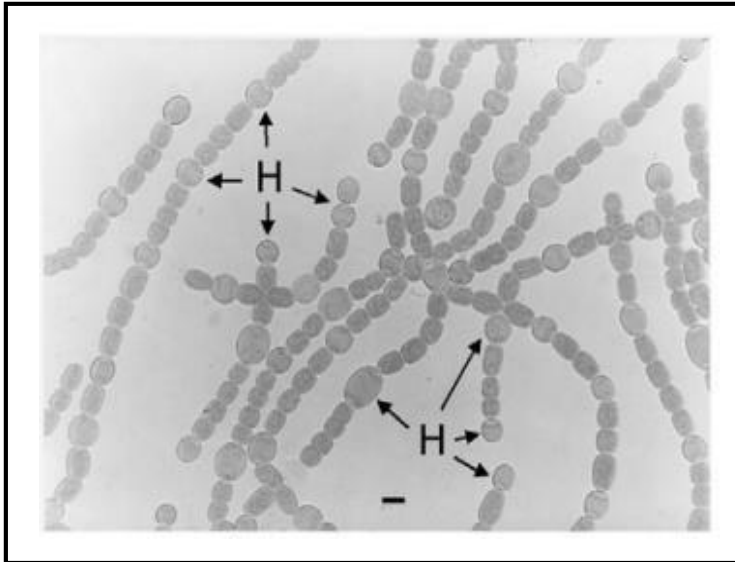


Figure 6. Hétérocystes des cyanobactéries fixatrices d’azote. Les hétérocystes sont désignés par la lettre H (Paul, 2014).

2.2. Ammonification

L'ammoniac (NH_3) est libéré lors de la décomposition des composés organiques azotés tels que les acides aminés et les nucléotides, un processus appelé **ammonification**. Durant la décomposition microbienne de la matière organique et sous l'action des enzymes de **désamination**, les composés azotés perdent leurs groupements amines. Ces derniers sont convertis en ammoniac. Dans un sol sec ou à pH alcalin, le NH_3 , qui est un gaz, s'échappe rapidement. Mais dans un sol humide et à pH neutre sa dissolution conduit à la formation des ions d'ammonium (NH_4^+) selon la réaction présentée ci-dessous. Ces ions sont rapidement recyclés et utilisés par les plantes et les microorganismes.



2.3. Nitrification

La nitrification est l'oxydation microbienne de l'ammoniac en formes moins réduites, principalement les nitrites (NO_2^-) puis les nitrates (NO_3^-). La nitrification a longtemps été considérée comme un processus obligatoire en deux étapes au cours duquel certaines espèces oxydent le NH_3 en NO_2^- , puis d'autres espèces oxydent le NO_2^- en NO_3^- . Nous savons maintenant que les archées et les bactéries hétérotrophes peuvent également participer à la nitrification, bien que la nitrification autotrophe semble être le processus dominant dans la plupart des sols. L'oxydation de NH_3 en nitrite (NO_2^-) via l'hydroxylamine (NH_2OH) est réalisée par des groupes spécifiques de bactéries autotrophes et d'archées, principalement du genre *Nitrosomonas*. Une

oxydation supplémentaire du nitrite en nitrate est effectuée seulement par quelques groupes de bactéries. Il s'agit notamment de *Nitrobacter* (α *Proteobacteria*) et *Nitrolancea hollandica*. Avant l'an 2000, les bactéries nitrifiantes étaient considérées comme une seule famille appelée *Nitrobacteraceae*, définie par leur capacité caractéristique à oxyder l'ammoniac ou les nitrites. Les premiers travaux en 1892 ont classé les genres oxydant l'ammoniac des *Nitrobacteraceae* en fonction de la forme des cellules et de l'arrangement des membranes intracytoplasmiques. Cela a donné cinq genres : *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus* et *Nitrosovibrio*. Cependant, des travaux récents, basés principalement sur l'analyse d'ARNr 16S, placent des bactéries terrestres nitrifiantes dans la sous-classe des β -*Proteobacteria* (**Figure 7**).

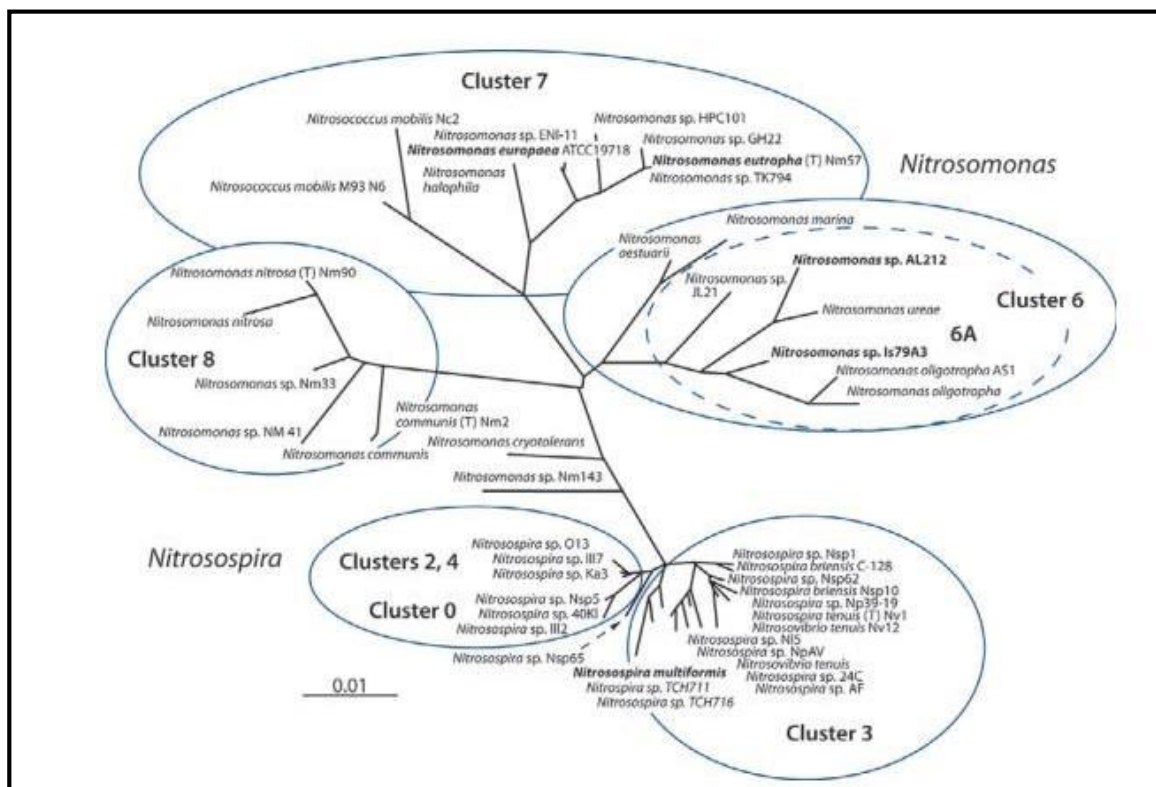
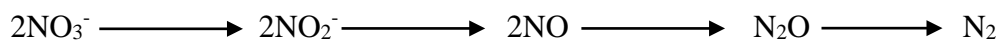


Figure 7 . Un arbre guide de l'ARNr 16S pour les bactéries nitrifiantes appartenant aux β -*Proteobacteria* (Paul, 2014).

L'ammoniac peut être oxydé dans des conditions anoxiques dans un processus appelé **anammox**. Les bactéries anammox sont affiliées à cinq genres (*Brocadia*, *Kuenenia*, *Scalindua*, *Anammoxoglobus* et *Jettenia*) dans une seule famille phylogénétiquement cohésive (*Brocadiaceae*) au sein des *Planctomycetes*. Dans la réaction anammox, le NH_3 est oxydé par voie anaérobie avec NO_2^- comme accepteur d'électrons, formant le N_2 comme produit final, qui est libéré dans l'atmosphère. Bien qu'il soit un processus majeur dans les eaux usées et dans les bassins marins et les sédiments anoxiques, l'anammox n'est pas un processus important dans les sols aérés.

2.4. Dénitrification

La dénitrification est la réduction du nitrate du sol en azote gazeux NO, N₂O et N₂. La dénitrification est le seul point du cycle d'azote où ce dernier rentre dans l'atmosphère sous forme de N₂ ; il sert ainsi à fermer le cycle global. En règle générale, les dénitrifiants constituent 0,1 à 5% de la population cultivable du sol et jusqu'à 20% de la biomasse microbienne totale, en utilisant les nitrites, les nitrates et l'oxyde nitreux comme accepteurs terminaux d'électrons au cours de la respiration anaérobie. L'objectif de la dénitrification est de générer de l'énergie (ATP) par phosphorylation à travers le transport d'électrons *via* le système cytochrome dont la voie générale est la suivante :



Chaque étape est assurée par des enzymes individuelles dans l'ordre suivant : nitrate réductase, nitrite réductase, oxyde nitrique réductase et oxyde nitreux réductase. Ces enzymes sont inhibées par la présence de l'oxygène. La dénitrification a lieu lorsque l'oxygène n'est plus disponible pour servir d'accepteur final d'électrons. Ceci a lieu dans les sols engorgés d'eau, où peu d'oxygène est disponible. La dénitrification est effectuée par un large éventail de bactéries du sol, notamment des organotrophes, des chimio- et des photolithotrophes, des thermophiles, des halophiles et divers agents pathogènes. Dans le sol, la plupart des dénitrifiants cultivables sont des anaérobies facultatifs appartenant à seulement 3 à 6 genres, principalement *Pseudomonas* et *Alcaligenes*, et dans une moindre mesure, *Bacillus*, *Agrobacterium* et *Flavibacterium*.

3. Cycle du soufre

La plupart des réserves mondiales du soufre sont au niveau de la lithosphère, d'où il est lentement libéré par les processus d'altération. Le soufre est un composant essentiel des acides aminés. Il est également un composant de nombreux minéraux et ne semble pas limiter la croissance microbienne dans le sol, bien que certaines plantes puissent faire face à des carences. Les transformations microbiennes du soufre sont encore plus complexes que celles de l'azote en raison du grand nombre de ses états d'oxydation et du fait que plusieurs transformations du soufre se produisent également spontanément (**Tableau 5**). Les bactéries anaérobies spécialisées du sol appartenant à de plusieurs phylums (*δ-Proteobacteria*, *Firmicutes* et *Nitrospirae*) et les archées peuvent réduire le sulfate (SO₄²⁻) en sulfure *via* le sulfite (SO₃²⁻) dans une réaction dissimilatrice, avec de simples composés organiques ou H₂ agissant comme

donneurs d'électrons. Habituellement, ce processus se produit dans les sols engorgés d'eau (y compris les rizières) et les sédiments donnant l'odeur familière « d'œufs pourris ».

Le sulfure est oxydé en soufre élémentaire dans le sol par des bactéries autotrophes anaérobies photosynthétiques : les bactéries vertes sulfureuses appartenant au phylum *Chlorobi* et les bactéries pourpres sulfureuses des γ -*Proteobacteria*. Les protéobactéries β et γ microaérophiles non photosynthétiques, *Thiobacillus* et *Beggiatoa*, peuvent oxyder le sulfure à l'aide de simples composés organiques. Les différentes transformations ayant lieu au cours du cycle de soufre ainsi que les microorganismes responsables sont présentés dans le tableau 5 et la figure 8.

Tableau 5. Processus clés et microorganismes du cycle du soufre (Madigan *et al.* 2018).

Processus	Exemple de microorganismes
Oxydation ($\text{H}_2\text{S} \longrightarrow \text{S}^\circ \longrightarrow \text{SO}_4^{-2}$)	
Aérobie	Bactéries sulfureuses chimolithotrophes (<i>Thiobacillus</i> , <i>Beggiatoa</i> , plusieurs autres)
Anaérobie	Bactéries phototrophes vertes et pourpres, quelques chimolithotrophes
Réduction du sulfate (anaérobie) ($\text{SO}_4^{-2} \longrightarrow \text{H}_2\text{S}$)	<i>Desulfovibrio</i> , <i>Desulfobacter</i> , <i>Archaeoglobus</i> (Archaea)
Réduction du soufre (anaérobie) ($\text{S}^\circ \longrightarrow \text{H}_2\text{S}$)	<i>Desulfuromonas</i> , plusieurs <i>Archaea</i> hyperthermophiles
Dismutation ($\text{S}_2\text{O}_3^{-2} \longrightarrow \text{H}_2\text{S} + \text{SO}_4^{-2}$)	<i>Desulfovibrio</i> , et autres
Oxydation ou réduction du sulfure des composés organiques ($\text{CH}_3\text{SH} \longrightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{S}$) (DMSO \rightarrow DMS)	Plusieurs organismes peuvent être impliqués
Dissimilation (Soufre organique \rightarrow H_2S)	Plusieurs organismes peuvent être impliqués

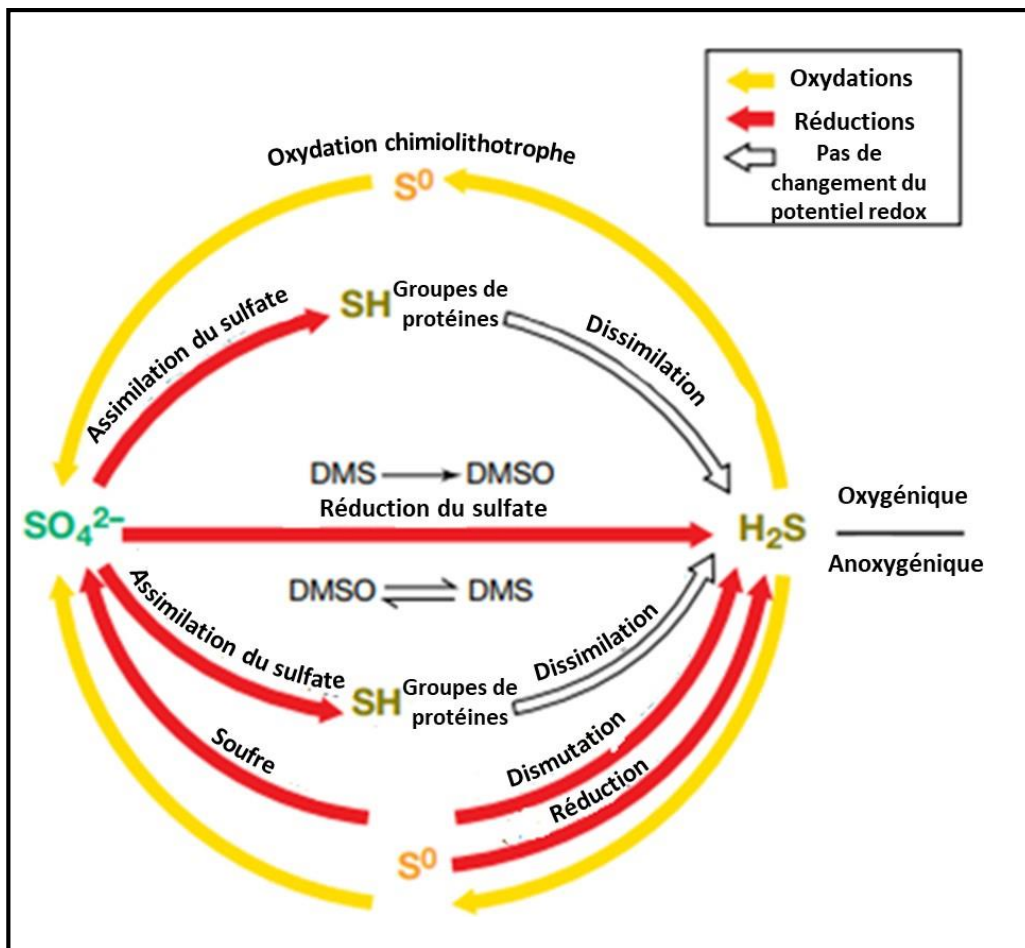


Figure 8. Cycle redox du soufre. DMS, diméthyle sulfure ; DMSO, diméthylsulfoxyde (Madigan *et al.* 2018).

