

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry Of High Education And Scientific Research
Abebes Laghrour University ,Khenchela
Faculty of Nature and Life Science
Departement of Molecular and Cellular Biology



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة عباس لغرور خنشلة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلية

Polycopié pédagogique

Titre

Ecologie Microbienne

**Cours destiné aux étudiants de
Master 2 Microbiologie appliquée**

Nom : NAILI

Prénom : OUMAIMA

Grade : Maître de Conférences Classe «B»

Année : 2021/2022

AVANT PROPOS

Ce cours est destiné aux étudiants de deuxième année Master en spécialité Microbiologie appliquée, la filière de biologie et le domaine des sciences de la nature et de la vie (SNV). La matière écologie microbienne appartient à l'unité d'enseignement Fondamentale (UFE1) avec crédit 6 et coefficient 03 pour un volume horaire hebdomadaire d'une heure et demi de cours, une heure et demi de travaux dirigés et trois heures de travaux pratique.

Ce document a pour but de permettre aux étudiants d'acquérir des notions de base en écologie microbienne. Cette discipline évolue rapidement depuis une vingtaine d'années principalement grâce à l'application d'outils moléculaires pour étudier les microorganismes dans leur environnement. L'objectif visé est qu'au terme de l'enseignement, les étudiants aient une vue d'ensemble actualisée de la diversité phylogénétique et métabolique des microorganismes dans l'environnement, ainsi que leur rôle dans les grands cycles biogéochimiques dont dépend la vie sur terre.

Intitulé du Master : Microbiologie Appliquée

Semestre : 3

Intitulé de l'UE : Unité d'enseignement Fondamentale1 (UFE1)

Intitulé de la matière : Ecologie microbienne

Crédits : 6

Coefficients : 3

Objectifs de l'enseignement :

Cet enseignement consiste à caractériser la biodiversité microbienne d'un écosystème, à caractériser les interactions entre micro-organismes, à identifier le rôle des micro-organismes dans l'écosystème, à étudier les interactions hôtes-microorganismes (symbiose, commensalisme, parasitisme, agent pathogène...). Ces données sont indispensables pour comprendre le rôle joué par les microorganismes, notamment par les bactéries, dans le fonctionnement des grands cycles de la matière.

Connaissances préalables : Microbiologie- Biochimie

Contenu de la matière :

Chapitre I : Historique de l'écologie microbienne, phylogénie microbienne et " arbre de vie ", les grands types de métabolisme cellulaire.

Chapitre II : Techniques utilisées pour étudier les microorganismes dans leur environnement naturel.

Chapitre III : Microbiologie des sols et de la rhizosphère.

Chapitre IV : Microbiologie des milieux aquatiques (eaux douces, océans).

Chapitre V : Microbiologie des milieux souterrains (aquifères, champs pétrolifères).

Chapitre VI : Adaptation des microorganismes aux environnements extrêmes.

Chapitre VII : Biotransformation et biodégradation de polluants

Chapitre VIII : Relations symbiotiques / syntrophiques avec des organismes eucaryotes.

TD : Questions et exercices.

TP : Isolement et identification des microorganismes .

Mode d'évaluation : Mode d'évaluation : Contrôle continu, examen, Exposés, Posters, Compte rendu de TP.

Références : Thèses, livres et articles d'actualités, polycopies, sites internet

Table des matières

Introduction	01
Chapitre 1 : Historique de l'écologie microbienne, phylogénie microbienne et " arbre de vie ", les grands types de métabolisme cellulaire	03
1. Définitions	03
2. Les débuts de l'écologie microbienne	04
3. L'écologie microbienne aujourd'hui	05
4. Les trois domaines du vivant	05
5. La diversité métabolique des organismes	07
5.1. Les photoautotrophes	07
5.2. Les photohétérotrophes	08
5.3. Les chimioautotrophes	09
5.4. Les chimiohétérotrophes	09
Chapitre 2	10
Méthodes d'étude des microorganismes	10
1. Mesure de la biodiversité	10
2. Mesure de l'activité	11
Chapitre 3	12
Microbiologie du sol et de la rhizosphère	12
1. Définition de la microbiologie du sol	12
2. Structure et propriétés du sol	12
2.1. Composition	12
2.2. Texture	13
2.3. Eau du sol	13
2.4. Température du sol	13
2.5. pH du sol	14
3. Microflore du sol	15
3.1. Virus	15
3.2. Bactéries	15
3.3. Champignons	16
3.4. Algues	17
3.5. Protozoaires	17
4. Rôles des microorganismes dans le sol et importance de leur étude	18
5. Microorganismes et cycles biogéochimiques	19

Chapitre 4	25
Microbiologie des milieux aquatiques (Eaux douces, océans)	25
1. Milieux aquatiques	25
1.1. Eaux marines	25
1.2. Eaux douces	26
2. Cycle de l'eau	26
3. Ecologie microbienne des milieux aquatiques	27
3.1. Eaux marines	27
3.2 Eaux douces	28
4. Les eaux d'alimentation	29
4.1. Eaux souterraines	29
4.2 Eaux de surface	29
5. Contrôle bactériologique des eaux	30
6. Traitement de l'eau	31
7. Maladies à transmission hydrique	33
8. Eutrophisation des milieux aquatiques	35
8.1. Définition de l'eutrophisation	35
8.2. Les causes de l'eutrophisation (source des pollutions)	36
8.3. Pourquoi et comment lutter contre l'eutrophisation ?	36
8.3.1. Enjeux et importances des milieux humides	36
8.3.2. Action pour prévenir l'eutrophisation	36
8.3.3. Actions pour remédier à une eutrophisation d'un milieu humide	37
Chapitre 5	39
Microbiologie des milieux souterrains	39
Chapitre 6	41
Adaptation des microorganismes aux environnements extrêmes	41
1. Définition des milieux extrêmes	41
2. Conditions extrêmes et mécanismes d'adaptation	41
2.1. Température	41
2.2. Ph	43
2.3. Pression	45
2.4. Autres conditions extrêmes	46
2.4.1 Radiations ionisantes	46
2.4.2 Métaux lourds	47

Chapitre 7	48
Biotransformation et biodégradation des polluants	
1. Biodégradation des polluants	48
1.1. Biodégradation des métaux lourds	48
1.2. Biodégradation des hydrocarbures et des rejets industriels	49
2. Valorisation biologique	50
2.1. Le compostage	50
2.2. La méthanisation	51
Chapitre 8	53
Relations symbiotiques / syntrophiques avec des organismes eucaryotes	
1. Associations des micro-organismes du sol avec les végétaux	53
1.1. Micro-organismes de la phyllosphère	53
1.2. Micro-organismes de la rhizosphère et du rhizoplan	53
1.3. Associations spécifiques	55
1.3.1. Mycorhizes	55
1.3.1.1. Les composantes de la symbiose mycorhizienne	55
1.3.1.2. Les principaux types la symbiose mycorhizienne	56
1.3.2. Actinorhizae	57
1.3.3. Micro-organismes formant des nodules racinaires	58
1.3.4. Symbiose nuisible <i>Agrobacterium</i> et la galle du collet	59
2. Interactions microorganismes animaux	61
Conclusion	63

Liste des figures

Figure 1 : Les 3 domaines du vivant	06
Figure 2 : Cycle du carbone	22
Figure 3 : Cycle de l'azote	23
Figure 4 : Cycle du soufre	24
Figure 5 : Cycle de l'eau	27
Figure 6 : Processus municipal de traitement des eaux	33
Figure 7 : Eutrophisation des milieux aquatiques	35
Figure 8 : Engin de curage	37
Figure 9 : le dragage des sédiments	37
Figure 10 : Arrachage manuel de jussie depuis une barque	38
Figure 11 : Faucardage à l'engin	38
Figure 12 : La biosphère souterraine peu profonde.	40
Figure 13 : Schéma d'une installation de compostage	50
Figure 14 : Schéma de la méthanisation	52
Figure 15 : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère	54
Figure 16 : Principales formes de mycorhizes associées aux racines des plantes	57
Figure 17 : Formation d'un nodule de racine dans une légumineuse infectée par <i>Rhizobium</i>	59
Figure 18 : Le transfert naturel d'ADN-T dans le génome d'une cellule végétale	60
Figure 19 : Le plasmide Ti	61

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les dimensions des particules du sol.	13
Tableau 2 : Classification des sols suivant la valeur du pH	14
Tableau 3 : Principales infections humaines transmissibles par l'eau	34

Introduction

Les premiers micro-organismes unicellulaires seraient apparus sur notre planète, il y a environ 4 milliards d'années. Depuis, ces micro-organismes se sont développés vers diverses formes de vie telles que les bactéries, les champignons, les algues, les protozoaires et les virus.

Les microorganismes sont présents dans quasiment tous les milieux naturels, dont principalement : les eaux douces et marines, les sols en surface et en profondeur, la surface des plantes et des animaux, le tube digestif des mammifères et d'autres animaux. Cet aspect ubiquitaire résulte de l'extrême diversité de leurs propriétés physiologiques et métaboliques qui leurs permettent de coloniser tous les types d'écosystèmes. Y compris les plus hostiles, comme les fonds océaniques, les déserts ou les étendues polaires. Ils sont même présents dans la stratosphère où ils sont transportés et disséminés par les vents.

Les microorganismes ont une contribution essentielle dans l'équilibre et le fonctionnement de leurs écosystèmes. Leur distribution qualitative et quantitative est conditionnée autant par leurs propriétés physiologiques que par la nature du milieu et ses conditions physico-chimiques. Ils jouent un rôle majeur dans la biosynthèse, la décomposition et singulièrement dans la minéralisation de la matière organique, à travers les cycles biogéochimiques.