3.1. Interaction avec les végétaux

En effet le « microbiome végétal » est considéré comme « le deuxième génome des plantes », en raison du grand nombre de caractères cruciaux qu'il fournit pour la survie des plantes dans leur environnement naturel. Les plantes interagissent étroitement avec les microbes à travers leurs racines et leurs surfaces foliaires. Les microbes qui interagissent avec les plantes peuvent être largement divisés en deux classes : les microbes qui vivent à la surface des plantes, appelés **épiphytes**, et ceux colonisant les tissus internes des plantes, appelés **endophytes**.

Les micro-organismes de la rhizosphère favorisent la croissance des plantes et les protègent contre les attaques de pathogènes par divers mécanismes. Ceux-ci impliquent la bio-

fertilisation, la stimulation de la croissance des racines, la rhizoremédiation, le contrôle du stress abiotique et le contrôle des maladies. Ces mécanismes sont bien documentés pour les rhizobactéries appartenant aux *Proteobacteria* et *Firmicutes*, (*Pseudomonas* et *Bacillus*), ainsi que pour les champignons des *Deuteromycetes* (*Trichoderma* et *Gliocladium*) et de l'ordre des *Sebacinales* (*Piriformospora*).

Un large éventail de microbes dans la rhizosphère favorise la croissance des plantes, orchestrés par leur capacité à communiquer avec les plantes à l'aide de signaux chimiques. Les bactéries et les champignons améliorent la croissance des plantes en produisant une variété de composés. Il s'agit notamment de molécules qui régulent la croissance des plantes appelées phytohormones et des composés qui stimulent la production de phytohormones par les plantes hôtes. La production de composés organiques volatils, une classe diversifiée de composés hétérocycliques qui stimulent les réponses des plantes au stress. De plus, certaines bactéries sécrètent des composés qui inhibent la croissance des pathogènes fongiques des plantes. L'utilisation de ces composés en agriculture est un domaine de recherche très important.

D'autre part, certaines bactéries et endophytes de la rhizosphère pourraient atténuer l'impact négatif du stress thermique sur les plantes et augmenter la capacité de ces dernières à croître à différentes températures. Un exemple intéressant est la symbiose entre l'herbe tropicale *Dichanthelium lanuginosum* et le champignon *Curvularia protuberata*, qui permet aux deux organismes de se développer à des températures élevées du sol, tandis que séparément, ni la plante ni le champignon ne peuvent survivre dans cette condition. Certains microbes peuvent même aider les plantes à faire face à de multiples contraintes. Un exemple intrigant est la souche de *Burkholderia phytofirmans* PsJN, qui améliore la tolérance des plantes à la chaleur dans la tomate, au froid dans la vigne, à la sécheresse dans le blé et au sel et au gel dans l'arabette.

3.2.1 Les mycorhizes

Le terme mycorhize a été utilisé pour la première fois en 1885 par A.B. Frank pour décrire les structures racinaires modifiées de certains arbres

forestiers pour s'étendre par la suite à couvrir une gamme d'associations symbiotiques entre les champignons et les racines des plantes. Les mycorhizes (signifiant mycètes et racines) sont des relations de mutualisme qui se développent entre environ 80% de toutes les plantes terrestres et un nombre limité d'espèces fongiques filamenteuses. Ces relations impliquent le transfert des nutriments dans les deux sens. Le champignon transfère les nutriments inorganiques, en particulier, le phosphore et l'azote, du sol à la plante, et cette dernière transfère à son tour principalement, des glucides. Dans les environnements humides, les champignons mycorhiziens augmentent la disponibilité des nutriments, en particulier le phosphore. Alors que dans les environnements arides, où les nutriments ne limitent pas la croissance des plantes, les mycorhizes aident à l'absorption d'eau.

Les associations mycorhiziennes peuvent être divisées en plusieurs types de base en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et des espèces fongiques et végétales impliquées.

3.2.2 *Agrobacterium* et maladie de la galle du collet

De toute évidence, certaines interactions microbe-plante sont bénéfiques pour les deux partenaires. Cependant, d'autres impliquent des agents pathogènes microbiens qui nuisent ou même tuent leur hôte. *Agrobacterium tumefaciens* est une α -*Proteobacteria* étudiée intensivement depuis plusieurs décennies.

Le microbe infecte son hôte à travers une porte d'entrée (plaie ou blessure). *A. tumefaciens* n'induit la formation de tumeurs que s'il contient un plasmide appelé leplasmide Ti (Ti pour *tumor inducing* : induction de tumeur) qui code pour les gènes d'infection et de virulence. Parmi ces gènes, on trouve 21 gènes *vir* (*vir* pour virulence), trouvés dans six opérons distincts (**Figure 9**). Les gènes *vir* ne sont pas exprimés lorsque *A. tumefaciens* vit de façon saprophyte dans le sol. Ils sont induits par la présence de composés phénoliques et de monosaccharides végétaux dans un environnement acide (pH 5,2 à 5,7) et frais (inférieur à 30°C). Après l'infection, une partie du plasmide Ti appelée ADN transféré (ADN-T) est intégrée dans le génome de la plante sous l'action de certains gènes *vir*. L'ADN-T porte les gènes pour la formation de tumeurs et également pour la synthèse d'un certain nombre d'acides aminés modifiés

appelés opines. Ces dernières sont produites par les cellules végétales transformées par l'ADN-T et sont une source de carbone et d'azote, et parfois de phosphate, pour les cellules parasitaires d'*A. tumefaciens*. De plus, l'ADN-T dirige la surproduction de phytohormones qui provoquent une croissance et une reproduction non régulées des cellules végétales, générant ainsi une tumeur.

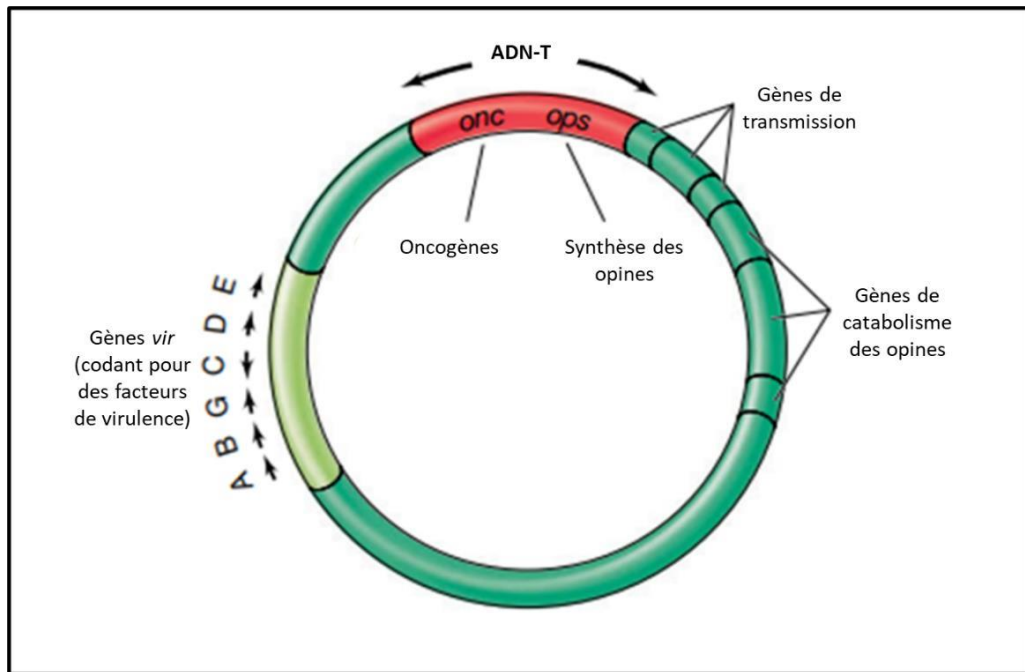


Figure 9. Structure du plasmide Ti d'*Agrobacterium tumefaciens*. L'ADN-T est la région transférée à la plante. Les flèches indiquent la direction de transcription de chaque gène. L'ensemble du plasmide Ti est d'environ 200 kilobases (Kpb) d'ADN et l'ADN-T est d'environ 20 Kpb (Madigan *et al.* 2018).

- a) Les autotrophes absorbent l'ion sulfate pour élaborer les acides aminés sulfurés (méthionine, cystine, cystéine... kératine...etc., qui ont un rôle dans les ponts disulfurés : rôle dans la structure tertiaire). Le soufre organique ainsi constitué va se retrouver à chaque maillon de la chaîne trophique. La matière organique morte ainsi que les excréments fournissent à nouveau des ions sulfates à l'environnement et ainsi de suite...
- b) Comment se forme l'ion sulfate ?
 - En milieu aérobie : si la quantité d'oxygène est suffisante, l'ion sulfate se forme dans le sol et dans l'eau par oxydation du soufre (fig. 3.4.2) ou

même d'hydrogène sulfuré (H_2S) gaz qui s'échappe des sédiments anaérobies profonds, réintégrant ainsi le cycle. Le H_2S , gaz mal odorant très toxique, s'oxyde pour donner du soufre. Cette réaction se produit pendant la chimiosynthèse (1), au cours de laquelle une certaine énergie se libère. Cette énergie est alors utilisée par les bactéries pour élaborer leurs propres substances organiques. Grâce à un processus de photosynthèse (2), des microorganismes pigmentés parviennent à participer à une assimilation d'acide carbonique et à oxyder H_2S , ce qui donne du soufre. Si le milieu ambiant reste aérobie, le soufre sera à nouveau transformé en ions sulfate sous l'action d'autres microorganismes ;

- En milieu anaérobie : aux endroits où on rencontre des ions sulfates dans des conditions anaérobies, par exemple dans la vase noire (Fig. 10) sous la couche superficielle de flaques et de boue, les bactéries réductrices transforment les sels en H_2S . Ce gaz remonte et est à son tour oxydé ;

c) l'autre importance que revêt le cycle du soufre, est l'influence positive qu'il exerce sur le cycle du phosphore (Fig. 10). le phosphore qui est généralement présent dans des concentrations limitées, est transformé en ions solubles à partir d'une substance insoluble chaque fois que les sédiments contiennent du sulfure de fer.

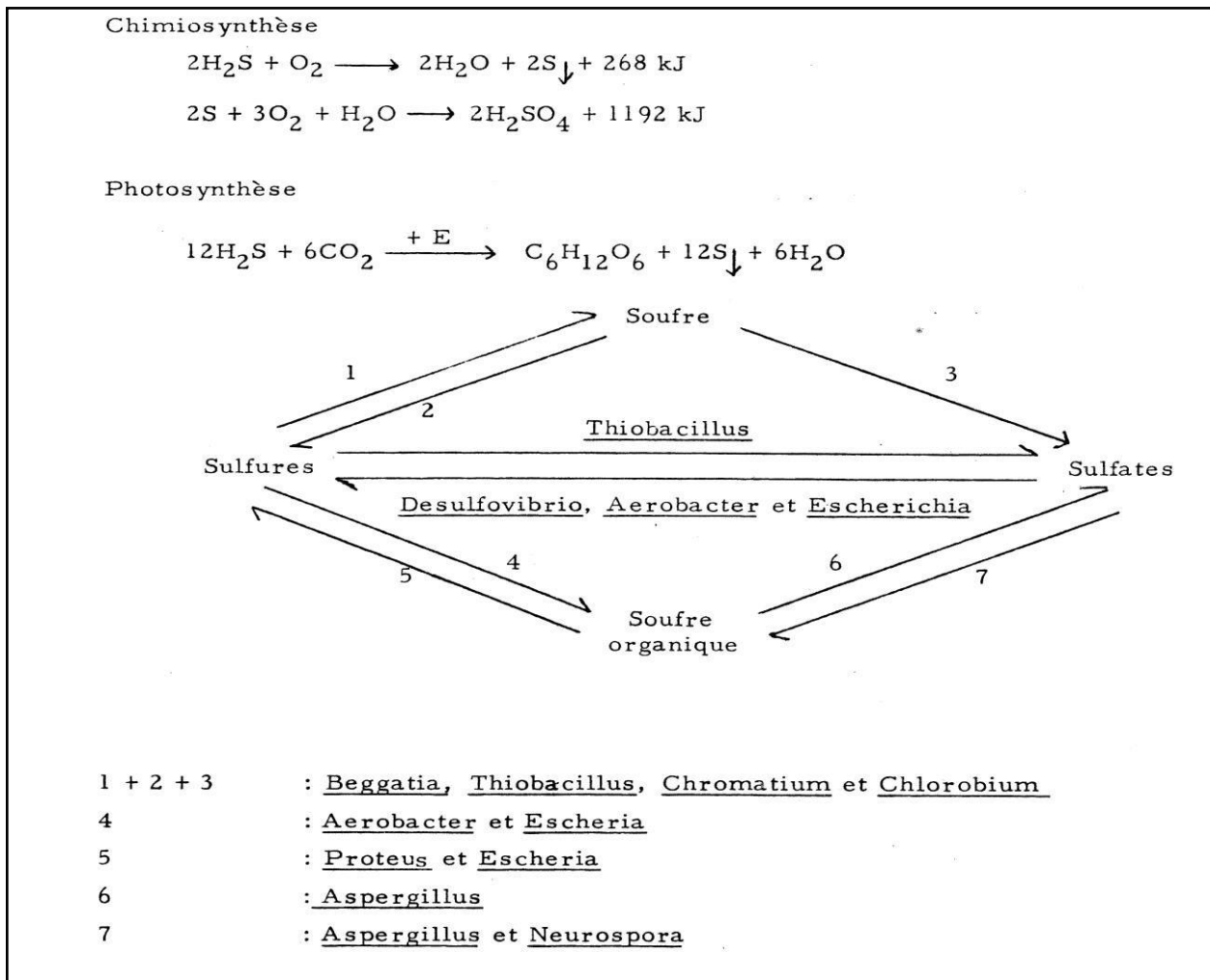


Figure 10 : schéma des réactions chimiques lors du cycle du soufre. Et les microorganismes qui y participent.

3.4.3. Action de l'homme.

Le dioxyde de soufre (SO_2) qui normalement ne constitue qu'une phase momentanée au sein de la fraction gazeuse du milieu est devenue de plus en plus important au cours de la dernière décennie. Ceci est du à l'augmentation de l'oxydation de combustion qui a élevé sa concentration dans l'atmosphère. Ce qui a pour conséquence les neiges et les pluies sont plus acides:

- a) Dans le sol cela entraîne une augmentation du lessivage qui mène vers la podzolisation des sols. Ce qui entraîne un appauvrissement des sols et par conséquent diminue la productivité des écosystèmes forestiers. L'exemple en Suède montre que les pluies ont atteint un

pH de 4,5 ; elles ont été enrichies en H₂SO₄ à cause des émissions de gaz riches en SO₂ ce qui a provoqué :

- l'appauvrissement des sols suivi d'une diminution de la productivité des écosystèmes forestiers d'essence résineux
- b) Dans l'eau l'abaissement du pH est une menace sérieuse pour la vie aquatique ainsi, le Saumon est éliminé à un pH inférieur à 5,3

4. Cycle du Phosphore

4.1. Introduction.

Le phosphore constitue un des composants essentiels de la matière vivante. Il se rencontre à des taux relativement élevés. En effet, il a une grande importance du point de vue biologique, on le trouve dans diverses molécules phosphorylées tels que les nucléotides ou encore les phospholipides...etc.

4.2. Le cycle proprement dit

- i. Le cycle du phosphore est assez simple et qualifié « d'ouvert » du fait de la sédimentation qui a lieu dans les couches profondes des océans. Le phosphore est en effet, constamment prélevé au cycle. En outre, les minéraux et les sols contenant du phosphore sont sans cesse lessivés, par les eaux de pluies. On constate ainsi une perte constante à l'extérieur du cycle (Fig. 3.5.1).
- ii. La minéralisation de la matière morte libère en outre du phosphore, tant sur terre que dans l'eau. Les organismes eux-mêmes rejettent directement des phosphates dans leurs excréments ; ces phosphates réintègrent donc le milieu ambiant. C'est sous cette forme que ces sels sont absorbés par les végétaux. A partir de ce moment là ils circulent dans la chaîne alimentaire. Au sein de l'océan, le phosphate en solution est fixé dans le cytoplasme du phytoplancton qui en passant par le zooplancton aboutit dans l'organisme des poissons, des oiseaux et chez l'homme. Lorsque la minéralisation d'organismes marins morts s'opère à de très grandes profondeurs, ces phosphates sont perdus .

Les oiseaux marins qui nichent sur les rochers côtiers mais qui vont chercher leur nourriture en mer (tel les Cormorans), ramènent de grande quantité de phosphate vers le milieu terrestre

(=guano). L'homme ramasse ces déchets (= guano) pour les utiliser comme engrais pour l'agriculture (60000 t/an de P), ce qui est loin de compenser les 2000000 tonnes de phosphates extraites chaque année des gisements et lessivés rapidement après utilisation comme engrais.

Ainsi, le phosphate constitue et constituera encore longtemps un facteur limitant pour la fertilité et donc pour la productivité de région étendue de la terre (6).

Chapitre V. Relations non symbiotiques entre plantes et microorganismes du sol

L'influence de la végétation sur la microflore s'exerce soit :

- ✓ directement par les apports de substances énergétiques, stimulantes ou inhibitrices,
- ✓ soit indirectement par modification du microenvironnement.

Inversement, la microflore agit directement ou indirectement sur la nutrition de la plante, et sur son environnement.

V.1. Interactions au niveau de la racine: rhizosphère

On appelle rhizosphère la partie du sol influencée par la présence de la racine (Figure 11). On distingue en général trois zones dans la rhizosphère:

- la rhizosphère *sensu stricto*, mince couche de sol qui adhère fortement à la racine mais qui peut en être détachée par lavage et agitation modérée dans l'eau,
- le rhizoplan, dont la microflore est extraite par agitation vigoureuse des racines déjà traitées,
- l'endorhizosphère représentée par les espaces intercellulaires du cortex colonisés par les microorganismes.

Dans la rhizosphère, la microflore est profondément modifiée sous l'effet des exsudats de la racine, des résidus cellulaires, ainsi que des actions de la racine sur l'environnement (modification des conditions d'oxygénation, de concentration saline, etc). En retour, l'activité des microorganismes est importante pour la plante : mise à disposition ou compétition pour les éléments nutritifs, action sur la morphologie de la racine. C'est l'ensemble de ces interactions qui est appelé "**effet rhizosphère**"(3) .

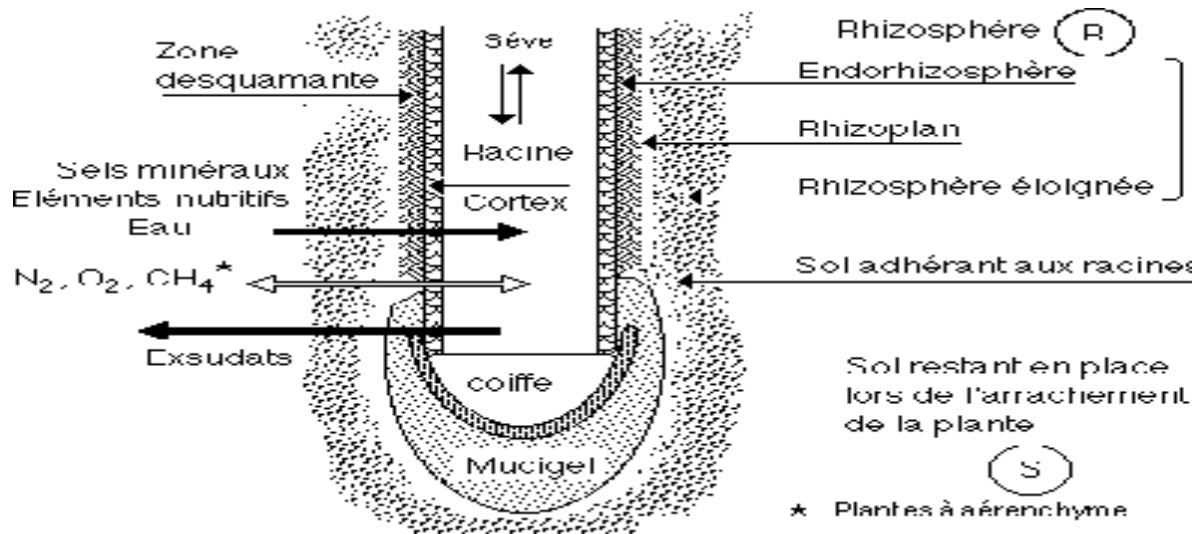


Figure 11. Schéma de la rhizosphère

V.2. Anatomie de la racine

La racine comporte :

- **Un méristème apical** produisant des cellules dans deux directions:
 - vers l'apex (extrémité) de la racine, les cellules de la coiffe qui se détachent continuellement et sont remplacées par le méristème;
 - vers l'arrière, des cellules qui formeront la racine proprement dite, différenciées en cylindre central, cortex et épiderme.
- **Les cellules du cylindre central** sont organisées en un réseau vasculaire, bordé par un endoderme compact de cellules parfois lignifiées.
- **Le cortex** est au contraire formé de grandes cellules en tissu lâche, les espaces intercellulaires pouvant être assez vastes et résulter de la lyse de certaines cellules. La longévité du cortex est variable suivant les plantes. Pour les monocotylédones, le cortex est entièrement d'origine primaire (c'est à-dire qu'il provient du méristème apical) alors que pour les autres plantes, des divisions ultérieures donnent naissance à un cortex secondaire.
- **Les cellules de l'épiderme** forment la surface qui est tortueuse et crevassée, à tel point qu'il est parfois difficile de suivre sur des coupes microscopiques le tracé de la surface externe de la racine.

- **Le mucilage** qui recouvre la surface. C'est un polysaccharide hydraté d'un poids moléculaire élevé formé par différenciation de la paroi de certaines cellules de l'épiderme ou par excrétion. Le mucilage est particulièrement épais (plusieurs mm) au niveau de la coiffe.

- **Les poils absorbants**, structures très fragiles qui ne restent fonctionnelles que quelques semaines ou même quelques jours, assurent le prélèvement des aliments de la plante. Ils se forment à partir d'une cellule épidermique, leur diamètre (5-15 μ) et longueur (80-1500 μ) varient suivant les plantes.

V.3.Modifications du microenvironnement par la racine

La racine modifie son environnement immédiat par apport de substrats énergétiques (exsudats, mucigel) favorisant le développement microbien et par consommation ou libération d'oxygène.

V.3.1.Exsudats racinaires

Ce sont principalement des sucres, des acides organiques et des acides aminés. L'exsudation varie suivant les espèces végétales, le rythme nyctéméral, l'âge de la plante, son état physiologique, etc. Les exsudats peuvent assurer la croissance bactérienne. On le vérifie en associant une culture avec une racine en milieu minéral minimum: la croissance des hétérotrophes est alors dépendante des exsudats organiques.

De nombreuses observations montrent que l'activité des microorganismes de la rhizosphère est influencée par les exsudats (7) .

Par exemple, l'exsudation augmentant quand la plante est en mauvais état physiologique (sécheresse, attaque parasitaire, coupe des parties aériennes), l'activité microbienne augmente alors dans la rhizosphère. La fixation d'azote par les bactéries rhizosphériques augmente avec l'éclaircissement qui favorise la photosynthèse.

V.3.2.Mucigel

Dans l'endorhizosphère, des relations trophiques encore plus étroites existent entre les bactéries et la racine. Le mucigel sécrété par la racine est utilisé par la microflore rhizosphérique pour la synthèse de polysaccharides de faible poids moléculaire intervenant dans la genèse de la structure du sol.

V.3.3.Potentiel d'oxydoréduction

Suivant les conditions hydriques du sol, la racine a des effets opposés en ce qui concerne l'oxygénation de la rhizosphère (figure 12).

- ✓ **En sol exondé**, la respiration de la racine crée un gradient centrifuge d'exsudats racinaires et centripète d'oxygène. L'oxygène est activement consommé par les racines et le rhizoplan présente des conditions réductrices.
- ✓ **En sol inondé**, les plantes, adaptées à la submersion, possèdent des canaux aérifères qui permettent un transport inactif des gaz entre l'atmosphère et la rhizosphère. Ce phénomène est particulièrement net dans le cas du riz inondé, l'oxygène et l'azote étant transportés vers les racines et le méthane produit dans la rhizosphère étant transporté vers l'atmosphère. On observe alors un gradient centrifuge d'exsudats racinaires et d'oxygène et un rhizoplan oxydé.

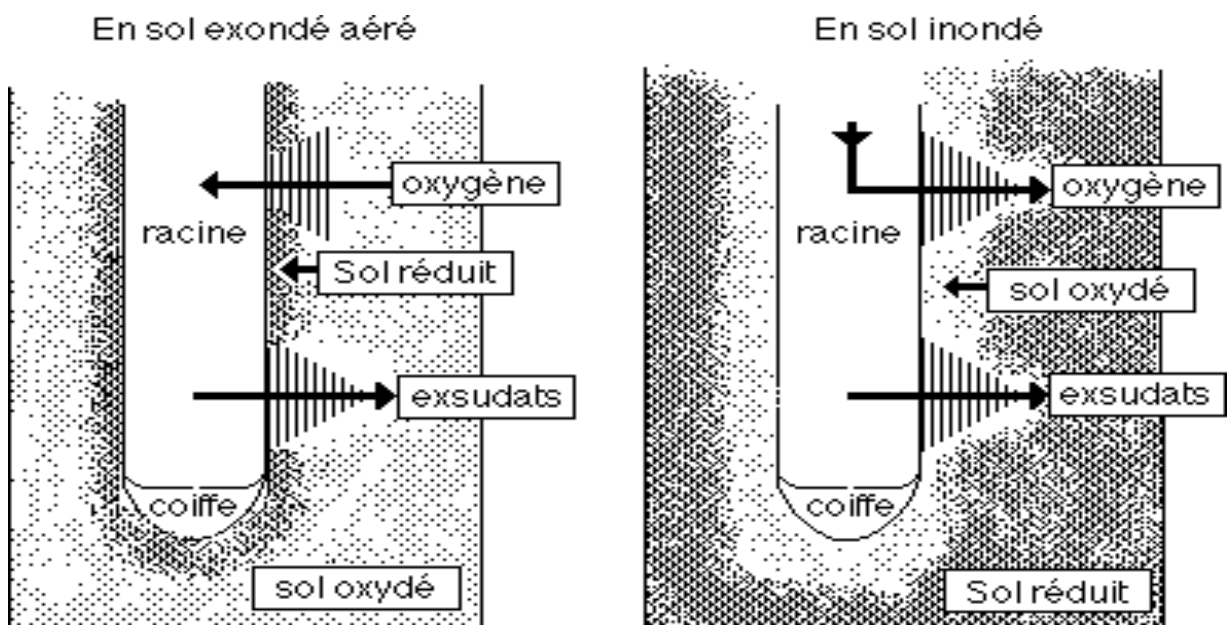


Figure 12. Schéma des gradients d'exsudats et d'oxygène dans la rhizosphère en sol exondé et en sol submergé(9)

V.3.4. Influence de la racine sur le développement des microorganismes

On mesure l'effet de la racine sur la microflore (effet rhizosphère) par le rapport R/S entre la densité microbienne dans la rhizosphère (en général *sensu lato*, rhizosphère, rhizoplan et endorhizosphère) et dans le sol éloigné des racines. Ce rapport peut présenter des valeurs très différentes suivant les espèces ou groupes de microorganismes :

Organismes	R/S
Bactéries totales	23
Actinomycètes	7
Champignons	12
Protozoaires	2
Algues	0,2

- ✓ Chez les bactéries, l'effet rhizosphère est particulièrement important pour les dénitrifiants, les sulfatoréducteurs et les ammonifiants.
- ✓ La proportion de bactéries halo-intolérantes est plus forte dans la rhizosphère que dans le sol éloigné, ce qui peut s'expliquer par l'existence d'un gradient de salinité au voisinage de la racine où la concentration est minimale.
- ✓ L'effet rhizosphère est aussi plus marqué pour les espèces bactériennes externes que pour les espèces internes aux agrégats.