Selon la classification classique de WINOGRADSKY, les microorganismes d'un écosystème sont répartis en deux catégories : les microorganismes **autochtones** et les microorganismes **allochtones**. Les microorganismes autochtones (ou indigènes) sont toujours présents dans leur écosystème, indépendamment de l'apport éventuel de nutriments exogènes. Les microorganismes allochtones (ou zymogènes) sont fondamentalement étrangers.

L'écologie microbienne est une discipline au carrefour de l'écologie et de la microbiologie. Elle consiste à caractériser la biodiversité microbienne d'un écosystème, permet d'étudier la place et le rôle des micro-organismes dans un habitat (environnement, écosystème) ainsi que les interactions des micro-organismes entre eux et avec leur milieu. Cette matière est divisée en huit chapitres :

Chapitre 1 inclut quelques définitions en rapport avec l'écologie microbienne, l'historique de cette discipline, l'arbre de vie, ainsi que les grands types de métabolisme cellulaire.

Chapitre 2 décrit les méthodes classiques et modernes permettant l'exploration de la diversité microbienne environnementale.

Chapitre 3 a pour objectif de comprendre le déroulement des processus microbiens dans les sols et le rôle des microbes dans les cycles biogéochimiques.

Chapitre 4 résume la microbiologie des milieux aquatiques.

Chapitre 5 est consacré à l'étude des microorganismes dans les environnements profonds.

Chapitre 6 explique quelques mécanismes d'adaptation des microorganismes aux conditions extrêmes (Température, pH, pression...).

Chapitre 7 s'intéresse aux différentes techniques biologiques de dégradation des polluants.

Chapitre 8 présente un aperçu des différentes associations symbiotiques des microbes avec des organismes eucaryotes.

Chapitre 1

Historique de l'écologie microbienne, phylogénie microbienne et " arbre de vie ", les grands types de métabolisme cellulaire

1. Définitions

Écologie du grec Oikos (la maison et son fonctionnement) et Logos (la connaissance, le discours, les lois).

Ecosystème est un système dynamique constitué par un grand nombre d'individus vivant dans un même milieu et qui se maintient et se régularise grâce à de très nombreuses relations entre ses composants. L'étang est un bon exemple d'écosystème. Selon F. R. Hayes, "un étang n'est pas une masse d'eau qui contient des éléments nutritifs, mais un système équilibré d'eau et de substances abiotiques, de producteurs, de consommateurs et de réducteurs (micro-organismes décomposant)".

Habitat c'est l'emplacement, la localisation d'un organisme donné. A chaque organisme est assigné au moins un habitat où il peut croître et proliférer, et à partir duquel il peut être isolé (sédiment d'un lac, humus du sol, cavité nasale.....). Un microorganisme peut avoir plusieurs habitats : *Rhizobium* croissent dans le sol et dans les racines des légumineuses, les bactéries méthanogènes sont retrouvées dans les sédiments des lacs, le rumen des animaux, les boues activées des traitements biologiques des eaux usées.

Niche écologique désigne les activités spécifiques d'un organisme qui concernent son rôle ou sa fonction dans une communauté. En d'autres termes, la niche écologique occupée par un organisme englobe non seulement l'endroit où il se trouve, mais de même la fonction qu'il est en train d'exercer.

L'environnement physique Lorsqu'ils interagissent entre eux et avec d'autres organismes dans les cycles biogéochimiques, les microorganismes sont aussi influencés par leur environnement : sol, eau (douce ou profondeurs marines) ou un hôte végétal ou animal

2. Les débuts de l'écologie microbienne

Pendant longtemps les recherches en microbiologie étaient focalisées essentiellement sur les cultures pures. Les difficultés ont négligé les recherches écologiques sur les microorganismes. En outre l'écologie microbienne a eu à faire face à de grandes difficultés méthodologiques du fait de la petite taille de micro-organisme. Néanmoins les travaux pionniers ont montré déjà au XIX siècle toute l'importance de la connaissance des microorganismes en rapport avec leurs environnements.

En effet au début de XIX siècle Nicolas Théodore de Saussure (1767-1845) mit en évidence la capacité des sols à oxyder l'hydrogène. De même Jacques-Théophile Schloesing et Achille Muntz (1877) montrèrent l'oxydation de l'ammonium des eaux usées en nitrate à travers une colonne de sable. Le fait que cette activité soit détruite par des vapeurs de chloroforme et par des ajouts d'inoculum de sol, leur permit de conclure à une activité par des micro-organismes.

A la même époque Pasteur avait clairement établi le rôle des micro-organismes dans la biodégradation des substances organiques. Mais il faudra attendre les découvertes de Sergei Winogradsky à partir de 1887 pour réellement mettre en évidence le rôle fondamental des micro-organismes dans les voies de transformation des composés minéraux. En 1950, il développa le concept de «microbiologie écologique » et présenta la synthèse de ses travaux sur la microbiologie des milieux naturels sols et eaux dans un ouvrage publié en 1949 intitulé « microbiologie des sols, problèmes et méthodes» qui restera un ouvrage de référence en écologie microbienne.

Une autre école de microbiologie du sol se développa en parallèle en Hollande. Le microbiologiste hollandais Martinus Beijerinck (1851-1931). Il fut à l'origine de la découverte des bactéries symbiotiques et non symbiotiques de la fixation du diazote et fut le premier à isoler des bactéries sulfato-réductrices. Ses travaux contribuèrent à la connaissance des cycles biogéochimiques des biotransformations microbiennes. D'après certains auteurs les travaux de Beijerinck associés à ceux de Winogradsky montrèrent grandement le rôle important des micro-organismes dans le recyclage des éléments et l'équilibre des écosystèmes nécessaires à la maintenance de la qualité des environnements et au maintien de la vie sur terre.

3. L'écologie microbienne aujourd'hui

Dès 1970, l'écologie microbienne s'est fortement popularisée non seulement en niveau scientifique mais aussi au niveau social et politique. Depuis l'écologie microbienne concerne les interactions entre les micro-organismes et leur environnement ou bien entre les microorganismes et les autres composantes biologiques des écosystèmes. Cette discipline est utile aussi pour l'étude des micro-organismes et de leurs rôles dans leurs environnements.

L'écologie microbienne est également concernée par des problèmes de santé publique comportement des micro-organismes dans l'environnement, maladies infectieuses émergentes, demande en eau potable accrue contamination des aliments. L'avancée des méthodes de biologie moléculaire, depuis les années 1980, a contribué à la connaissance de la diversité et des adaptations des communautés microbiennes dans les écosystèmes.

4. Les trois domaines du vivant

Jusque dans les années 1970, deux grands groupes d'organismes étaient connus et identifiés sur la base de leur structure cellulaire, les procaryotes (bactéries) et les eucaryotes. En 1977, Carl Richard Woese définit le domaine des archées par l'analyse phylogénétique du gène codant pour l'ARN de la petite sous unité ribosomique (SSU rDNA) en démontrant que les procaryotes se divisaient en deux groupes phylogénétiques, initialement appelés eubactéries et archaebactéries, aussi éloignés l'un de l'autre qu'ils l'étaient des eucaryotes. A partir de ce moment sont décrits les trois domaines du vivant (figure1): *Bacteria*, *Archaea* et *Eucarya*. Cette classification de Woese basée sur des analyses phylogénétiques est actuellement privilégiée en microbiologie car elle est plus objective que les anciennes classifications basées notamment sur des caractères physiologiques. Les microorganismes se répartissent dans les trois domaines du vivant.

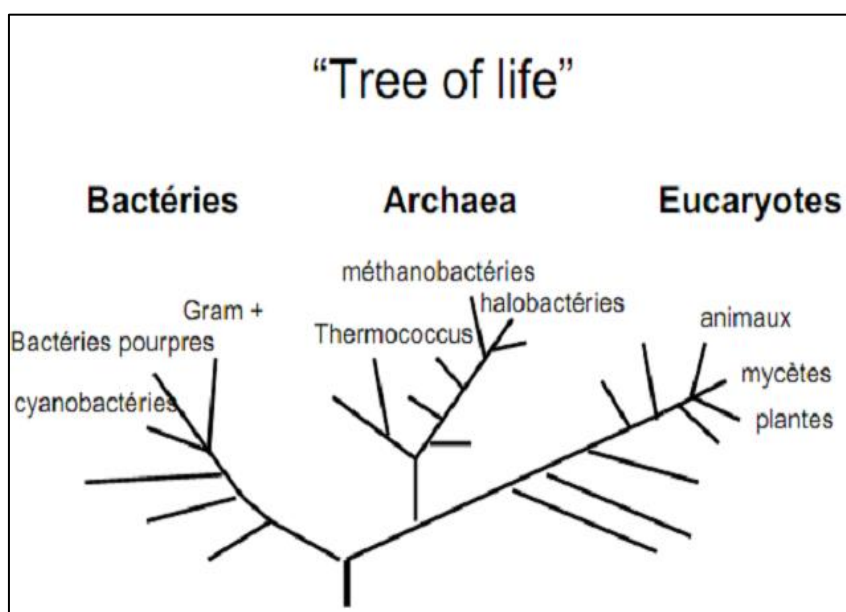


Figure 1 : Les 3 domaines du vivant

Les bactéries et les archées sont des procaryotes, organismes unicellulaires qui ne possèdent pas de noyau cellulaire. Tous les procaryotes sont des organismes microscopiques, exception faite des certaines associations multicellulaires sous forme de filaments ou des colonies.

La plupart des procaryotes ne dépassent pas les 3 μm en taille ; leur petite taille et la simplicité de leur structure cellulaire ne nous donnent que très peu d'éléments distinctifs au niveau de la morphologie. Généralement, ils sont classés en deux grands groupes morphologiques : les **coques** (arrondis) et les **bacilles** (bâtonnets), mais le phylum des spirochètes (bactéries longues de forme hélicoïdale) se distingue nettement des autres bactéries. La coloration, positive ou non, à la méthode de coloration Gram de leur paroi cellulaire les reclassent également en deux groupes : **Gram+** et **Gram-**. Malgré le peu d'éléments distinctifs au niveau morphologique, les procaryotes sont extrêmement divers au niveau métabolique.