V.4. Litières

Lorsqu'ils meurent, les organes aériens des plantes tombent au sol et forment la litière. Celle-ci fournit à la microflore hétérotrophe des quantités de substrat énergétique parfois considérables : plus de 5 t de carbone ha sous forêt tropicale.

La composition qualitative et quantitative de la litière est très variable suivant le type de couvert végétal. L'apport d'azote par la litière est estimé à 30 kg ha/an sous hêtraie en France et 220 kg sous forêt tropicale humide au Congo. Trois aspects sont importants dans les relations directes ou indirectes entre litières et microorganismes.

V.4.1.Redistribution des cations dans le profil

Les litières ont des teneurs élevées en cations (par exemple 2% de calcium, soit un apport de 200 kg/ha/an sous forêt tropicale) qui s'accumulent donc en surface. Sous l'action des pluies ces cations migrent ensuite vers la profondeur avec des vitesses variables: le calcium lentement, le fer plus rapidement, et l'aluminium encore plus vite. Une redistribution verticale des cations dans le profil peut alors modifier les conditions physico-chimiques de croissance des microorganismes dans le sol.

V.4.2.Décomposition de la litière par les microorganismes

- Les différents composés organiques des litières sont dégradés à des vitesses variables.
- On constate que les sucres (formant environ 15 % de la matière organique de la litière) ont totalement disparu au bout d'un an, la cellulose et l'hémicellulose (5 %) en 2 ou 3 ans, la lignine (40 %) en 7 ans, les phénols (5 %) en 15 ans.
- Ces vitesses sont également variables suivant le type de litière, en raison des effets inhibiteurs (allélopathie) ou stimulants sur la croissance des microorganismes (6).

V.4.3.Inhibition ou stimulation de la croissance par la litière

La composition chimique des différentes litières végétales étant très variable, il en est de même pour leur influence sur le développement des différents groupes de microorganismes. Par exemple, la densité bactérienne dans l'horizon de surface sous litière de bouleau est deux fois plus forte que sous litière d'Épicéa, alors que les champignons sont deux fois moins nombreux (3).

Une litière de chêne a un effet inhibiteur sur la croissance de *Bacillus megaterium*, alors que la litière de hêtre stimule sa croissance. Certaines bactéries fixatrices d'azote (*Beijerinckia*) ou nitrifiantes sont inhibées par les litières de forêts tropicales humides, mais stimulées par des litières tropicales sèches (*Acacia albida*).

CHAPITRE VI. Microbiologie et gestion des risques

Role des microorganismes dans la dégradation et la restauration de la ressource eau

Nombreuses maladies qui affectent la population de la planète sont liées en partie à l'insuffisance de l'évacuation des eaux usées domestiques et industrielles. Ces dernières sont devenues de plus en plus énormes devant le développement industriel, l'essor économique, l'expansion démographique et la grande densité des zones urbaines. Ces eaux usées constituent en absence d'un traitement un danger croissant pour la santé humaine et le milieu naturel à cause de leurs charges en matières chimiques toxiques et de micro-organismes pathogènes (bactéries, virus, parasites...). Elles constituent donc des menaces permanentes pour la santé aussi bien humaine qu'animale.

Selon l'OMS, 80% des maladies qui affectent la population de la planète sont liées à la pollution des eaux [7]. En effet, la plupart des microorganismes qui sont à l'origine des grandes épidémies historiques d'origine hydrique, ont pour habitat normal les intestins de l'homme et certains animaux à sang chaud. C'est pourquoi, le contrôle et la surveillance de la qualité de l'eau notamment les eaux usées paraissent de plus en plus indispensables.

1 Caractéristiques des eaux usées :

On distingue trois grandes catégories d'eaux usées : les eaux domestiques, les eaux industrielles, les eaux pluviales.

Les cours d'eau ont une capacité naturelle d'épuration. Mais cette capacité a pour effet de consommer l'oxygène de la rivière et n'est pas sans conséquences sur la faune et la flore aquatiques. Lorsque l'importance du rejet excède la capacité d'auto-épuration de la rivière, la détérioration de l'environnement peut être durable. Les zones privées d'oxygène par la pollution entraînent la mort de la faune et de la flore ou créent des barrières infranchissables empêchant notamment la migration des poissons. La présence excessive de phosphates, en particulier, favorise le phénomène d'eutrophisation, c'est-à-dire la prolifération d'algues qui nuisent à la faune aquatique, peuvent rendre la baignade dangereuse et perturbent la production d'eau potable (4).

2. Les eaux domestiques

Elles proviennent des différents usages domestiques de l'eau. Elles sont essentiellement porteuses de pollution organique. Elles se répartissent en eaux ménagères, qui ont pour origine les salles de bains et les cuisines, et sont généralement chargées de détergents, de graisses, de solvants, de déchets organiques, etc. et en eaux "vannes" ; il s'agit des rejets des toilettes, chargés de diverses matières organiques

azotées et d'en germes fécaux.

La pollution journalière produite par une personne utilisant de 150 à 200 litres d'eau est évaluée à :

- de 70 à 90 grammes de matières en suspension
- de 60 à 70 grammes de matières organiques
- de 15 à 17 grammes de matières azotées
- 4 grammes de phosphore
- plusieurs milliards de germes pour 100 ml.

3. Les eaux industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures. Certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte. Elles sont mêlées aux eaux domestiques lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des usines de dépollution. Les grandes entreprises sont toutes équipées d'unités de traitement internes. En vingt ans, la pollution industrielle a été réduite de moitié. Ce sont actuellement les PME (garages, pressing, entreprises de peintures...) qui produisent plus de 90% de la pollution par déchets toxiques (8).

4. Les eaux pluviales

Elles peuvent, elles aussi, constituer la cause de pollutions importantes des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. L'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles), puis, en ruisselant, des résidus déposés sur les toits et les chaussées des villes (huiles de vidange, carburants, résidus de pneus et métaux lourds...). En outre, lorsque le système d'assainissement est dit "unitaire", les eaux pluviales sont mêlées aux eaux usées domestiques. En cas de fortes précipitations, les contraintes de préservation des installations d'épuration peuvent imposer un déversement ("délestage") de ce "mélange" très pollué dans le milieu naturel. Enfin, dans les zones urbaines, les surfaces construites rendent les sols imperméables et ajoutent le risque d'inondation à celui de la pollution (5).

Comment mesure-t-on les matières polluantes contenues dans les eaux usées ?

Trois principaux paramètres mesurent les matières polluantes des eaux usées domestiques :

- Les matières en suspension (MES) exprimées en mg par litre. Ce sont les matières non dissoutes de diamètre supérieur à 1 µm contenues dans l'eau. Elles comportent à la fois des éléments

minéraux et organiques et décantent spontanément.

- La demande biochimique en oxygène (DBO), exprimée en mg d'oxygène par litre. Elle exprime la quantité de matières organiques biodégradables présentes dans l'eau. Plus précisément, ce paramètre mesure la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction des matières organiques grâce aux phénomènes d'oxydation par voie aérobie. Pour mesurer ce paramètre, on prend comme référence la quantité d'oxygène consommé au bout de cinq jours. C'est la DBO5, demande biochimique en oxygène sur cinq jours.

La demande chimique en oxygène (DCO), exprimée en mg d'oxygène par litre. Elle représente la teneur totale de l'eau en matières oxydables. Ce paramètre correspond à la quantité d'oxygène qu'il faut fournir pour oxyder par voie chimique ces matières.

Les teneurs en azote et en phosphore sont également des paramètres très importants, à cause des problèmes d'eutrophisation expliqués plus haut. Cette fragilité du milieu naturel a été prise en compte par la réglementation avec la notion de "zones sensibles".

Pour évaluer la traitabilité d'une eau usée par voie biologique on prend en compte :

- Le ratio DCO/DBO5 qui ne doit pas excéder 3. Au delà la fraction représentée par la DCO « dure » (non biodégradable) est trop importante par rapport à la fraction de la DCO biodégradable (mesurée par la DBO5).
- Le ratio C/N/P qui idéalement devrait être 100/5/1 pour une digestion optimale de la pollution par les biomasses épuratrices (9).

Les eaux usées urbaines contenant aussi des contaminants microbiologiques, bactéries, virus pathogènes et parasites, le rejet des eaux usées à proximité de lieux de baignade ou de zone d'élevage de coquillages fait un risque pour la santé. Il doit faire l'objet de précautions particulières.

Pour quantifier globalement les matières polluantes contenues dans les eaux usées domestiques (et assimilées), on utilise comme unité de mesure l' "équivalent-habitant" : EH. La notion d'équivalent habitant est utilisée pour quantifier la pollution émise par une agglomération à partir de la population qui y réside et des autres activités non domestiques. Selon la définition de la directive européenne du 21 mai 1991 "relative au traitement des eaux urbaines résiduaires", un équivalent -habitant représente une DBO5 de 60 g d'oxygène par jour. A titre d'exemple, la quantité de matières polluantes produites par Paris représente 13,4 millions d'équivalents-habitants par jour. Cette notion sert aussi à déterminer

la capacité de traitement d'une station d'épuration urbaine.

Les organismes vivants et leur rôle dans le traitement des eaux usées : Ces multiples espèces peuvent varier en fonction des effluents traités, des conditions climatiques, de la charge organique, de la profondeur d'eau.

Les principaux groupes sont les bactéries, les algues et le zooplancton.

Les bactéries Ce sont des micro-organismes qui peuvent dégrader et assimiler une grande partie de la matière organique contenue dans les eaux usées. Ces bactéries rejettent dans le milieu des produits de dégradation qui sont les matières minérales solubles et les gaz dissous. En fonction de l'équilibre du milieu et en particulier des taux d'azote et de phosphore, les bactéries les mieux adaptées se développent rapidement et dominent les autres espèces. On constate une régulation naturelle du taux bactérien en fonction de la matière organique présente dans le milieu et des autres conditions de développement (température, ensoleillement, pH, oxygène dissous...). Quel que soit le processus biologique considéré, on trouve : Les bactéries aérobies qui transforment en présence d'oxygène dissous, la charge organique dissoute en matières minérales (nutriments) et gaz. Les bactéries du cycle de l'azote assurent la nitrification (formation de nitrites) et la nitrification (formation de nitrates).

Les bactéries anaérobies qui sont essentiellement méthanogènes (formation de méthane) réalisent la transformation de la matière organique au niveau des sédiments.

Les algues : Ce sont des plantes microscopiques planctoniques. Elles sont représentées dans les lagunes principalement par les espèces suivantes : algues bleues (cyanophycées) proches des bactéries, algues vertes (chlorophycées), algues brunes (chrysophycées), eugléniens.

Dans le cas d'un bon fonctionnement, les bassins de lagunage (surtout ceux en fin de filière) ont une couleur verte plus ou moins prononcée. La chlorophylle contenue dans les micro-algues leur permet d'utiliser la lumière du soleil comme source d'énergie : c'est la base du processus de la photosynthèse. Les algues se développent à la lumière en prélevant dans l'eau du gaz carbonique et des sels minéraux et en y rejetant de l'oxygène. Les algues sont ainsi les principaux producteurs d'oxygène des lagunes. Cette production s'effectue essentiellement dans la couche d'eau superficielle (jusqu'à 40-50 cm). Dans les bassins du lagunage les microalgues se succèdent au cours du temps. Cela constitue une pollution apparemment négligeable car l'épaisseur des sédiments dans les derniers bassins de lagunage ne dépasse pas les 5 à 10 centimètres. L'effluent rejeté dans le milieu récepteur contient donc des microalgues en suspension représentant indirectement une pollution particulaire organique importante (leur teneur en matières en suspension pouvant atteindre 0.2 kg/m³). Les bassins de lagunage sont classés parmi les procédés moyennement performants permettant un rejet de niveau d (120 mg/l de MES). Il n'existe pas de station de lagunage naturel qui possède une unité de récupération et de

valorisation des microalgues rejetées . Y.Libes Les eaux usées et leur épuration Le zooplancton : La faune a une importance essentielle dans le fonctionnement des lagunes et de nombreux organismes participent activement à l'épuration du milieu (prédat ion, filt ration...) On trouve : Les protozoaires, qui sont des organismes unicellulaires prédat eurs des bactéries. Ils constituent le seul zooplancton hivernal réellement abondant dans les derniers bassins de lagunage. Les rotifères, sont des vermiens microscopiques, ils filt rent activement le phytoplancton et sont capable de s'accommoder à des taux d'oxygène dissous très faibles. Les copépodes, sont des crustacés de petites tailles qui nagent à la surface de l'eau et ont un développement limité dans l'espace et le temps. Leur spectre alimentaire est pourtant très étendu : microalgues, proies vivantes... Les cladocères, sont également de petits crustacés. Les daphnies sont les plus répandues et les plus caractéristiques. Leur rôle est intéressant car elles favorisent l'abattement du taux des matières en suspension. Elles permettent ainsi un éclaircissement du milieu et la pénétration de la lumière. Par contre elles provoquent une diminut ion du taux d'oxygène dissous à cause de leur respiration et de l'élimination des microalgues.

5.Mécanisme d'élimination de la matière organique :

Le processus biologique d'épurat ion par cette écotechnique permet l'élimination des matières organiques biodégradables avec product ion de sels minéraux. Ceci conduit au phénomène d'eut rophisation qui se manifeste par une prolifération de micro-algues qui croissent sous l'effet conjugué de la présence des dérivés azotés et phosphorés dans l'eau et de la photosynthèse due aux radiat ions solaires. Ce phénomène d'eut rophisation si nuisible pour les eaux naturelles, s'avère profitable dans le processus du lagunage. La dest ruction de la mat ière organique s'opère grâce à une association biologique extrêmement large.

6.Performances du lagunage au niveau bactériologique : C'est un avantage essentiel que présente le lagunage par rapport aux techniques " intensives "

d'épurat ion des eaux usées. Le procédé de traitement par lagunage est en effet considéré comme parfaitement efficace au point de vue bactériologique. En matière de décont amination microbienne, on parle souvent d'abat tements de la charge bactériologique en puissance de 10 (unité log 10 = UL). Sauf cas particulier, on recherche une réduct ion d'au moins 4 UL, soit un rendement de 99.99%. Cette efficacité est due à de multiples facteurs d'ordre physico- chimique ou biologique. L'épuration microbiologique dépend du temps de séjour mais aussi du nombre de bassins mis en œuvre. Trois bassins en série (abattement de 4 UL) semblent en général un compromis acceptable pour un traitement principal par lagunage naturel. Y.Libes Les eaux usées et leur épuration

6.1.Les différents types de lagunage :

Le lagunage est dépendant des facteurs climatiques surtout de la température (qui va favoriser l'action

des bactéries, l'évaporation), du vent (qui va favoriser les échanges gazeux, le brassage de l'eau); la pluviométrie (pour le niveau de l'eau), et l'ensoleillement (qui permet la photosynthèse). Le rendement épuratoire varie selon la taille, la forme et le nombre de bassins qui est fonction du temps de séjour et des conditions climatiques locales. Un système de lagunage est généralement constitué de trois bassins en série. Sur ce modèle de base, de nombreuses filières de traitement peuvent être adaptées selon les besoins (1).

6.1.1.Le lagunage naturel (aérobie)

Le rayonnement solaire est la source d'énergie qui permet la production de matière vivante par les chaînes alimentaires aquatiques (chaînes trophiques). L'épuration des effluents est réalisée essentiellement par des bactéries aérobies dont l'oxygénation est assurée par l'action chlorophyllienne de végétaux qui participent aussi à la synthèse directe de la matière organique.

6.1.2.Le lagunage aéré

Contrairement au lagunage naturel où l'oxygène est fourni par la photosynthèse et le transfert à l'interface eau-atmosphère, dans le cas du lagunage aéré l'oxygène est produit artificiellement (aérateurs mécaniques, insufflation d'air...) A la différence des "boues activées", il n'y a pas de recirculation de la culture bactérienne. C'est donc un procédé intermédiaire entre le lagunage naturel et les procédés biologiques traditionnels. Le traitement se compose de deux types de lagunes : lagune d'aération et lagune de décantation.

6.1.3.Le lagunage anaérobie

Dans ces lagunes, le rendement d'épuration escompté dépend essentiellement du développement d'une fermentation méthanique. Il n'est de ce fait applicable que sur des effluents à fortes concentrations et, le plus souvent, à titre de pré-traitement avant un deuxième stade d'épuration de type aérobie. Les principes fondamentaux de ce système d'épuration sont surtout utilisés en climat tropical (6) .

6.1.4.Le lagunage à haut rendement

C'est une technique particulière où l'épuration des eaux usées est obtenue grâce à une production algale particulièrement intensive. Dès sa création, le lagunage à haut rendement a été considéré non seulement comme une technique d'épuration des eaux usées, mais aussi comme un procédé de production d'une biomasse algale d'intérêt alimentaire, permettant donc une valorisation des eaux usées des villes et des industries agroalimentaires. Le lagunage à haut rendement offre aujourd'hui certainement le plus grand potentiel de développement biotechnologique basé sur les micro-algues.

6.1.5.Pourquoi le lagunage n'est il pas généralisé ?

Le lagunage est dans certains domaines plus performant que les stations d'épuration, il représente des

coûts d'investissement et de fonctionnement bien inférieur également. En revanche il nécessite une surface importante par équivalent habitant et des temps de séjours de l'eau usée extrêmement important. Une telle technologie n'est donc pas compatible avec les besoins d'une grande agglomération en terme d'emprise au sol et de flux quotidiens à traiter

CHAPITRE VII . Protection de l'environnement ; l'épuration des eaux pour l'alimentation humaine

Traitement de l'eau brute pour la rendre potable

L'eau est prélevée pour les deux tiers dans les nappes d'eau souterraines. Ces nappes résultent de l'infiltration des eaux de pluie dans le sol puis de leur circulation dans le sous-sol, à travers une roche poreuse ou fissurée.

Le tiers restant provient des eaux qui s'écoulent à la surface du sol - appelées eaux superficielles ou eaux de surface - telles les rivières et les fleuves.

Ainsi, les captages sont majoritairement réalisés dans les nappes souterraines. Ces dernières, en effet, présentent des avantages indéniables : leur eau, épurée par le sol, est généralement de bonne qualité et moins vulnérable aux pollutions. A l'inverse, les eaux superficielles sont exposées à tous les types de pollutions et de disponibilité variable selon les saisons.

Cependant l'eau brute captée en milieu naturel n'est pas toujours potable. Elle doit alors être acheminée par des canalisations jusqu'à une usine spécialisée dans le traitement de l'eau, qui la rend "potable" c'est à dire consommable sans risque.

Protéger la santé

A partir des recommandations émises par l'**Organisation Mondiale de la Santé (OMS)**, des réglementations nationales et internationales ont été mises en place afin d'éviter la présence de micro-organismes et de substances chimiques indésirables dans l'eau potable.

Les étapes de la production d'eau potable

L'eau brute subit donc plusieurs traitements :

Dégrillage et tamisage : L'eau est d'abord filtrée à travers une grille afin d'arrêter les plus gros déchets, puis elle passe dans des tamis à mailles fines retenant des déchets plus petits.

Clarification : elle permet de rendre l'eau limpide en la débarrassant des petites matières en suspension qu'elle contient.

Floculation/coagulation et décantation : Un produit chimique (chlorure de fer ou sulfate d'aluminium) est ajouté à l'eau qui provoque le regroupement (agglomération) des particules encore présentes (poussières, particules de terre, etc.). en flocons. Ceux-ci s'agglomèrent et se déposent au fond du bassin par décantation.

90 % des matières en suspension (MES) sont ainsi éliminées.

Filtration :

Pour éliminer les 10 % de MES restantes, l'eau traverse un filtre, lit de sable fin et/ou un filtre à charbon actif. La filtration sur sable élimine les matières encore visibles à l'oeil nu.

Les filtres à charbon actif retiennent en plus les micro-polluants, comme les pesticides et leurs

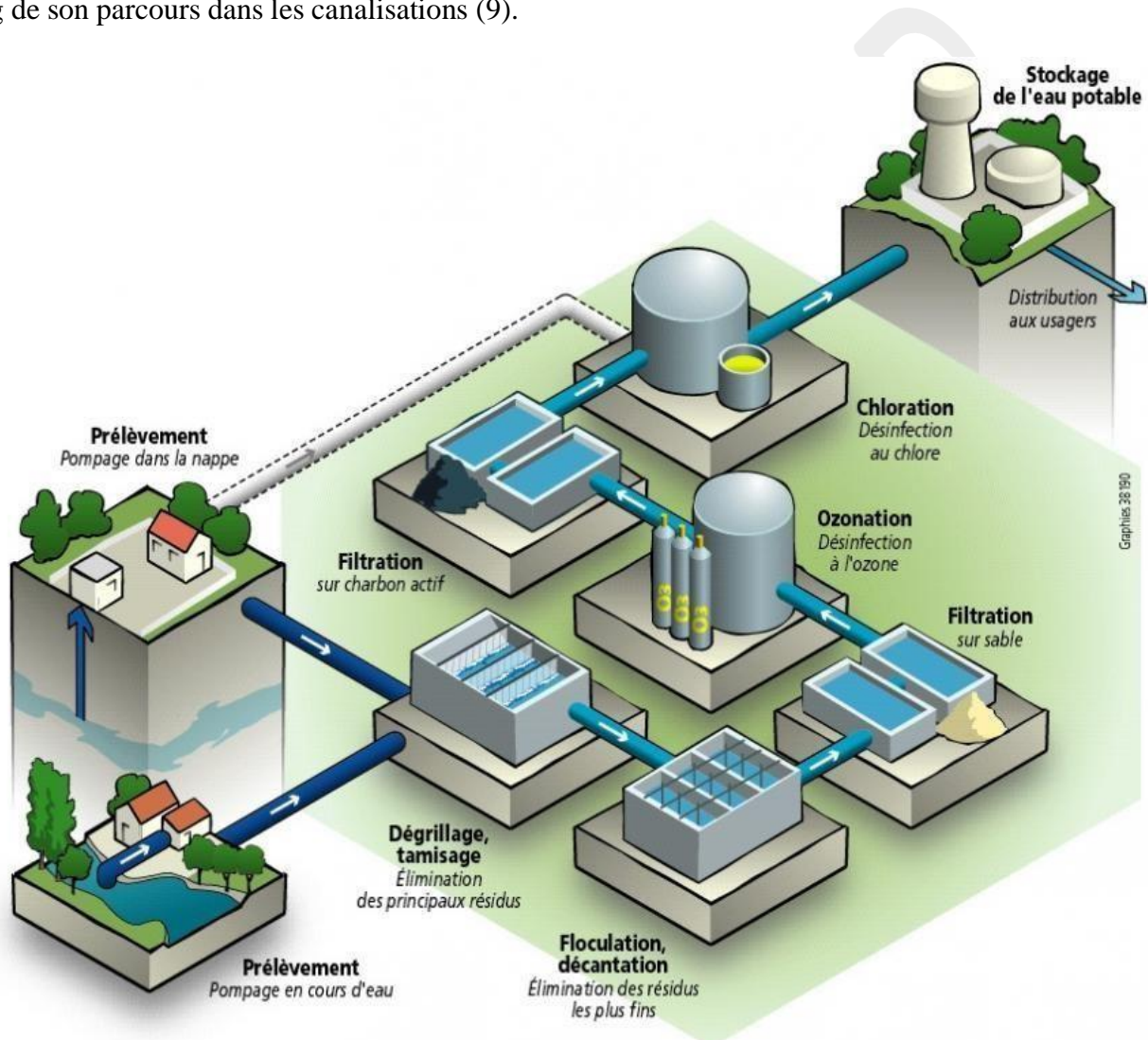
sous-produits, les composés à l'origine des goûts et des odeurs (cette filtration peut avoir lieu après la désinfection également car ils retiennent également des sous-produits de désinfection)

Il existe des procédés de filtration encore plus poussés comme la filtration sur membranes.

Désinfection : c'est la dernière étape : elle élimine tous les micro-organismes qui pourraient être dangereux pour notre santé.

Ozonation : L'eau est désinfectée grâce à l'ozone, qui a une action bactéricide et antiviral. Ce gaz, mélangé à l'eau, agit aussi sur les matières organiques en les cassant en morceaux. Il améliore également la couleur et la saveur de l'eau.

Chloration. Du chlore est ajouté à la sortie de l'usine de production et sur différents points du réseau de distribution afin d'éviter le développement de bactéries et de maintenir la qualité de l'eau tout au long de son parcours dans les canalisations (9).



Traitement des eaux usées

Les stations d'épuration sont tenues de traiter l'eau afin que lors de sa restitution dans le milieu naturel (rivière, fleuve,...) la qualité de l'eau respecte un cahier des charges (JO de la RF: arrêté 2février 1998) en termes de MES, pH, DCO, DBO, azote, métaux , etc...

Dans les stations, les traitements varient selon la nature des eaux usées et de la sensibilité à la pollution du milieu récepteur. Ils nécessitent des étapes successives faisant appel à des procédés physiques, chimiques, physico-chimiques et biologiques.

Les principales étapes :

Le dégrillage : à l'arrivée dans la station, les eaux usées passent à travers des grilles qui retiennent les déchets solides les plus grossiers (papiers, matières plastiques...). Il s'agit d'une simple étape de séparation physique.

Le dessablage : il permet d'ôter le sable et les graviers des eaux usées, qui se déposent au fond d'un bassin où ils sont récupérés

Le déshuilage et dégraissage : l'injection de bulles d'air permet de faire remonter les huiles et les graisses en surface d'où elles sont éliminées

La floculation/décantation : ce traitement physico-chimique permet d'éliminer une forte proportion des matières en suspension.

Le traitement biologique : le cœur du traitement consiste à faire dégrader les matières organiques dissoutes par des bactéries naturellement présentes dans ces eaux. Des dispositifs d'aération permettent d'insuffler de l'oxygène aux bactéries qui se développent en se nourrissant des matières organiques (6).

Quelques exemples de techniques de traitement biologique :

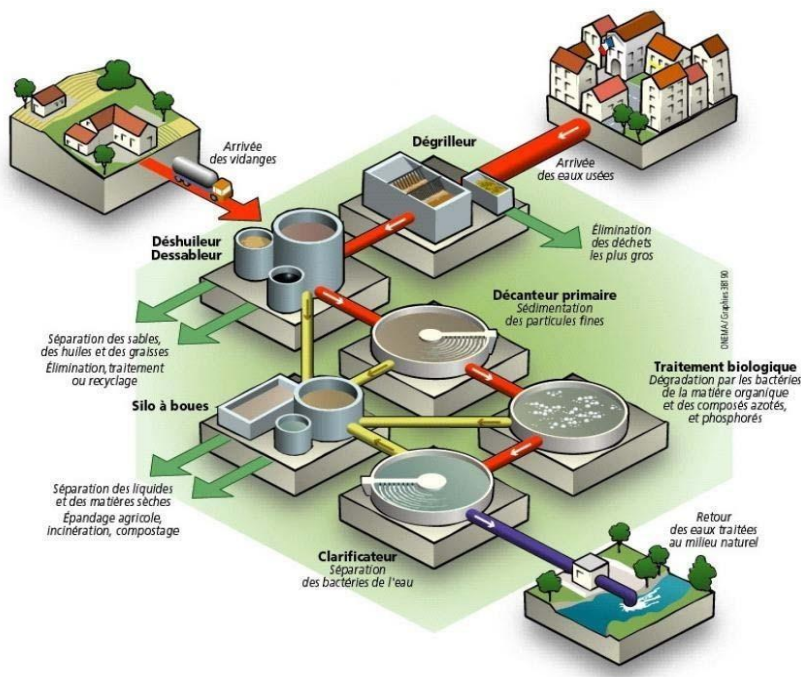
Les boues activées : ce procédé imite l'épuration naturelle observée dans les cours d'eau, en l'intensifiant : l'eau, dans laquelle on insuffle de l'air, est brassée pour faire se multiplier rapidement les microorganismes épurateurs, qui évoluent librement dans les eaux sales. Les bactéries ainsi sollicitées sont ensuite séparées de l'eau par décantation.

Le lagunage : ce procédé, plus rustique, revient à laisser faire la nature, en exposant les eaux usées à la lumière du soleil dans une série de bassins de faible profondeur. Les microalgues vivant dans ces eaux s'y développent. Elles dégagent ainsi de l'oxygène qui, ajouté à celui qui s'échange entre l'air et l'eau permet aux bactéries épuratrices de vite se reproduire.