Les eucaryotes eux, sont pourvus d'un noyau et d'organites cellulaires : la mitochondrie et, dans le cas d'eucaryotes photosynthétiques, le chloroplaste. Ils peuvent être microscopiques (certains champignons et la plupart des protistes) ou macroscopiques (animaux, plantes, certains protistes comme quelques algues brunes ou rouges).

Concernant les eucaryotes unicellulaires, leur taille peut quelques fois dépasser le millimètre, mais dans la plupart des cas elle reste inférieure à 200 μm . Ils ont de formes beaucoup plus diverses que les procaryotes. De ce fait, ils ont été et sont encore très souvent étudiés de part des critères morphologiques et ultrastructuraux, beaucoup plus caractéristiques et complexes que chez les procaryotes. Leur taille et leur morphologie permettent donc une description traditionnelle des protistes relativement bonne, contrairement aux procaryotes. Cependant, les approches moléculaires ont mis en évidence une diversité inattendue au sein des protistes, non seulement pour ceux de taille « normale » ($>5\mu\text{m}$), mais également au sein des pico-eucaryotes.

5. La diversité métabolique des organismes

On peut classer tous les organismes (y compris les microbes), sur le plan métabolique, selon leur type nutritionnel ; leur source d'énergie et leur source de carbone.

➤ Selon la source d'énergie:

- Les **phototrophes** utilisent la lumière comme principale source d'énergie
- Les **chimiotrophes** dépendent pour leur énergie des réactions d'oxydoréduction auxquels participent des composés inorganiques ou des composés organiques.

➤ Selon la source de carbone:

- Les **autotrophes** (qui se nourrissent par eux-mêmes) utilisent le dioxyde de carbone.
- Les **hétérotrophe** (qui se nourrissent par des autres) ont besoin d'une source de carbone organique.

Combinant les sources d'énergie et de carbone, on obtient les classes nutritionnelles suivantes : photoautotrophes, photohétérotrophes, chimioautotrophes, chimiohétérotrophes.

5.1. Les photoautotrophes

Les photoautotrophes utilisent la lumière comme source d'énergie et le dioxyde de carbone comme principale source de carbone. Ils comprennent les bactéries photosynthétiques (bactéries vertes sulfureuses et pourpres sulfureuses et cyanobactéries), les algues et les plantes vertes. Lors des réactions photosynthétiques des cyanobactéries, des algues et des

plantes vertes, les atomes d'hydrogène de l'eau (H_2O) servent à réduire le dioxyde de carbone et il y a libération d'oxygène sous forme gazeuse. En raison de la production de dioxygène (O_2), ce processus photosynthétique est parfois dit **oxygénique**.

En plus des cyanobactéries, il y a plusieurs autres familles de procaryotes photosynthétiques. Elles sont classifiées selon la méthode qu'elles emploient pour réduire le CO_2 . Ces bactéries ne peuvent pas utiliser l' H_2O pour réduire le CO_2 et sont incapables d'accomplir la photosynthèse en présence de dioxygène (O_2) (elles doivent se trouver dans un environnement anaérobie). En conséquence, leur processus photosynthétique ne produit pas de dioxygène et est dit **anoxygénique**. Les photoautotrophes anoxygéniques sont les bactéries vertes sulfureuses et les bactéries pourpres sulfureuses. Les bactéries vertes sulfureuses (aussi appelées bactéries vertes sulfo-réductrice), telles que *Chlorobium*, utilisent le soufre (S), les composés sulfurés (tels que le sulfure d'hydrogène, H_2S) ou le dihydrogène (H_2) pour réduire le CO_2 et former des composés organiques. Grâce à l'énergie de la lumière et aux enzymes appropriées, ces bactéries procèdent à l'oxydation des ions sulfure (S^{2-}) ou du soufre (S) pour donner des sulfates (SO_4^{2-}), ou du dihydrogène pour donner de l'eau (H_2O). Les bactéries pourpres sulfureuses (aussi appelées bactéries pourpres sulfo-réductrice), telles que *Chromatium* utilisent aussi le soufre, des composés sulfurés ou le dihydrogène pour réduire le dioxyde de carbone. Elles se distinguent des bactéries vertes sulfureuses par le type de chlorophylle qu'elles possèdent, les endroits où elles stockent le soufre et l'ARN ribosomal.

Les chlorophylles utilisées par ces bactéries photosynthétiques s'appellent bactériochlorophylles. Elles absorbent la lumière à des longueurs d'ondes plus grandes que celles captées par la chlorophylle *a*. Les bactériochlorophylles des bactéries vertes sulfureuses se trouvent dans des vésicules appelées chlorosomes ou vésicules de *Chlorobium*, fixées à la surface interne de la membrane plasmique. Chez les bactéries pourpres sulfureuses, les bactériochlorophylles sont situées dans des invaginations de la membrane plasmique (membranes intracytoplasmiques).

5.2. Les photohétérotrophes

Les photohétérotrophes utilisent la lumière comme source d'énergie mais sont incapables de convertir le CO_2 en sucre ; à la place, ils emploient des composés organiques, tels que les alcools, les acides gras, d'autres acides carboxyliques et des glucides comme sources de carbone. Ils sont anoxygéniques. Les bactéries vertes non sulfureuses, telles que

Chloroflexus, et les bactéries pourpres non sulfureuses, telles que *Rhodospseudomonas*, sont photohétérotrophes.

5.3. Les chimioautotrophes

Les chimioautotrophes se servent de CO₂ comme principale source de carbone. Ils utilisent les électrons provenant de composés inorganiques réduits comme source d'énergie. Les sources inorganiques d'énergie chez ces organismes comprennent le sulfure d'hydrogène pour *Beggiatoa*, l'élément soufre pour *Thiobacillus thioxydans*, l'ammoniac (NH₃) pour *Nitrosomonas*, l'ion nitrite (NO²⁻) pour *Nitrobacter*, le dihydrogène pour *Hydrogenomonas* et l'ion ferreux (Fe²⁺) pour *Thiobacillus ferrooxidans*. L'énergie obtenue par l'oxydation de ces composés inorganiques est finalement stockée dans des molécules d'ATP, qui sont produites par phosphorylation oxydative. Parce qu'ils consomment des substances inorganiques souvent présentes dans des déchets industriels polluants contenant du fer, du soufre, de l'arsenic, de l'ammoniac, du méthane, etc., les chimioautotrophes ont une grande importance dans l'équilibre des écosystèmes terriens et aquatiques.

5.4. Les chimiohétérotrophes

Les chimiohétérotrophes utilisent spécifiquement comme source d'énergie les électrons provenant des atomes d'hydrogène qui font partie des composés organiques. On subdivise aussi les hétérotrophes selon leur source de molécules organiques. Les saprophytes se nourrissent de matière organique en décomposition et les parasites obtiennent leurs nutriments d'hôtes vivants.

La plupart des bactéries et tous les mycètes, les protozoaires et les animaux sont chimiohétérotrophes. Chez les bactéries et les mycètes, une grande diversité de composés organiques servent de source de carbone et d'énergie. C'est pourquoi ces organismes peuvent vivre dans toutes sortes d'environnement.

Chapitre2

Méthodes d'étude des microorganismes

Les méthodes d'étude appliquées en écologie microbienne impliquent un large éventail de techniques dont la mise en œuvre dépend de l'espace physique et du temps retenus, qui sont eux-mêmes déterminés par la nature des objectifs et du milieu.

Globalement, deux aspects majeurs sont recherchés en écologie microbienne : la biodiversité des microorganismes qui permet d'identifier et de quantifier les différentes populations et l'activité microbienne qui rend compte de leur impact sur le milieu.

1. Mesure de la biodiversité

Dans tous les écosystèmes existe, en général, une communauté complexe de microorganismes différents dont l'étude qualitative et quantitative peut être menée de diverses manières. L'approche la plus commune emploie les techniques classiques d'enrichissement qui permettent d'isoler puis d'identifier les organismes ciblés. Les milieux sélectifs et leurs protocoles techniques d'application sont très nombreux et varient d'un organisme à l'autre. La plupart des microorganismes connus peuvent être étudiés de cette manière.

Des techniques nouvelles, principalement basées sur l'analyse de molécules hautement spécifiques et significatives, autorisent l'identification *in situ* des microorganismes d'un milieu, sans avoir à les isoler ou à les cultiver, ce qui engendre un gain de temps considérable. Très fiables aussi, elles sont en général applicables à des milieux très divers et sont basées sur différents principes :

- extraction directe et analyse de l'ADN d'un échantillon;
- utilisation de sondes d'ADN formées de fragments d'ADN caractéristiques d'organismes connus
- hybridation de l'ADN
- analyse de l'ARN 16S
- marquage des acides nucléiques aux radioisotopes.

Les techniques d'analyses moléculaires offrent des possibilités de réponse rapides, de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes, données par la confrontation des éléments analysés aux éléments équivalents d'organismes connus, constitués en banques de données et utilisés comme références.

Une autre alternative aux techniques culturales classiques de dénombrement est le comptage au microscope, sur des échantillons spécifiquement colorés. La coloration la plus commune emploie l'acridine orange qui se fixe spécifiquement aux acides nucléiques (ADN et ARN), permettant ainsi de différencier les bactéries vivantes des bactéries mortes qui répondent négativement à l'acridine orange car leurs acides nucléiques sont rapidement dégradés. La coloration de bactéries aux anticorps fluorescent est aussi courante. Elle a une très haute spécificité dans l'identification directe d'espèces ou même de souches d'une même espèce bactérienne.