Les biofiltres : ce procédé s'inspire de l'épuration naturelle opérée par les sols : l'eau usée passe à travers une couche formée de petites billes sur lesquelles les microorganismes épuratoires de cette eau affectionnent de se fixer. Le système est aéré artificiellement

La clarification : elle permet de séparer par décantation l'eau des bactéries qui forment des boues. Les eaux clarifiées sont acheminées vers une canalisation de sortie tandis que les boues sont évacuées vers la filière de traitement des boues.

L'eau qui sort d'une station de traitement des eaux usées n'est pas potable car elle contient encore des polluants et une charge microbienne résiduelle de faible concentration, que le milieu récepteur est en mesure de traiter naturellement (4).



Adoucissement et déminéralisation de l'eau : résines échangeuses d'ions

Pourquoi adoucir l'eau ?

Une **eau dure** est une eau riche en ions **calcium (Ca²⁺)** et / **ou magnésium (Mg²⁺)**. Elle ne présente aucun danger pour la santé et peut donc être consommée en tant qu'eau de boisson.

Mais elle peut être à l'origine de certains inconvénients tels que l'**entartrage** (dépôt de carbonate de calcium CaCO₃ ou de carbonate de magnésium MgCO₃) des appareils dans lesquels l'eau est chauffée (lave-linge, lave-vaisselle...) ou de traces sur des surfaces lavées (baignoires, lavabos, robinetterie).

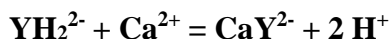
Utilisée lors de la toilette, elle peut être responsable d'une certaine sécheresse de la peau et des cheveux. D'autre part, le savon donne, en présence d'une eau dure, un précipité de carboxylate de calcium (R-COO)₂Ca et/ou de magnésium (R-COO)₂Mg, donc son pouvoir détergent sera réduit et le dépôt de ces précipités sur les textiles lors de la lessive rend le linge rêche.

La **dureté d'une eau** se mesure en **degré hydrotimétrique (°TH)** : 1°TH = 10⁻⁴ mol.L⁻¹ de Ca²⁺ et/ou Mg²⁺

Une eau est qualifiée de « douce » si son degré hydrotimétrique est inférieur à 15 ; elle est dite « dure » si son °TH est supérieur à 30.

La dureté moyenne de l'eau du réseau public français est de 45°TH

Principe du dosage basé sur la formation de complexes stables entre Ca²⁺ et/ou Mg²⁺ et l'EDTA (YH₄) ou son sel disodique (YH₂²⁻ + 2 Na⁺) :



La fin du dosage est repérée par colorimétrie avec comme indicateur le Noir d'Eriochrome T (NET) de couleur "lie de vin" en présence de Ca²⁺ (ou Mg²⁺) libres, et qui reprend sa teinte bleue lorsque Ca²⁺ puis Mg²⁺ sont tous complexés par l'EDTA.

Les réactions de complexation avec l'EDTA et la couleur du NET sont sensibles au pH.

Le dosage s'effectue à 9 ≤ pH ≤ 10 (tampon NH₄⁺/NH₃). De plus à ce pH, on évite les précipitations de Ca(OH)₂ et Mg(OH)₂

Les résines échangeuses d'ions

Constitution

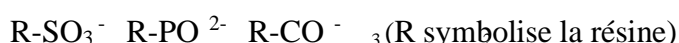
De nombreux adoucisseurs contiennent des **résines échangeuses d'ions**, et plus précisément des **résines échangeuses de cations** (ou **cationiques**). Une résine échangeuse d'ions est un solide insoluble, qui, au contact d'une solution, peut échanger les ions qu'il contient avec d'autres ions de même signe provenant de la solution.

Le développement des polymères synthétiques, stables aussi bien vis-à-vis des acides et des bases que des oxydants et des réducteurs, a suscité l'apparition d'échangeurs d'ions artificiels de nature organique. Ils sont constitués d'un réseau macromoléculaire sur lequel sont fixés un très grand nombre de groupements actifs ionisables ; ces groupements portant des charges électriques, retiennent à leur voisinage, par attraction électrostatique, les ions de charges antagonistes qui sont susceptibles d'être échangés. Les résines les plus courantes sont un copolymère tridimensionnel formé de styrène et de divinylbenzène (cas des résines Amberlite IR-120 et IRA-400).

La vitesse des échanges doit être aussi rapide que possible, la résine doit donc être finement divisée afin de présenter une grande surface de contact avec la solution ; c'est sous forme de perles très fines que la plupart des échangeurs d'ions sont généralement utilisés(7).

Le groupe ionique est introduit dans les résines en général après polymérisation, en substituant un atome de carbone du noyau benzénique.

On distingue les résines cationiques pouvant échanger des cations et les résines anioniques échangeant des anions. Dans les résines cationiques, le groupement actif est un anion de type sulfonate, phosphate ou carboxylate :



Les résines anioniques sont constituées de groupements ammonium quaternaire :



Mécanisme de l'échange

Lorsqu'on plonge une résine gorgée d'eau dans une solution contenant des ions, ceux-ci traversent les mailles du réseau et diffusent jusqu'aux centres actifs ; par suite une quantité équivalente d'ions fixés initialement sur la résine passent dans la solution ; nous pouvons représenter ce phénomène réversible, dans le cas d'une résine cationique sous forme acide et d'une solution de chlorure de sodium (par exemple) par l'équation :



Les adoucisseurs d'eau domestiques

L'adoucissement d'une eau consiste à remplacer ses cations Ca^{2+} et Mg^{2+} par des ions sodium Na^+ :

Le principal inconvénient de l'adoucisseur est l'enrichissement de l'eau en sodium surtout pour celle qui en contient déjà naturellement en quantité notable. De telles eaux adoucies peuvent nuire aux personnes souffrant d'hypertension, de problèmes cardiaques, aux femmes enceintes, aux nourrissons et à toutes les personnes soumises à un régime sans sel.

D'autre part, une eau contenant trop d'ions sodium peut accroître la corrosion de la tuyauterie domestique.

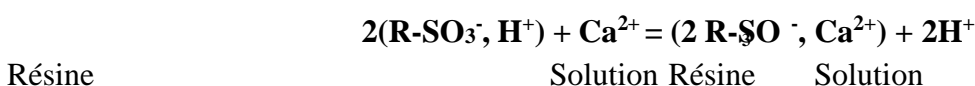
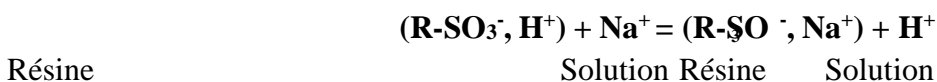
Il est donc fortement conseillé de n'adoucir que les circuits alimentant les équipements où l'eau est chauffée (salle de bains, chauffe-eau, lave-linge, lave-vaisselle), et de consommer en tant qu'eau de boisson de l'eau non adoucie.

Déminéralisation d'une eau minérale sur résine échangeuse d'ions

L'eau du robinet contient des ions tels que Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , Cl^- , HCO_3^- ...

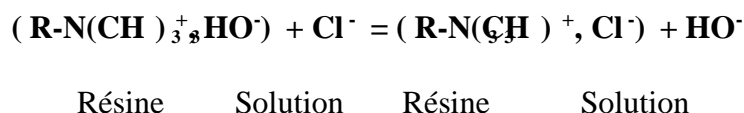
Déminéraliser une eau consiste à supprimer ces ions (cations et anions) en les fixant sur des résines

On passe l'eau sur une première résine sous forme acide qui cède alors des ions H^+ et fixe les cations. Par exemple :



Puis l'eau passe sur une résine sous forme basique qui cède alors des ions HO^- et fixe les anions

: Par exemple :



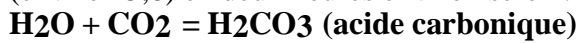
Les ions HO^- cédés par la deuxième résine réagissent avec les ions H^+ cédés par la première selon :



Il se forme de l'eau !

Et comme l'eau initiale est neutre, il y a autant de charges + que de charges - dans cette eau, donc les résines ont relargué autant de HO^- que de H^+ . Il y a donc neutralisation.

En fait seule l'eau déminéralisée venant juste d'être produite possède une acidité d'environ 7, mais affecté par la présence de dioxyde de carbone dans l'air, elle atteindra un pH légèrement acide (environ 5,8) en deux heures environ selon :



Remarque : on peut aussi déminéraliser ou déioniser l'eau par le procédé **d'osmose inverse**. Cette technique consiste à utiliser une membrane semi-perméable qui laisse passer les molécules d'eau mais pas la plupart des corps dissous (ions ou molécules organiques). En exerçant dans le compartiment de l'eau à traiter une pression assez forte (supérieure à la pression osmotique), on force l'eau à traverser la membrane.

TD1 : Les bactéries du sol

Introduction

La microbiologie des sols est la science dont l'objet est l'étude de l'ensemble des microorganismes constituant le microbiote du sol, appelé aussi microbiote tellurique, dotés de fonctions vitales. Ce microbiote est constitué de microorganismes eucaryotes et procaryotes, ainsi que des virus (organismes non vivants), constituant le second niveau trophique, puisqu'ils se nourrissent des végétaux et de leurs débris (premier niveau trophique).

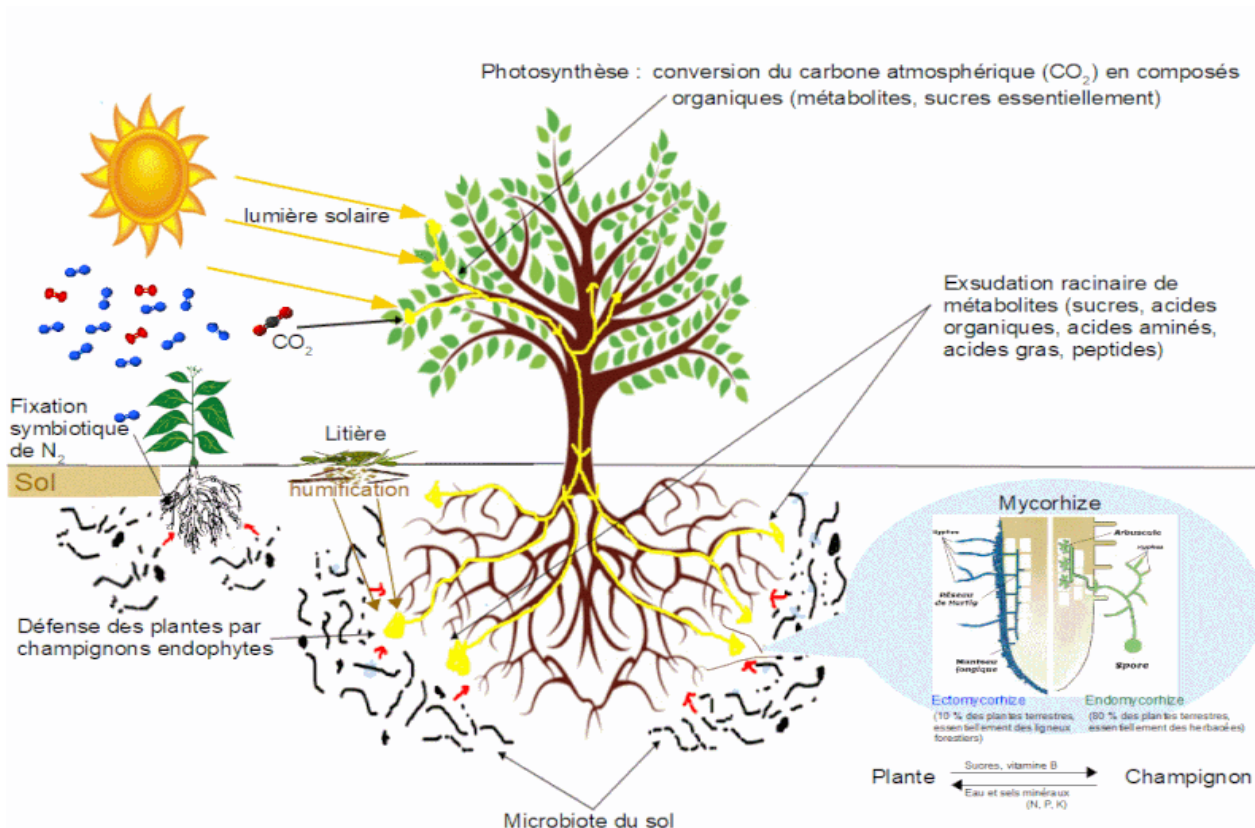
Rôle biologique

Le rôle du microbiote du sol est considérable et très varié, s'avérant dans l'humification, minéralisation, mycorhization, fixation de l'azote atmosphérique, ainsi que la défense des plantes par champignons endophytes.

Ces microorganismes telluriques montrent une grande diversité de métabolisme, occupent toutes les niches écologiques et on les trouve à tous les niveaux des chaînes alimentaires. Ainsi, ces microorganismes coexistent et interagissent avec les microorganismes supérieurs soit positivement ou négativement, vu que dans le sol, il y a des microorganismes bénéfiques et d'autres pathogènes.

Réacteur biologique

Le sol représente un réacteur biologique très actif où se développent des réactions biochimiques abondantes et variées. Il constitue un environnement où interagissent directement ou indirectement de nombreux microorganismes telluriques, entre eux mais aussi avec les composantes abiotiques du sol (matière organique, matrice minérale, etc.) et avec les racines des plantes (au niveau de la rhizosphère). Perçues comme ayant un rôle essentiellement néfaste ou bien bénéfique, ces microorganismes ont besoin de trouver dans leur environnement proche, en l'occurrence le sol, une source de carbone minéral ou organique et une source lumineuse ou chimique à partir desquelles ils pourront réaliser des synthèses organiques et leur propre biosynthèse. Les pathogènes dégradent la matière organique vivante, tandis que les microorganismes bénéfiques dégradent la matière organique non vivante, ainsi, leur rôle est capital dans le recyclage de la matière notamment organique : ce sont des décomposeurs indispensables à la biosphère pour recycler les éléments tels que le carbone, l'azote et le soufre.



Bactéries du sol

Dans les sols, il existe une diversité d'espèces de bactéries extrêmement forte de l'ordre de 10^6 espèces par gramme de sol. Elles peuvent être classées de plusieurs manières : sur la base de leurs caractéristiques (morphologie, métabolisme, ressources nutritives...), sur la base de leur génome ou par grandes catégories de fonctions. Avec les champignons, les bactéries du sol sont considérées comme les ingénieurs chimiques du sol. Par ailleurs, elles peuvent être impliquées dans la régulation de la croissance racinaire (bactéries PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

Groupes fonctionnels des bactéries du sol

On peut percevoir les groupes fonctionnels suivants, impliqués dans la dégradation des matières organiques :

- **Les bactéries cellulolytiques** : elles dégradent la cellulose. C'est le groupe le plus important dans la dynamique de la matière organique, car elles décomposent la cellulose, molécule structurale la plus répandue chez les végétaux.
- **Les bactéries pectinolytiques** : elles dégradent la pectine et ses dérivés. Les bactéries les plus abondantes sont du genre *Arthrobacter*.