2. Mesure de l'activité

De nombreuses méthodes sont utilisées pour mesurer l'activité microbienne d'un écosystème. Cette activité est spécifique et résulte de l'action d'ensemble de multiples groupes de microorganismes. Dans la plupart des cas, la mesure est simplement basée sur le dosage classique d'un paramètre physicochimique du milieu, significatif de l'activité métabolique étudiée : mesure du pH, suivi de substrats ou de produits métaboliques tels la consommation d'O₂, la production de CO₂ ou encore la production de nitrates à partir d'ammoniaque.

Il existe aussi des méthodes nouvelles, plus élaborées et surtout plus sensibles. Elles sont principalement basées sur le suivi de la consommation de composés organiques marqués par fluorescence ou par radioisotopes dont le plus commun est le carbone-14 (¹⁴C), élément atomique principal de la matière organique. D'autres éléments marqués, comme le soufre-35 (³⁵S), sont également utilisés. Une fois que les substrats métaboliques marqués sont introduits dans le milieu, le suivi de l'apparition des radioisotopes dans les produits métaboliques terminaux permet alors de mesurer l'ampleur relative de l'activité de transformation microbienne des substrats marqués. On peut de cette manière mesurer, par exemple, la méthanogènes d'un milieu naturel, en dosant la conversion en méthane marqué (¹⁴CH₄) de substrats spécifiques, comme le dioxyde de carbone (¹⁴CO₂) ou le méthanol (¹⁴CH₃OH). Sur le même principe d'autres types d'activités microbiennes sont mesurées : photosynthèse, transformation des composés soufrés

Chapitre 3

Microbiologie du sol et de la rhizosphère

1. Définition de la microbiologie du sol

Le sol est le produit de l'altération, du remaniement et de l'organisation des couches supérieures de la croûte terrestre sous l'action de la vie, de l'atmosphère et des échanges d'énergie qui s'y manifestent.

La composition et l'activité de la faune et des communautés de plantes et de microorganismes qui colonisent le sol, en surface et en profondeur dépendent des propriétés particulières du sol.

En retour, ces organismes exercent leurs effets sur la nature et la forme des composés organiques du sol ainsi que sur certaines de ses propriétés physico-chimiques (structure, pH *etc...*). Ils contribuent à l'altération de la roche mère et mélangent, associent ou complexent aux particules minérales issues de la roche mère, un matériel organique dont les uns ont fait la synthèse, et d'autres effectué la fragmentation, la dégradation et le remaniement. Les uns tirent de l'atmosphère les éléments de leur synthèse (C, N, O). D'autres les lui restituent. Le maintien de la vie sous ses différentes formes dépend de l'équilibre de ces échanges dans lesquels les microorganismes jouent un rôle prépondérant. L'étude physique et chimique des sols est donc inséparable de l'étude des organismes qui y vivent.

La microbiologie des sols a pour objet principal l'étude des interactions entre les communautés microbiennes et les autres composants de l'écosystème sol-végétation.

2. Structure et propriétés du sol

2.1. Composition

Le sol est composé de constituants minéraux et organiques, d'eau et de gaz. Les constituants minéraux se divisent en deux catégories : des minéraux primaires résultant directement de la désagrégation de la roche mère, et des minéraux secondaires néoformés. Les matières organiques du sol, quant à elles, se composent d'une fraction organique vivante (flore du sol, faune et racines végétales) de taille grossière (20 mm), non évoluée et d'une fraction organique morte (des résidus d'origine animale et végétale) en perpétuelle évolution.

2.2. Texture

La texture est définie par les proportions relatives (%) de particules argileuses, limoneuses et sableuses qui constituent la terre fine de l'horizon.

Les classes de dimensions les plus couramment utilisées pour classer granulométriquement ces particules sont les suivantes (tableau1) :

Tableau1 : Les dimensions des particules du sol.

Type de particule	Diamètre (mm)
Sable	0,1-2
Limon	0,002 à 0,1
Argile	< 0,002

2.3. Eau du sol

L'eau arrive au sol par précipitation ou irrigation, par remontée à partir d'une nappe et par les phénomènes de ruissellement et drainage. La teneur en eau est fonction de la porosité et la perméabilité du sol. Près de la surface l'eau n'est pas saturé, les espaces vides contiennent de l'eau et de l'air ; l'eau est soumise aux forces de gravité et de capillarité. L'eau est retenue dans le sol de différentes manières : par des forces d'adhésion et de cohésion et par son adsorption aux particules du sol.

2.4. Température du sol

La température du sol est directement reliée à la température de l'atmosphère parce que le sol agit comme un isolant pour la chaleur située entre la terre solide et l'atmosphère

La température est un facteur important qui contrôle la diversité microbienne. Par exemple, les chercheurs ont observé que la richesse en espèces (bactériennes) était plus faible à basse température (4°C) qu'à haute température (> 20°C). L'augmentation de la température pourrait d'une part diminuer la biomasse bactérienne et fongique, ce qui diminuerait l'utilisation des substrats carbonés.

2.5. pH du sol

Le pH de presque toutes les eaux souterraines se situe entre 6 à 9, mais le pH des sols peut être acide dans les zones où la pluviométrie lessive les bases de ce sol, principalement dans les régions arides et semi-arides. Les sols et les eaux souterraines à faible alcalinité peuvent également devenir acides en raison de contamination par la biodégradation (par la production d'acides organiques, ou de HCl par dé-halogénéation réductrice). Les champignons préfèrent des conditions acides alors que la biodégradation bactérienne tend à être plus rapide à des pH presque neutre. Par conséquent, la chaux est couramment ajoutée pour neutraliser le pH où l'acidité est préoccupante. L'oxydation microbienne de composés soufrés réduits génère des protons et peut être utilisée pour abaisser le pH des milieux alcalins.

Le pH est probablement la propriété du sol la plus fréquemment déterminée. Les sols sont classés suivant la valeur de leur pH (tableau 2).

Tableau 2 : Classification des sols suivant la valeur du pH

pH du Sol	Réaction
Moins de 4	Très acide
4 - 6	Acide
6 - 7	Légèrement acide
7 - 8	Neutre
8 - 9	Légèrement alcalin
9 - 10	Alcalin
Plus de 10	Très alcalin

2.6. Gaz du sol

Les gaz du sol sont les mêmes que ceux de l'atmosphère (N_2 , O_2 , CO_2). Toutefois dans les sols, la concentration de l'oxygène a tendance à décroître et celle du CO_2 à augmenter par rapport à celles de l'air. Dans les sols bien aérés, la concentration de l'oxygène descend rarement en dessous de 18 - 20% et celle de l'oxyde de carbone peut atteindre 1 à 2%. Les gaz résultant des activités biologiques tels que les oxydes d'azote sont présents de façon transitoire.

La solubilisation des gaz dans la solution de sol dépend de leur nature. Ceux qui se solubilisent le mieux sont ceux susceptibles de s'ioniser dans l'eau tels que CO_2 , NH_3 et H_2S . L'oxygène est moins soluble et sa concentration peut devenir pratiquement nulle dans les sols submergés. N_2 est encore moins soluble que l' O_2 et sa diffusion très lente peut limiter l'activité fixatrice de N_2 dans les sols.

3. Microflore du sol

Le sol est un milieu vivant composé de nombreux microorganismes. L'ordre de grandeur des effectifs de ces microorganismes que l'on trouve dans un gramme de sol est considérable : 10^8 à 10^9 pour les bactéries, 10^4 à 10^6 pour les champignons, 10^4 à 10^6 pour les protozoaires. Ces valeurs varient énormément en fonction de la nature du sol, du climat et de la profondeur, la plupart des organismes vivant à proximité de la surface du sol, là où se concentrent leurs ressources trophiques. L'une des caractéristiques majeures de cette composante est l'extrême variabilité de sa distribution spatiale, quelle que soit l'échelle que l'on considère. Ainsi la distribution des bactéries varie beaucoup au sein des agrégats de sol mais aussi au sein d'un horizon donné (entre les zones riches et les zones pauvres en matières organique par exemple), ainsi qu'entre horizons, en fonction de la profondeur. Cet aspect rend difficile l'étude de la biologie du sol et la gestion précise de la composante biologique.

3.1. Virus

Ce sont les plus petites entités vivantes. Ils ne peuvent se multiplier qu'à l'intérieur des cellules d'autres organismes vivants. Ils sont formés uniquement d'une enveloppe protéique contenant un acide nucléique (ADN ou ARN). Chaque virus parasite un hôte spécifique. Les virus vivants dans des microorganismes du sol parasitent des bactéries (bactériophages), des cyanobactéries (cyanophages), des actinomycètes (actinophages) et des champignons.

3.2. Bactéries

La plupart des bactéries du sol sont situées sur les surfaces des particules du sol et nécessitent de l'eau et des éléments nutritifs qui doivent être situés dans leur voisinage immédiat. 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 à Gram-positif, qui montrent des degrés variés de ramification et le développement du mycélium, sont une partie importante et moins étudiée de la communauté microbienne du sol, comprennent les *Corynebacteria*, les *Nocardia*, et les véritables bactéries filamenteuses ou actinomycètes. Ces bactéries jouent un rôle majeur dans la dégradation des hydrocarbures, des végétaux âgés, et l'humus du sol. En outre, certains membres de ces groupes dégradent activement les pesticides. Les actinomycètes filamenteux, principalement du genre *Streptomyces*, produisent un composé aromatique appelé géosmine, qui donne au sol son odeur terreuse caractéristique.

3.3. Champignons

En général, les champignons du sol forment une biomasse aussi importante que celle des bactéries. Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique des sols, par : leurs interactions avec les systèmes racinaires des plantes, leurs aptitude de colonisation et de dégradation des débris organiques de grande taille et des composés de structures complexes.

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 imperméable à l'oxygène, comme les sclérotés et des cordes hyphales. Ceci est particulièrement important pour le fonctionnement des basidiomycètes, qui forment des structures étanche 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. Ces polymérisations oxydatives ne se produisent habituellement pas chez les champignons aquatiques.