- **Les bactéries ammonifiantes** : elles décomposent les matières organiques azotées en ammoniac ou en ions ammonium.
- **Les bactéries nitrifiantes** : elles permettent l'oxydation de l'ammoniac en nitrate.
- **Les bactéries fixatrices d'azote** : elles captent l'azote atmosphérique (N_2) et le transforment en composés utilisables par les plantes (ammoniac). Ce sont notamment les bactéries symbiotiques localisées dans la rhizosphère des plantes cultivées (rhizobium chez les légumineuses).

Isolement des bactéries telluriques

L'isolement des bactéries à partir de la rhizosphère repose sur la préparation de dilutions décimales. On doit mettre le sol en suspension à raison de 1 g dans 9 ml d'eau distillée stérilisée, qu'on agite au vortex pour obtenir la dilution 10^{-1} g/ml.

Des prélèvements de 1ml doivent être effectués et introduits dans des tubes contenant 9 ml d'eau distillée stérilisée jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-6} g/ml. En fin, 0,1 ml de chaque dilution est déposé sur le milieu de culture qui doit être choisi selon le type de bactéries recherchées, ou bien sur le milieu empirique GN. Les boîtes seront incubées de à température favorable pendant 24 à 72 heures.

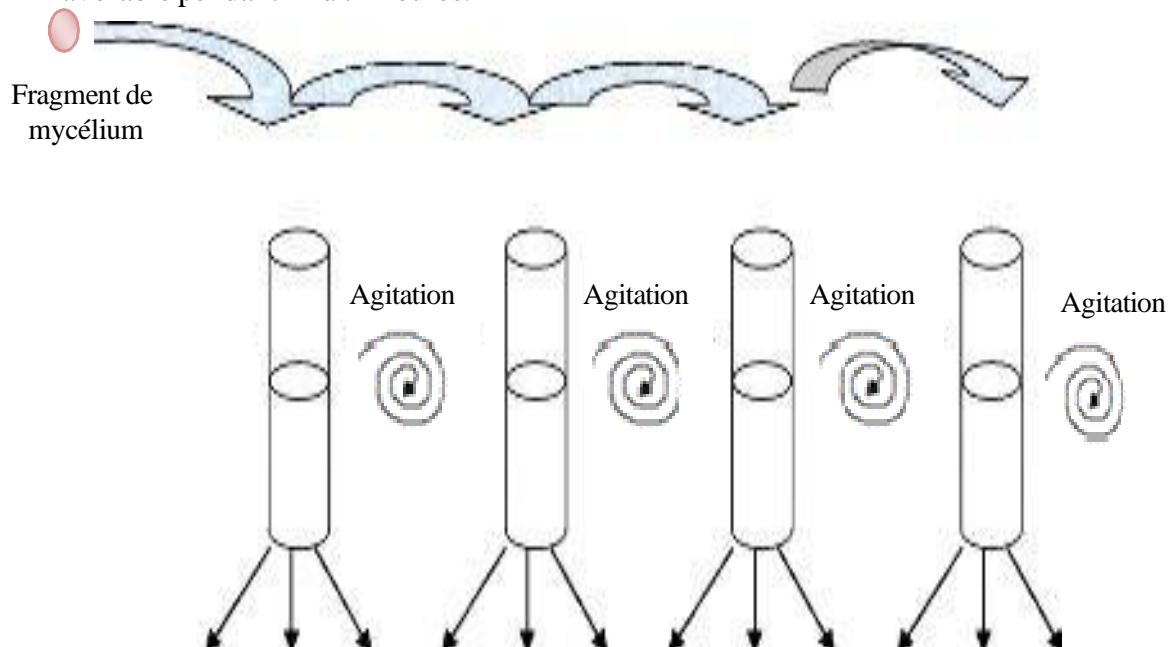
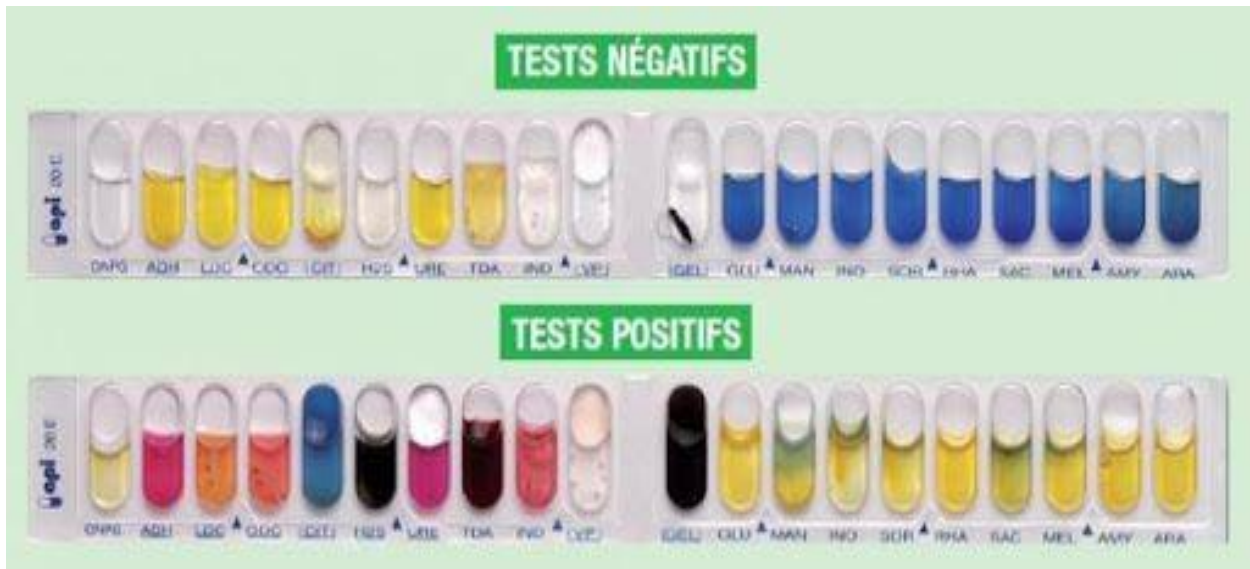


Schéma démonstratif des étapes de la préparation des dilutions décimales

Identification des bactéries telluriques

La caractérisation *in vitro* des isolats bactériens, (exemple PGPR) obtenus à partir du sol doit être réalisée après leur purification. On doit procéder par la suite à une identification morphologique en utilisant des milieux de culture, la coloration de Gram, ainsi qu'une identification biochimique en utilisant la galerie API 20^E pour la confirmation des espèces obtenues.



Galerie API 20E

Conclusion

Les bactéries sont très abondantes dans les sols, environ 1 milliard d'individus par gramme de sol en moyenne (2,5 t/ha en équivalent carbone). Ce sont des organismes procaryotes parmi les plus petits vivant dans les sols avec une longueur de 1 à 2 μm dans des conditions aérobies (en présence d'oxygène) ou anaérobies ("sans" oxygène). Les bactéries du sol consomment des molécules organiques en sécrétant des enzymes dans l'espace extracellulaire permettant de les hydrolyser (découper) en molécules simples absorbables au travers de leur paroi et de leur membrane plasmique.

TD 02 : La Demande Biochimique en Oxygène (DBO)

La pollution représente un sérieux problème pour l'environnement à cause des rejets déversés dans les eaux naturelles; les eaux usées non épurées représentent la principale source de pollution organique des eaux.

La quantité d'oxygène dissous dans l'eau a un effet important sur les végétations et les animaux qu'elle contient. Lors des phénomènes d'eutrophisation, les désoxygénations liées à la dégradation des matières organiques ont donc des conséquences considérables pour l'environnement aquatique.

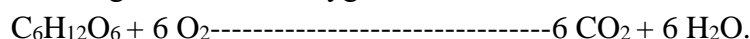
La demande biochimique en oxygène (DBO) et la demande chimique en oxygène (DCO) sont des indicateurs de la pollution de l'eau. Les méthodes instrumentales (DBO mètre) permettent de suivre automatiquement la DBO₅ au cours de l'oxydation de matières organiques contenues dans l'eau.

1. Mettez en ordre les phrases suivantes. Que représentent ces étapes ?

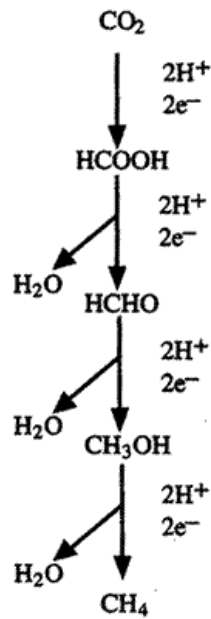
	Asphyxie du milieu par consommation de l'oxygène dissous.
	Les bactéries assurent l'oxydation des molécules organiques en composées inorganiques en utilisant l'oxygène dissous dans l'eau.
	Les produits terminaux comprennent des composés toxiques pour de nombreux organismes.
	Dégradation totale de la matière organique en CO ₂ et H ₂ O.
	Du fait de l'activité bactérienne, la concentration en oxygène de l'eau est réduite.
	Les bactéries anaérobies peuvent oxyder les molécules organiques sans l'usage d'oxygène.

- a) Les bactéries assurent l'oxydation des molécules organiques en composées inorganiques en utilisant l'oxygène dissous dans l'eau.
- b) Dégradation totale de la matière organique en CO₂ et H₂O. (sans provoquer des nuisances).
- c) Du fait de l'activité bactérienne, la concentration en oxygène de l'eau est réduite.
- d) Les bactéries anaérobies peuvent oxyder les molécules organiques sans l'usage d'oxygène.
- e) Les produits terminaux comprennent des composés toxiques pour de nombreux organismes. (Tels que l'H₂S, NH₃ et CH₄). (phénomène de putréfaction très nuisible parce qu'il s'accompagne de dégagements de gaz toxiques et malodorants).
- f) Asphyxie du milieu par consommation de l'oxygène dissous. Les organismes aquatiques vont donc se souffrir (mort des poissons).

- **En mode aérobie, Ex :** dégradation de l'oxygène:



- En mode anaérobie, Ex :



Méthanogenèse par réduction du CO_2

- Ces étapes représentent : les conséquences successives de la pollution organique de l'eau naturelle.
2. Dans quelle situation peut-on considérer les composés organiques comme des polluants ?
- En général, les composés organiques sont complètement biodégradables dans des conditions favorables. Cependant, il faut les considérer comme polluants lorsque leur concentration est anormalement élevée, et engendre un stress important dans la biocénose des milieux aquatiques, ce qui peut conduire à l'inactivation des mécanismes de la biodégradation.
 - **Ex :** Les graisses, qui à des concentrations plus ou moins élevées, engendrent la formation des films superficiels qui peuvent s'opposer à l'accès de l'oxygène dans les cours d'eau et provoquer des effets d'intoxication sur les microorganismes et les poissons.
3. Quelle relation y-a-t-il entre la pollution organique de l'eau et la mesure de la DBO ?
- La DBO constitue un bon indicateur de la pollution de l'eau. La DBO est une mesure indirecte de la matière organique biodégradable dans l'eau. Donc ce paramètre physico-chimique permet la détection de cette matière polluante.

4. Compléter le tableau suivant :

Les conditions expérimentales de la mesure de la DBO	
La quantité d'O ₂ dissous en
Période d'incubation
Température
Présence ou absence de lumière
Agitation ou mode statique

Les conditions expérimentales de la mesure de la DBO	
La quantité d'O ₂ dissous en	mg/l
Période d'incubation	5 jours
Température	20 °C
Présence ou absence de lumière	A l'obscurité
Agitation ou mode statique	Sous agitation

5. A l'aide des informations du tableau, proposer une définition pour la DBO₅?

- C'est la quantité d'O₂ dissous (en mg/l) consommé pendant 5 jours à 20 °C, à l'obscurité et sous agitation, pour la dégradation microbienne de la matière organique dans un échantillon d'eau.

6. La mesure de la DBO peut être effectuée pour quels types d'eaux et pour quelles raisons elle doit se faire à l'obscurité et sous agitation ?

- Types d'eaux : Eau naturelle (Ex : rivière) + Eau usée (Effluents domestiques et industriels).
- A l'obscurité ; à fin d'éviter l'activité photosynthétique.
- Sous agitation ; à fin de mettre les bactéries en contact avec l'O₂ et la matière organique biodégradable.

Exercice 1:

L'étude des paramètres physico-chimiques a été menée le long d'une rivière afin d'établir un diagnostic de l'état de la pollution des eaux de surface.

Ce cours d'eau est caractérisé par une zone soumise à un rejet d'eau usée dont les périodes 1 et 2 correspondent respectivement à l'état de rivière avant et après l'élimination de l'eau polluante.

La DBO a été mesurée à l'aide d'un DBO-mètre et les valeurs enregistrées sont répertoriées dans le tableau suivant :

DBO ₅	Période 1	Période 2
Mesure 1	5,5 mg/l	20 mg/l
Mesure 2	8 mg/l	37 mg/l
Mesure 3	7,5 mg /l	21 mg/l

a) Calculer la valeur moyenne de la DBO₅ pour les deux périodes.

- Valeur moyenne de DBO₅ (Période 1) = 7 mg/l.
- Valeur moyenne de DBO₅ (période 2) = 26 mg/l.

b) Dans quel cas la teneur en matière organique est plus élevée ?

- La teneur en matière organique est plus élevée en période 2 puisque cette teneur est proportionnelle à la valeur de DBO. (Pour la biodégradation d'une teneur importante en matière organique il faut automatiquement une concentration importante en oxygène).
- Donc, toute matière organique biodégradable polluante va entraîner une consommation d'oxygène.

c) Interpréter les résultats obtenus.

- On note une augmentation des teneurs en DBO₅ en période 2 qui peut être expliquée par l'instauration des conditions de dégradation de la matière organique par les microorganismes.
- Cette activité, consommatrice d'oxygène, est à l'origine de l'auto-épuration des eaux.
- Une auto-épuration est un processus biologique reposant essentiellement sur des microorganismes, et permettant à un milieu aquatique pollué par des substances organiques de retrouver, sans intervention extérieure, son état originel = L'auto-épuration est le processus biologique par lequel l'eau présente dans la nature (dans les rivières) se nettoie elle-même lorsque la quantité de matières polluantes qui y est rejetée n'est pas trop importante.

Exercice 2 :

Le tableau ci-dessous récapitule les valeurs moyennes en DBO et DCO pour une station d'épuration d'eau usée.