Certains champignons sont prédateurs de nématodes, ou d'amibes ou d'autres protozoaires, et jouent ainsi probablement un rôle dans le contrôle de leurs populations. En raison de la présence dans le sol de spores en abondance, produites et essaimées par toute sortes de champignons, il est difficile de distinguer les organismes autochtones des organismes zymogènes qui sont, en outre, largement favorisés par les méthodes culturales utilisées ou leur isolement et leur identification.

L'examen direct au microscope montre la présence commune de Basidiomycètes. De nombreux travaux indiquent la prédominance de : *Mucor*, *Trichoderma* et *Aspergillus*, alors que : *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cephalosporium* et *Cladosporium* sont couramment isolés.

La présence de champignons dans les sols cultivés excède, en général, celle de tous les autres groupes de microorganismes. Ils sont aussi dominants dans les sols acides mais absents dans les sols saturés d'eau, beaucoup plus favorables aux bactéries.

3.4. Algues

Les algues sont considérées comme relativement peu abondantes dans le sol. Mais leur présence est cependant commune. Elles interviennent de la même manière que les champignons mais leur rôle est limité vers la surface du sol. Elles sont difficiles à identifier, d'autant que la plupart d'entre elles dérivent d'espèces aquatiques mal connues. Les algues du sol incluent des espèces coccoïdes ou filamenteuses. Les groupes les plus courants sont des *Chlorophyceae* et certains diatomés qui sont particulièrement présents dans les milieux humides. Parmi les microorganismes photosynthétiques du sol, les Cyanobactéries sont dominants dans les sols neutres et alcalins, alors que les algues sont plus communes dans les sols acides.

3.5. Protozoaires

Les protozoaires isolés des sols sont variés et se développent dans les zones superficielles humides, au niveau des films d'eau entourant les particules. Bien que leur nourriture principale soit constituée de bactéries, les protozoaires participent à la création d'humus (processus d'humification du sol) en absorbant et en dégradant de façon involontaire des composés organiques. Ils ont également un rôle bénéfique sur la présence des autres décomposeurs. De plus, les déchets des protozoaires contiennent une grande part d'azote ammoniacal. En présence de bactéries (à pH neutre ou alcalin), cet ammoniac va être transformé en nitrates directement à proximité des racines des plantes qui attirent toute cette microfaune avec leurs sécrétions (exsudats).

4. Rôles des microorganismes dans le sol et importance de leur étude

Les nouvelles stratégies de développement agricole et environnemental nécessitent de porter plus d'attention au sol et en particulier à son fonctionnement biologique. La biologie du sol est une composante significative de la ressource du sol. Les microorganismes qui y vivent jouent un rôle essentiel dans sa fertilité et la production primaire. Ce sont, en particulier, les seuls décomposeurs ultimes de la matière organique ainsi que des acteurs nécessaires dans le recyclage des nutriments au sein des grands cycles biologiques (carbone, azote, phosphore et soufre). A ce titre, les microorganismes constituent le « moteur terrestre » catalysant tous les processus biogéochimiques connus. Les fonctions utiles des microorganismes du sol dans la rhizosphère sont les suivantes :

- décomposition des résidus de plantes, d'animaux, de microorganismes et de déchets organiques à travers la dégradation de sources carbonées (lignolyse, cellulolyse et minéralisation), la synthèse d'humus (matière organique stable et liée), la minéralisation et l'immobilisation de l'azote, du soufre et du phosphore puis l'amélioration de la structure du sol (stabilité des agrégats) ;
- nutrition à travers l'augmentation de la disponibilité de nutriments pour la plante (P, Mn, Fe, Zn, Cu), les associations mycorhiziennes symbiotiques, la production d'agents organiques utilisables et les réactions d'oxydoréduction ;
- fixation biologique d'azote par les bactéries libres ou associatives avec des plantes non légumineuses et les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote ;
- amélioration de la croissance des plantes (effet sur la germination, le développement floral, la biomasse racinaire et aérienne) à travers la production d'hormones de croissance pour les plantes et la protection des plantes contre des pathogènes et autres organismes nuisibles ;
- amélioration de la santé des plantes à travers la lutte contre les nématodes, les insectes et les mauvaises herbes ainsi que la protection contre des pathogènes ou autres organismes nuisibles;
- épuration des sols et de l'eau par la biodégradation des pesticides et de contaminants exogènes notamment les hydrocarbures et les métaux (bio-rémediation), la réduction des nitrates et le recyclage des nutriments ;

- épuration de l'air par la réduction de la production de gaz à effet de serre (CO₂, N₂O, CH₄);
- structuration du sol par la production de substances adhésives et l'agrégation de particules par des champignons filamenteux ;
- régulation des populations microbiennes à travers la prédation des bactéries par des protozoaires, l'antibiose et la compétition/commensalisme ;
- adaptation de plantes à des environnements sous contraintes par la sélection des plantes résistantes/tolérantes aux stress hydriques et l'amélioration de la croissance des plantes en milieu contaminé (phyto-stabilisation/ phyto-rémediation) ;
- conservation et enrichissement des réservoirs de biodiversité avec des organismes d'intérêt biotechnologique (enzymes en agroalimentaire et agroindustrie) et pharmaceutique (antibiotiques, anticancéreux).

5. Microorganismes et cycles biogéochimiques

Au cours de leur croissance et leur métabolisme, les micro-organismes interagissent les uns avec les autres dans le cycle des nutriments, tel que le carbone, le soufre, l'azote, le phosphore, le fer et le manganèse. Le cycle des éléments nutritifs appelé aussi cycle biogéochimique lorsqu'il est appliqué à l'environnement. Dans les cycles biogéochimiques, les éléments sont oxydés et réduits par des micro-organismes pour répondre à leurs besoins métaboliques. Sans les cycles biogéochimiques, la vie sur Terre cesserait d'exister. Tous les cycles biogéochimiques sont liés, et les transformations de ces nutriments ont des répercussions au niveau planétaire. Des composants gazeux importants se produisent dans les cycles de carbone et de l'azote et dans une moindre mesure dans les cycles du soufre. Ainsi, les micro-organismes du sol ou aquatique peuvent souvent fixer des formes gazeuses de carbone et d'azote. Par contre dans les cycles " sédimentaires ", tels que celui du fer, il n'y pas de composant gazeux.

➤ Cycle du carbone

Le carbone (C), quatrième élément le plus abondant de l'univers, après l'hydrogène (H), l'hélium (He) et l'oxygène (O), est consubstantiel à la vie. La concentration de carbone dans les organismes vivants (0,19 %) est environ cent fois celle de sa concentration moyenne sur Terre. Ces organismes doivent donc extraire (et rejeter) activement leur carbone de (et dans)

leur environnement et participent ainsi d'une manière déterminante au cycle biogéochimique de cet élément.

Le carbone sous sa forme oxydée (inorganique : dioxyde de carbone, bicarbonates et carbonates), joue un rôle important dans:

- la photosynthèse;
- l'altération chimique des minéraux et la formation des sols;
- la précipitation des carbonates;
- l'effet de serre;
- la biominéralisation (formation de carbonates par les organismes vivants);
- l'acidification des sols et des eaux.

Le carbone sous forme réduite (organique) est un élément constitutif:

- des organismes vivants;
- de la matière organique des sols;
- de la matière organique sédimentaire fossilisée (kérogène et charbon) et de ses dérivés tels que le pétrole et le gaz naturel.

Les autotrophes jouent un rôle essentiel pour la vie sur Terre en réduisant le dioxyde de carbone pour former de la matière organique. Cela se produit à la suite de la **photosynthèse**, la première étape du cycle de carbone dans lequel les photo-autotrophes tels que les cyanobactéries, les plantes vertes, les algues et les bactéries sulfureuses vertes et pourpres incorporent le dioxyde de carbone dans la matière organique à partir d'énergie solaire. Les organismes phototrophes sont abondants là où la lumière est disponible. Cependant, les habitats sombres de façon permanente sont dépourvus de phototrophes autochtones. Il ya deux groupes d'organismes phototrophes oxygénés : les plantes et les micro-organismes. Les plantes sont des organismes phototrophes dominantes des milieux terrestres, tandis que les micro-organismes phototrophes dominent dans les milieux aquatiques. Le cycle d'oxydo-réduction du carbone commence par la fixation photosynthétique du CO₂, sous l'influence de l'énergie lumineuse:



CH₂O représente la matière organique, au niveau de l'oxydo-réduction de la matière cellulaire. Les organismes phototrophes effectuent également la respiration, à la fois dans la lumière et l'obscurité. L'équation globale de la respiration est l'inverse de la photosynthèse oxygénique :



Pour que les composés organiques s'accumulent, le taux de photosynthèse doit excéder le taux de respiration. De cette façon, les organismes autotrophes produisent de la biomasse à partir de CO₂, et cette biomasse d'une manière ou d'un autre est la source de carbone pour les organismes hétérotrophes.

Dans l'étape suivante du cycle (**la décomposition**), les chimio-hétérotrophes tels que les animaux et les protozoaires se nourrissent d'autotrophes, et peuvent à leur tour être mangés par d'autres animaux. Ainsi, comme les composés organiques des autotrophes sont digérés et re-synthétisés, les atomes de carbone du dioxyde de carbone sont transférés d'un organisme à un autre dans la chaîne alimentaire. Les chimiohétérotrophes, y compris les animaux, qui utilisent une partie des molécules organiques pour satisfaire leurs besoins énergétiques. Une grande partie de carbone reste dans les organismes jusqu'à ce qu'ils excrètent les déchets ou meurent. Lorsque les plantes et les animaux meurent, ces composés organiques sont décomposés par les bactéries et les champignons. Au cours de la décomposition, les composés organiques sont oxydés, et le CO₂ est recyclé. Les phototrophes et chimolithotrophes anoxygéniques produisent également des composés organiques en excès, mais dans la plupart des environnements les contributions de ces organismes à l'accumulation de matière organique sont insignifiants par rapport à celui des phototrophes oxygénés. Les composés organiques sont dégradés biologiquement en CH₄ et CO₂. Le dioxyde de carbone, dont la plupart est d'origine microbienne, est produit par d'autres formes d'aérobies et par la respiration. Le méthane est produit dans les milieux anoxiques par les méthanogènes qui réduisent le CO₂ avec de l'hydrogène (H₂) ou par la séparation de l'acétate. Cependant, presque tout composé organique peut éventuellement être converti en CH₄ par la coopération des activités de méthanogènes et des bactéries de la fermentation. Le méthane insoluble, produit dans des habitats anoxiques, diffuse dans les environnements oxygéniques, où il est libéré dans l'atmosphère sous forme oxydé en CO₂ par les méthanotrophes. Par conséquent, la majeure partie du carbone dans les composés organiques retourne finalement au CO₂ (figure 2).

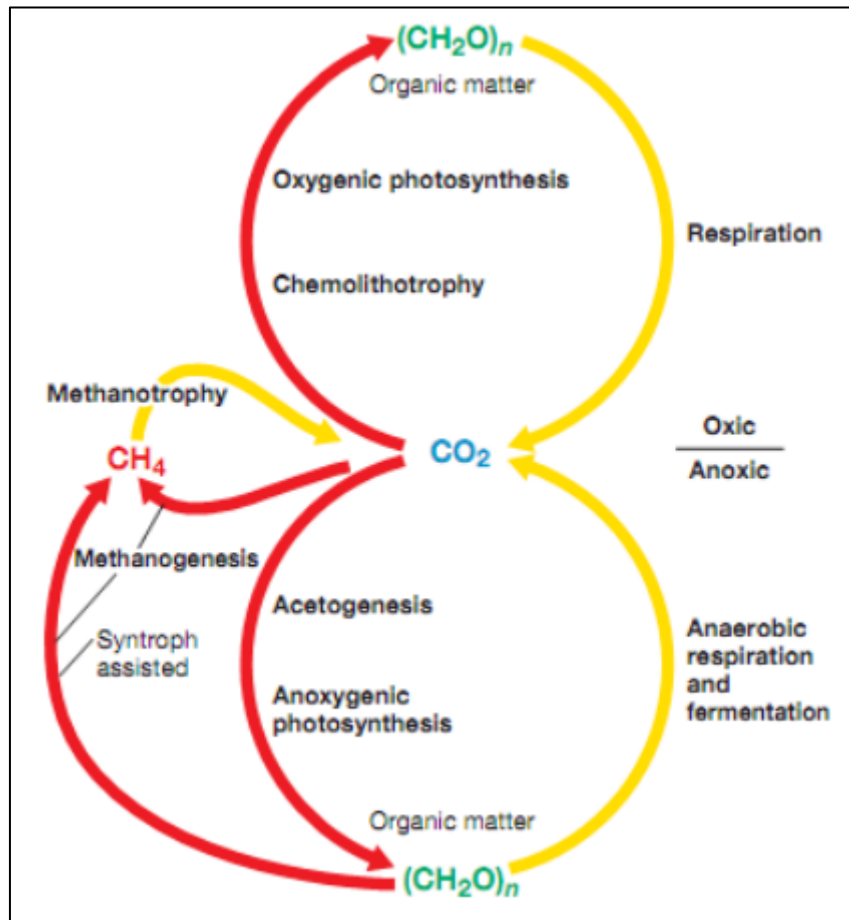


Figure 2 : Cycle du carbone

➤ Cycle de l'azote

Il dépend spécialement de l'activité des bactéries. Il est nécessaire à la synthèse des acides aminés, des acides nucléiques et des sucres aminés. Notre atmosphère est constituée de 78% d'azote, mais il ne peut être utilisé tel quel. Par contre sous forme d'ammoniac, il est assimilable par de nombreux organismes, incorporé sous forme de groupement aminé. D'autres bactéries utilisent les nitrates comme source d'azote. Dans ce cas les nitrates sont d'abord réduits sous forme d'ammoniac, sans production d'énergie à l'opposé de la respiration nitrrique. Donc la décomposition de la matière organique par les saprophytes libère l'ammoniac (désamination des acides aminés). Une partie de l'ammoniac est utilisée directement comme source d'azote. Une autre est oxydée en nitrite NO_2^- puis en nitrate NO_3^- par des bactéries chimiotrophes lors de la nitrification. D'autres bactéries peuvent réaliser la respiration nitrrique et produire de l'ATP en absence d'oxygène. Le nitrate est réduit en nitrite. Certaines bactéries peuvent franchir une étape supplémentaire en réduisant les nitrites en azote, c'est la dénitrification, qui constitue une perte d'azote assimilable.

Cette perte est compensée par les bactéries fixatrices d'azote. Grace à une enzyme (la nitrogénase). On peut citer *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Nostoc*, *Anabaena*, les cyanobactéries. Une autre forme de conversion a été récemment identifiée chez des bactéries marines dites planctomycètes, c'est la réaction anammox. Elle consiste dans l'oxydation de l'ammonium NH_4^+ en absence d'oxygène. Le nitrite est accepteur d'électron et il est réduit en N_2 gazeux (figure 3).

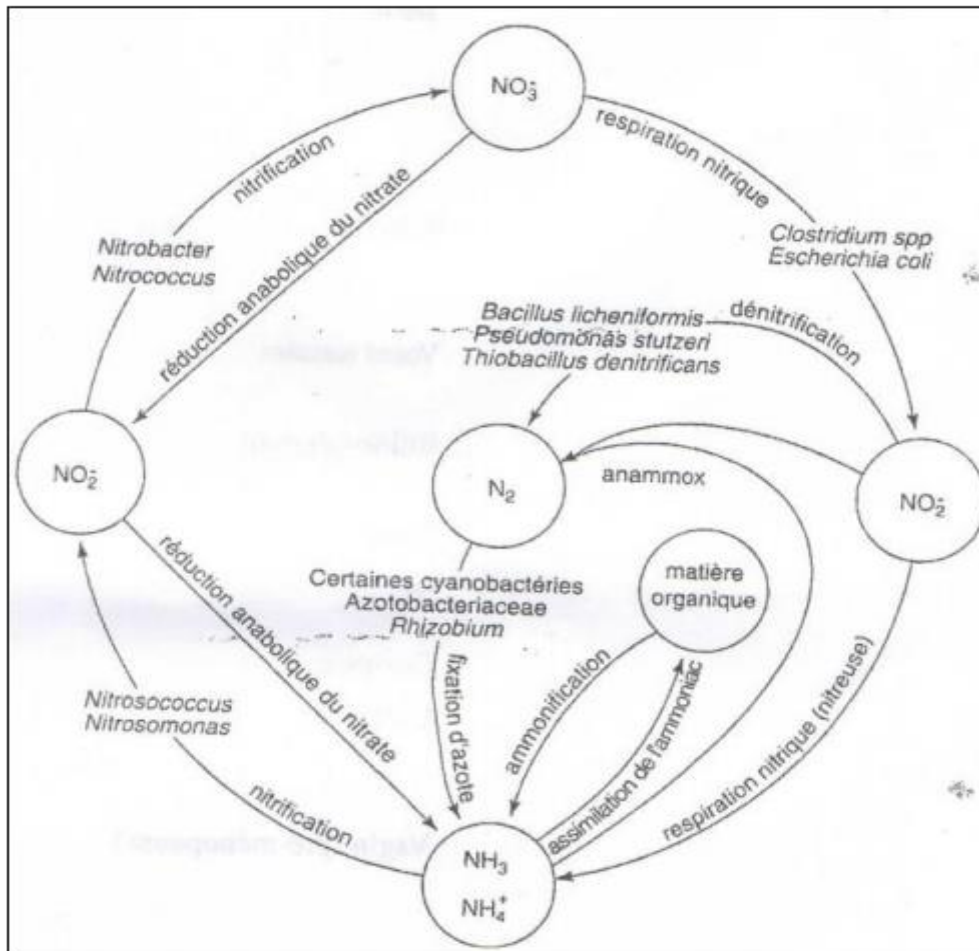


Figure 3 : Cycle de l'azote

➤ Cycle du soufre

Il intervient dans la composition de deux acides aminés la cystéine et la méthionine, dans celle du CoA. Les plantes vertes et certaines bactéries peuvent assimiler le soufre sous forme de sulfate. Mais pour être incorporé, le sulfate doit être réduit. En sulfure par un processus qu'on appelle la réduction assimilatrice des sulfates. Dans la nature, il existe des micro-organismes qui assimilent directement les sulfures produits en grandes quantités dans des

milieux aquatiques anaérobies par la respiration des sulfates. Ces sulfures sont à leur tour oxydés par des chimiolithotrophes comme *Thiobacillus* et par des bactéries photosynthétiques vertes et sulfureuses pourpres (figure 4).