	DCO (en mg/l)	DBO ₅ (en mg/l)
Entrée station	860	380
Sortie station	81	9
Rendement	?	?

- a) Que signifie la DCO et quelle est sa relation avec la DBO ?
- La DCO c'est la quantité d'oxygène (en mg/l) nécessaire à l'oxydation de l'ensemble des matières minérales et organique présentes dans une eau. Soit donc à la fois les matières oxydables par les processus purement chimiques et celles oxydables par les processus biochimiques (Activité microbienne) = La DCO représente la quantité d'oxygène consommée par les matières oxydables chimiquement contenues dans l'eau. Elle est représentative de la majeure partie des composés organiques mais également des sels minéraux oxydables (sulfures, chlorures.etc).
 - La DBO est incluse dans la DCO. Donc, la valeur de la DBO est toujours plus inférieure que celle de la DCO, car de nombreuses substances organiques peuvent être oxydées chimiquement mais ne peuvent pas s'oxyder biologiquement.
- b) Calculer le rendement épuratoire de la station (en termes de DCO et DBO).
- Le rendement épuratoire de la station ; C'est le rapport de la pollution éliminée dans la station sur la pollution reçue. Il définit les performances de la station.
 - Cette station reçoit une charge de DBO₅ de 380. Elle rejette une charge de 9. Le rendement épuratoire sera : $(380 - 9)/380 = 0,9763 = 97,63 \%$.
 - Cette station reçoit une charge de DCO de 860. Elle rejette une charge de 81. Le rendement épuratoire sera : $(860 - 81)/860 = 0,9058 = 90,58 \%$.
- c) Sachant que les normes internationales pour les eaux usées exigent : une DBO₅ < 30 mg/l et une DCO < 90 mg/l. Comparer les résultats obtenus avec les normes. Que pouvons-nous conclure ?
- La valeur de DBO₅ finale (après épuration) = 9, donc inférieure à 30.
 - La valeur de DCO finale (après épuration) = 81, donc inférieure à 90.
 - Les valeurs obtenues répondent aux normes, en effet le système d'épuration de cette station est efficace contre la pollution et cette eau traitée peut être restituée au milieu naturel sans risque.

TP1 : Isolement des microorganismes du sol

Atelier pratique à l'intention à l'âge secondaire

Titre : Isolement des microorganismes du sol.

But : Isoler et dénombrer des microorganismes qui se trouvent dans un échantillon de sol par la méthode des dilutions tout en maintenant le plan de travail aseptique.

Matériel:

- 1 flacon Erlenmeyer contenant 50 ml d'agar (0,1%) stérile
- 1 nacelle contenant 0,5 g de sol
- 4 petites fioles contenant 4,5 ml d'agar (0,1%) stérile
- 5 pipettes stériles de 1 ml
- 1 bâtonnet de verre stérile ("hockey")
- 6 plats de Petri contenant environ 10 ml du milieu de culture PDA (Potato dextrose agar)
- 6 languettes de ruban Parafilm
- papier absorbant
- désinfectant
- crayons

Méthodes:

1. Identifier les dilutions sur les fioles (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) et les plats de Petri (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}).
2. Ajouter le 0,5 g sol à l'Erlenmeyer contenant 50 ml d'agar (Ceci est la dilution 10^{-2}).
3. Agiter pendant au moins une minute.
4. Prélever 0,5 ml à l'aide d'une pipette stérile et déposer dans une fiole contenant 4,5 ml d'agar 0,1 %. (Ceci est la dilution 10^{-3}).
5. Agiter pendant au moins une minute.
6. Répéter les étapes 4 et 5 pour les trois autres dilutions (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}).
7. En commençant par la dilution la plus faible (10^{-6}), pipetter 1 ml sur chacun des 2 plats de Petri contenant le milieu PDA. Étendre sur toute la surface avec le bâtonnet (hockey) stérile. (La dilution 10^{-6} en premier.) Effectuer les mêmes étapes pour les dilutions de 10^{-5} et 10^{-4} .
8. Sceller les plats de Petri à l'aide du Ruban Parafilm.
9. Incuber les plats de Petri à la température de la pièce.
10. Observer après 24, 48 et 72 heures.

Resultats:

- Noter le nombre de colonies/plat de Petri/dilution.
- Calculez le nombre de microorganismes par gramme de sol selon la formule suivante :# de colonies /plat \times le facteur de dilution = # organismes / 1 gramme de sol
- Noter la morphologie des colonies.

Questions:

1. Pourquoi faut-il agiter avant de pipetter?

2. À l'étape 7 pourquoi commence-t-on par la dilution la plus faible?
3. Pouvez-vous distinguer les colonies bactériennes des colonies fongiques?
4. Comment pouvons-nous avoir uniquement des colonies bactériennes ou des colonies fongiques?
5. Si vous renversent la fiole contenant la dilution 10^{-6} , qu'est-ce que vous pouvez faire pour obtenir cette dilution, quand même, sur plat de Petri?

Instructions aux moniteurs:

- Prenez votre temps – on devrait avoir environ 1 heure et les manipulations durent à peu près 30 min.
- En entrant demander aux élèves de se laver les mains et prendre une place.
- Demandez leur à LIRE les instructions et à poser des questions si quelque chose n'est pas claire.
- Si les élèves aimeraient pratiquer à pipetter il y a des pipettes NON-STÉRILES disponibles avec de l'eau.
- Les fioles et les plats de Petri sont déjà identifiées, demandez leur à écrire leurs initiales sur les plats de Petri.
- La première chose qu'ils ont à faire c'est de nettoyer leur place de travail avec le désinfectant, mouiller la serviette et travailler dessus.
- Rappelez leur que lorsqu'ils ont fini de ramasser les fioles, etc., de les mettre dans l'évier. De nettoyer leur place de travail si dégâts et ensuite de retourner à la salle de conférence. Là, ils pourront regarder la démonstration et poser toutes les questions auxquelles ils aimeraient avoir une réponse.
- Aussitôt que tout le monde est parti, retournez à la salle de conférence pour aider à répondre aux questions.

TP2 : Analyse de l'eau par filtration sur membrane

Dénombrement des entérocoques dans une eau par la méthode du NPP miniaturisée

Objectifs

A : analyse d'une eau destinée à la consommation humaine: flore totale, coliformes et entérocoques par filtration sur membrane. Recherche de spores d'anaérobies sulfitoréducteurs par incorporation dans la masse.

B : dénombrement des entérocoques par la méthode du NPP en microplaques.

A : Analyse d'une l'eau

L'analyse se fera :

- sur une eau « naturelle » (rivière, puits)
- sur une eau préparée avec des germes tests, de façon à vérifier l'aspect des colonies sur les milieux sélectifs utilisés.

A.1. Préparation de cette eau « test » : par binôme

- 1 bouteille d'eau minérale,
- souches en bouillon : E.coli, Enterococcus faecalis à environ 10^7 germes/mL Sachant que le volume filtré est de 100 mL pour les coliformes et pour les entérocoques, déterminer une façon de préparer l'eau test de manière à viser environ 50 colonies de coliformes et environ 50 colonies d'entérocoques sur la membrane.

A.2. Analyse de l'eau par filtration

On travaillera par binôme.

Réaliser l'analyse des eaux comme indiqué dans le tableau récapitulatif ci-dessous :

	Eau « naturelle »	Eau « test »	incubation
Flore totale	1 mL	1 mL	(1)
Coliformes : gélose lactosée + TTC tergitol	100 mL	100 mL	37°C
Entérocoques Slanetz (2)	100 mL	100 mL	37°C
Spores d'anaérobies sulfitoréducteurs VFSR ou	20 mL soit 5 mL x 4	inutile	37°C

(1) La norme prévoit une incubation à 36°C +/- 2°C pendant 44h +/- 4h et à 22°C +/- 2°C pendant 68h

+/- 4h . On ne réalisera que celle à 36°C.

(2) Si en jour 2 il y a des colonies présumées d'entérocoques, transférer la membrane sans la retourner sur une gélose BEA. Incuber 2h à 44°C. Les colonies typiques sont entourées d'un halo noir.

A.3. Recherche des spores d' anaérobies sulfito-réducteurs

Ensemencer dans la masse une gélose VFSR régénérée et maintenue en surfusion à 45°C ; pour cela, introduire 5 mL d'eau à analyser après avoir détruit si nécessaire les formes végétatives en chauffant un échantillon d'eau 10 min à 80°C.

Le milieu se présente en tubes hauts ; il faut en principe 4 tubes pour tester 20mL d'eau.

Compte rendu

- 1) *Expliquer la préparation de l'eau « test »*
- 2) *Rappeler les composants essentiels des milieux utilisés pour la filtration et donner leur rôle, ainsi que l'aspect justifié des colonies à dénombrer*
- 3) *Réaliser un tableau indiquant le nom des milieux utilisés, la recherche effectuée, les volumes filtrés ou ensemencés, la température d'incubation, les résultats bruts*
- 4) *Donner les résultats des numérations et comparer éventuellement ces résultats avec ceux des normes fournis pour l'eau potable destinée à la consommation humaine*
- 5) *Quel autre genre de bactérie SPORULEE est susceptible de pousser en profondeur de milieux tels la gélose VFSR ? quel serait l'aspect des colonies ?*

B : Dénombrement des entérocoques par la méthode du NPP miniaturisée

B.1. Introduction

Le dénombrement des streptocoques D dans l'eau se fait généralement par filtration sur membrane (norme NF EN ISO 7899-2).

Néanmoins, dans les eaux de surface riches en matières en suspension et de qualité microbiologique médiocre, la filtration ne convient pas et il faut utiliser la méthode classique du NPP (norme NF EN ISO 9308-3, mars 1999). Voici un extrait de cette norme concernant les streptocoques D :

« ..sont considérés comme streptocoques D les micro-organismes donnant une réponse positive en 48h à 37°C dans un bouillon glucose à l'azide de sodium (milieu de Rothe) et, de plus, une réaction positive en 24h et 48h sur une gélose biliée à l'esculine ou sur un milieu de Litsky. Le principe de cette méthode se divise en 2 étapes :

- 1- Test présomptif : ensemencement des dilutions de l'échantillon dans une série de tubes contenant un bouillon glucose à l'azoture -milieu de Rothe)
- 2- Après 24 à 48h d'incubation à 37°C +/- 1°C, repiquage des tubes positifs dans un milieu confirmatif ; milieu de Litsky.

Après 24 à 48h d'incubation à 37°C +/-1°C, détermination des tubes positifs correspondants à la présence de streptocoques D et calcul du NPP à partir d'une table statistique. ».

Le but de cette manipulation est d'essayer d'adapter cette norme en microméthode, en utilisant une microplaque, ce qui permet d'augmenter le nombre d'essais par dilution et donc la précision du résultat, tout en limitant la verrerie et le nombre de milieux . On se limitera à l'étape 1 (test présomptif en milieu de Rothe)

B.2. Protocole

Préparation de la microplaque

- Répartir dans 5 tubes à hémolyse 5 x 1mL de milieu de Rothe; double concentration
- Répartir 100 µL de milieu de Rothe double concentration dans 5 puits de la microplaque
- Répartir 200 µL de milieu de Rothe dans 25 puits de la microplaque. Prévoir un puit témoin pour vérifier la stérilité du milieu

Dilution de l'eau

- On utilisera une eau fournie (eau E)
- Réaliser les dilutions décimales de l'eau test jusqu'à la dilution 10⁻⁴ en eau V distillée stérile. Ces dilutions peuvent être réalisées en microplaque

Ensemencement

- Ensemencer les 5 tubes à hémolyse avec 1 mL de l'échantillon d'eau à tester
- Ensemencer les 5 premiers puits (contenant le milieu double concentration) avec 100 µL d'échantillon d'eau
- Ensemencer les autres puits avec 10 µL de la dilution d'eau : 5 puits par dilution, tester les dilutions 100, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ et 10⁻⁴.
- Incuber 24h à 37°C : considérer positifs les tubes présentant un trouble.

Utiliser une microplaque pour 2 élèves, donc utiliser 4 rangées par élève au maximum.

Compte rendu

- 1) Justifier l'utilisation du milieu double concentration
- 2) Quelle est la limite de détectabilité des entérocoques par cette méthode dans l'eau ?
- 3) Donner le plan de la microplaque réalisée
- 4) Préparer un tableau de résultats indiquant les différentes dilutions testées et les volumesensemencés :
- 5) Déterminer le NPP de conformes ou d'entérocoques par mL d'eau : utiliser la table ci-jointe(annexe 2)

Attention : le NPP fourni dans la table correspond au nombre le plus probable dans le volume d'inoculum du premier tube retenu

Annexe 1

Normes pour l'eau potable Décret 2001-1220 entré en application le 24/12/2003 Remplace le décret 89-3	
Flore aérobie revivifiable	Non exigée (1) (ancien décret : moins de 100 par mL à 22°C et moins de 10 par mL à 37°C)
Coliformes	Absence dans 100 mL
Entérocoques	Absence dans 100 mL
Spores d'anaérobies sulfitoréducteurs à 37°C	Non exigé Paramètre indicateur pour les eaux de distribution : absence dans 100 mL

(1) Les normes actuelles ne fixent pas de valeur limite pour l'eau potable.

Le décret 2001-1220 préconise une variation maximale d'un facteur 10 pour la valeur habituelle pour les germes aérobies revivifiables à 22° et 37°C.

Références bibliographiques

1. Adhya, T. K., B. Lal, B. Mohapatra, D. Paul and S. Das. 2018. *Advances in Soil Microbiology: Recent Trends and Future Prospects: Volume 1: Soil-Microbe Interaction*, Springer Singapore, p 204.
2. Cheng, Y. T., L. Zhang and S. Y. He (2019). "Plant-Microbe Interactions Facing Environmental Challenge." *Cell Host & Microbe* 26(2): 183-192.
3. Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM, Stahl DA. 2018. *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson, p 1022.
4. Mendes, R., P. Garbeva and J. M. Raaijmakers. 2013. "The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms." *FEMS Microbiology Reviews* 37(5): 634-663.
5. Meyer A, Deiana J, Bernard A. 2004. *Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés*. Doin, p 430.
6. Paul E. 2014. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Elsevier Science, p 598.
7. Prescott LM, Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ, Coyette J. 2018. *Microbiologie*. De Boeck supérieur, p 1120.
8. Tortora, G. J., B. R. Funke, L. Martin and C. L. Case. 2003. *Introduction à la microbiologie*, ERPI, p 945.
9. van Elsas JD, Trevors JT, Rosado AS, Nannipieri P. 2019. *Modern Soil Microbiology*, Third Edition. CRC Press, p 472.