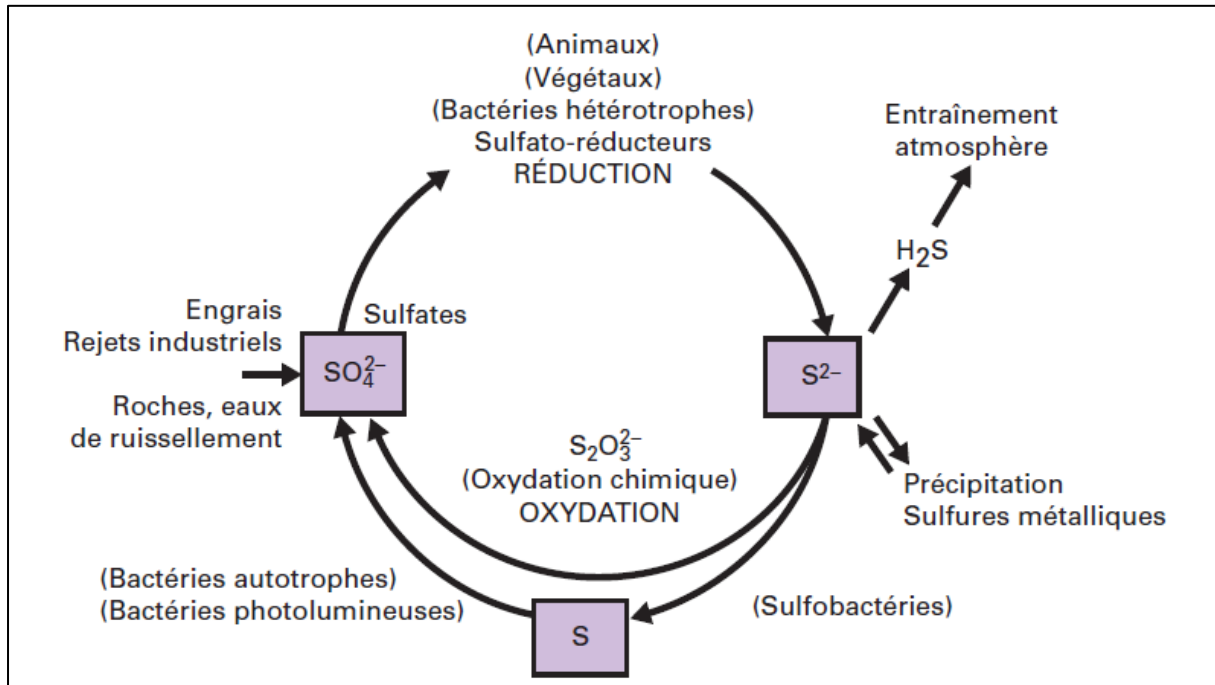


Figure 4 : Cycle du soufre

➤ Cycle du phosphore

Le phosphore est important pour la synthèse des acides nucléiques, des phospholipides... Il n'est pas disponible dans la nature. Donc, c'est souvent l'élément le plus limitant pour la croissance des organismes. Le phosphore ne peut être tiré que de la désagrégation de la roche qui contient du phosphate. Dans le sol, on trouve du phosphore organique et inorganique. L'organique est recyclé par les micro-organismes.

➤ Cycle du fer

Il consiste dans l'oxydation du fer ferreux en fer ferriques (Fe^{2+} en Fe^{3+}), dans des conditions aérobies et à pH neutre (*Thiobacillus ferrooxidans*). En anaérobiose, l'ion ferreux s'accumule dans un processus de respiration du fer, qui utilise l'ion ferrique comme accepteur d'électrons (*Geobacter*). Enfin, d'autres bactéries transforment le fer en magnétite (Fe_3O_4) qui s'accumule dans le cytoplasme. Cette magnétite est sensible aux champs magnétiques et peut servir à des bactéries pour migrer dans les plans d'eau et marécages vers des régions plus riches en oxygène.

Chapitre4

Microbiologie des milieux aquatiques (Eaux douces, océans)

L'eau recouvre plus de deux tiers de la planète, dont plus de 97% sont mobilisés dans les océans et les mers. Les eaux de surface des lacs et des cours d'eau ne représentent donc qu'un volume réduit mais elles ont un rôle majeur car c'est la fraction accessible aux besoins de l'homme. Elle permet aussi le transport des substances solubles et en suspension (dont les microorganismes) entre les différents écosystèmes de la planète.

La microflore aquatique est très variée et comprend : des bactéries, des algues des champignons, des protozoaires et des virus. Elle occupe tous les types de niches écologiques et participe activement aux processus biologiques de biosynthèse et de dégradation de la matière organique.

Les microorganismes que l'on trouve dans l'eau ont des origines très variées : certains peuvent être d'habitat essentiellement hydrique ; la plus part proviennent du sol (entraînés par ruissellement), des végétaux et animaux, vivant ou non dans le milieu aquatique, et enfin l'homme.

1. Milieux aquatiques

Les milieux aquatiques sont formés des eaux marines et des eaux douces. Elles se différencient en de nombreux écosystèmes, tous potentiellement favorables aux microorganismes dont l'activité dépend, cependant, des ressources nutritionnelles du milieu et de ses conditions climatiques et géographiques. Ces facteurs essentiels peuvent être très différents d'un milieu à l'autre.

1.1. Eaux marines

L'eau de mer est principalement caractérisée par sa salinité qui varie de 33 à 37g/l, selon sa situation géographique et climatique. Elle contient en solution principalement des composés minéraux cationique, des composés anioniques, et des gaz dissous.

La majeure partie des eaux marines se situe au-delà de 1000m de profondeur. La pression exercée par la colonne d'eau augmente d'une atmosphère tous les 10m, dépassant les 1000 atmosphères aux plus grandes profondeurs. Cette pression considérable est un des principaux facteurs de distribution des organismes vivants.

1.2. Eaux douces

Les eaux douces de la planète sont à 90% inaccessibles aux besoins de l'homme et, en même temps, protégées de ses activités car bloquées dans les glaces polaires ou trop profondément enfouies dans le sol. Cette situation donne une importance accrue aux lacs, aux cours d'eau et aux nappes phréatiques qui constituent les ressources accessibles d'eau douce.

L'eau douce des milieux naturels est de qualité très variable. Elle est en général faiblement saline et riche en minéraux et en matière organique, drainés par les pluies à partir du sol, notamment dans les zones agricoles et forestières. Cet aspect est relativement modulé par le débit des précipitations et des cours d'eau. Pour ces mêmes raisons ; les écosystèmes d'eau douce sont bien plus sensibles aux conditions du milieu que les eaux marines.

2. Cycle de l'eau

La connaissance de l'origine de l'eau, de son cycle, de sa dynamique dans la nature et sa répartition dans l'espace et dans le temps est une donnée fondamentale. L'eau fait partie d'un cycle naturel en perpétuel mouvement entre la terre et l'atmosphère (figure 5).

- L'eau s'évapore constamment au-dessus des océans, des lacs et des forêts, elle est condensée sous forme de nuages et ensuite transportée dans le ciel par vents. Dans le ciel, les nuages se condensent sous forme de vapeur d'eau autour des particules de poussières, puis tombent en précipitations sous forme de pluie ou de neige, sous l'action de phénomènes météorologiques complexes où interviennent surtout les vents et les différences de températures.

- L'eau qui ruisselle pénètre dans le sol où elle s'infiltré et va remplir les nappes souterraines. Elle traverse des couches de plus en plus profondes du sol et va abandonner dans son cheminement la quasi-totalité des impuretés dont elle s'était chargée. Les eaux souterraines circulent elles aussi, une partie se jetant directement dans la mer et le reste venant alimenter les rivières à leur source ou par le biais d'un affluent.

- Enfin, l'eau peut revenir directement à sa phase liquide dans l'atmosphère par la transpiration des végétaux qui éliminent ainsi une partie de l'eau contenue dans le sol et conservent une partie de l'eau de pluie dans leur feuillage.

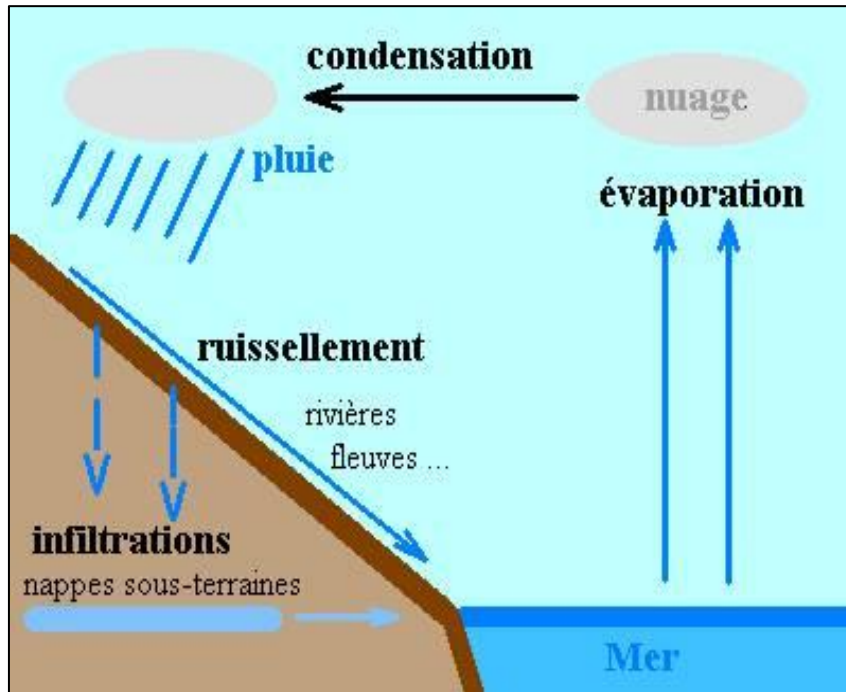


Figure 5 : Cycle de l'eau

3. Ecologie microbienne des milieux aquatiques

3.1. Eaux marines

L'écologie marine a pour finalité la connaissance de la structure et du fonctionnement des écosystèmes marins. Elle a la charge de la gestion et de la protection du milieu marin.

Les océans constituent une source de matière organique pratiquement inépuisable pour l'homme. La fertilité des océans est directement en rapport avec leur capacité de produire du plancton, c'est-à-dire une flore et une faune variées comprenant des bactéries, des algues des protozoaires, des champignons et des levures. Lorsque cette population est à prédominance d'algues, on parle de **phytoplancton** ; si, au contraire, les protozoaires sont en majorité, on l'appelle **zooplancton**. Les formes bactériennes les plus fréquentes sont des bacilles à Gram négatif des genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Cellvibrio*. Les espèces à Gram positif sont plus faiblement

représentées : *Bacillus*, *Clostridium*. Les grands cycles de la matière vivante évoluent sous l'influence des multiples activités bactériennes.

3.2 Eaux douces

Les bactéries sont les éléments clés du cycle biologique normal des eaux douces. Ce sont elles, en effet, qui vont débarrasser le milieu des matières organiques en solution qu'il contient. Le résultat est une augmentation considérable de la masse microbienne qui devient alors la proie des protozoaires prédateurs. Ces formes animales les plus rudimentaires servent elle-même de nourriture aux vairons et aux petits poissons. Les plus gros poissons dévorent les petits et l'homme se sert des uns et des autres pour son alimentation. Les déchets organiques qu'il renvoie à la rivière assurent la multiplication microbienne et le cycle est ainsi fermé.

Les eaux de surface assurent en outre le développement des algues qui se multiplient par photosynthèse et grâce aux sels minéraux en dissolution dans l'eau puis qui deviennent la nourriture des protozoaires ou des poissons.

Il en résulte un équilibre biologique naturel à l'image de ce qui passe dans le sol. C'est un véritable processus de minéralisation qui s'opère, faisant intervenir les différents microorganismes spécialisés dans les cycles du carbone, de l'azote etc.... la minéralisation profitant elle-même aux algues photosynthétiques.

Cette capacité auto-épuratrice a des limites. Elle est efficace dans la mesure où la charge de la pollution ne devient pas excessive. Elle dépend étroitement du métabolisme des microorganismes présents et de leur nombre, c'est-à-dire de la disponibilité en oxygène du milieu. Le taux d'oxygène dissous est conditionné par deux types de facteurs : la consommation biochimique d'oxygène exigée par les microorganismes pour transformer la matière organique polluantes et la réabsorption d'oxygène à la surface du cours d'eau.

La flore bactérienne auto-épuratrice de l'eau est en faible partie libre, en suspension dans l'eau (< 1%), ou adhérent aux végétaux et aux animaux (épipsammique), ou encore épibenthique sur les berges et le lit de la rivière, ou enfin benthique dans les couches limoneuses profondes.

4. Les eaux d'alimentation

L'eau destinée à l'alimentation humaine est prélevée d'eaux brutes naturelles qui possèdent des critères intrinsèques définis de qualité : limpidité et absence de coloration, de goût, d'odeur perceptibles. L'eau de consommation est potable, c'est-à-dire exempte de tout organisme pathogène ou de composé polluant nuisible à la santé des consommateurs.

Selon leur origine, les eaux d'alimentation sont de qualités différentes et nécessitent un traitement destiné à les rendre conformes aux normes réglementaires de potabilité. Ces normes sont rigoureusement contrôlées et tiennent compte de l'élimination du plus grand nombre de risques connus pour la santé publique. Elles sont satisfaisantes sur le plan microbiologique mais sur le plan chimique toutes les substances dangereuses, potentiellement présentes, ne sont pas prises en compte.

Les eaux d'alimentation ont des propriétés différentes, principalement liées à leurs origines souterraines ou de surface. Leur importance relative varie selon les conditions climatiques et géographiques.

4.1. Eaux souterraines : Elles proviennent de la gravitation des eaux de pluies à travers le sol, jusqu'aux couches imperméables où elles s'accumulent en nappes plus ou moins importantes et profondes.

Théoriquement, les eaux souterraines sont protégées par la capacité filtrante du sol qui les sépare de la surface et de ses sources de pollutions. Ce qui est vrai pour les microorganismes et les particules qui sont retenus et adsorbés par le sol et pénètrent rarement en profondeur, permettant ainsi aux nappes profondes d'être le plus souvent extrêmement pauvres en microorganismes et en matière organique. Seule subsiste alors une activité bactérienne chimiolithotrophe réduite et sans signification sur leur qualité.

4.2 Eaux de surface : Elles sont mobilisées dans les rivières, les étangs, les barrages et sont les plus exposées aux pollutions, principalement liées aux activités humaines telles que les rejets domestiques et industriels et les activités agricoles.

Les eaux de surface sont beaucoup plus sensibles aux variations de leur environnement climatique. Leur contenu en éléments nutritifs et en gaz dissous permet, en général, le développement d'une microflore autochtone riche et variée où coexistent tous les types physiologiques : phototrophe, hétérotrophe, lithotrophe. Elles accueillent aussi une microflore exogène transitoire, drainée à partir du sol ou issue des rejets humains.

5. Contrôle bactériologique des eaux

Le contrôle bactériologique d'une eau potable devrait logiquement consister à rechercher les germes pathogènes qu'elle pourrait contenir. C'est une opération très difficile à mettre en œuvre en raison du nombre d'analyse à réaliser et de leur coût. Mais il existe une alternative réaliste à cette situation : la recherche des indicateurs de contamination fécale.

Les germes pathogènes : bactéries, protozoaires, virus sont rejetés essentiellement dans la matière fécale et dans les urines de l'homme et des animaux malades ou porteurs sains. Ils peuvent par diverses voies contaminer les eaux d'alimentation. Dans les matières fécales, ces germes sont toujours accompagnés d'une microflore saprophyte d'origine digestive, considérablement plus importante et donc potentiellement plus facile à rechercher.

La mise en évidence d'une contamination fécale ne signifie pas pourtant la présence obligatoire de germes pathogènes, elle indique seulement la probabilité de leur présence qui suffit alors à déclarer l'eau non potable.

Les indicateurs les plus couramment recherchés sont : le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et dans une moindre mesure, les *Clostridium* sulfite-réductrice.

➤ **FTAM** : Cette microflore est dénombrée sur des milieux gélosés, inoculés de l'échantillon d'eau et de ses dilutions. Les cultures sont incubées à 20°C pour différencier la flore saprophyte de l'eau et à 37°C (température du corps humain) pour favoriser les bactéries d'origine intestinale.

➤ **Coliformes fécaux** : Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des

genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés.

➤ **Streptocoques fécaux** : C'est un groupe de bactéries ayant la propriété commune de posséder l'antigène sérologique D de LANCEFIELD (Streptocoques D de LANCEFIELD). Certains sont spécifiques de l'intestin de l'homme et/ou d'autres mammifères, alors que d'autres ont des habitats divers et quelques-uns sont ubiquitaires. On considère leur recherche comme un complément à celle des coliformes thermotolérants, notamment en raison de leur meilleure résistance aux conditions de l'environnement qui permettrait de détecter des contaminations anciennes.

➤ ***Clostridium* sulfito-réducteurs** : Ce sont des bactéries anaérobies sporulantes d'habitats naturels très variés, certaines étant ubiquitaires. Elles sont mises en évidence dans les eaux par la germination de leurs spores dans un milieu adéquat, ou elles forment des colonies noires en présence de sulfite de sodium et d'alun de fer.

6. Traitement de l'eau

Lorsque l'eau est obtenue à partir des réservoirs intacts alimentés par un flux montagneux clairs ou de puits profonds, elle nécessite un minimum de traitement pour la rendre potable.

De nombreuses villes, toutefois, obtiennent leur eau de sources polluées, comme les rivières qui ont reçu déchets municipaux et industriels en amont. Le traitement de l'eau n'est pas destiné à produire de l'eau stérile qui est exempt de microbes pathogènes.

La purification de l'eau peut comprendre une variété d'étapes, selon le type d'impuretés dans la source d'eau brute. Par exemple, si l'eau brute contient de grandes quantités de fer et de manganèse, qui précipitera souvent lorsque l'eau est exposée à l'air, il peut être nécessaire d'aérer l'eau et d'employer d'autres méthodes pour éliminer ces ions au début de la séquence de purification. Habituellement, l'eau municipale est purifiée par un procédé qui consiste en au moins trois ou quatre étapes (figure 6).

➤ **Sédimentation** : Si l'eau brute contient une grande quantité de matières en suspension, elle est souvent d'abord dirigée vers un bassin de sédimentation et est maintenue de façon que le sable et d'autres particules très grands puissent s'y déposer (prétraitement).

➤ **Floculation** : L'eau partiellement clarifiée est ensuite mélangée avec des produits chimiques tels que l'alun (sulfate de potassium aluminium) et la chaux, et est déplacée vers un bassin de décantation où le plus de matière précipite. Cette procédure est appelée coagulation ou floculation, qui consiste à piéger la matière colloïdale et l'entraîner vers le bas. Cette procédure supprime les micro-organismes (bactéries et virus), la matière organique, les contaminants toxiques, et les particules fines en suspension (matières colloïdales telles que l'argile qui pourrait rester en suspension indéfiniment).

➤ **Filtration** : Après floculation, l'eau est en outre purifiée par passage à travers une unité de filtration. Les filtres à sable, qui dépendent du piégeage physique de particules fines et de floes sont habituellement utilisés à cette fin. Cette filtration élimine jusqu'à 99 % des bactéries restantes. Certains protozoaires les kystes et les oocystes sont éliminés de l'eau seulement par cette filtration. Les micro-organismes sont piégés pour la plupart par adsorption à la surface des particules de sable. Ces systèmes peuvent être complétés avec des filtres de charbon activé. En effet, le charbon supprime non seulement les fines particules, mais aussi les polluants chimiques organiques dissous. Ce système de traitement pourra supprimer les virus (qui sont plus difficiles à éliminer que les bactéries et les protozoaires) avec un rendement d'environ 99,5 %. La filtration sur membrane (ouvertures de pores aussi petits que 0,2µm) à basse pression est aussi utilisée.

➤ **Désinfection**: Après filtration, l'eau est traitée avec un désinfectant. Cette étape implique généralement la chloration, ozonation, cette dernière est de plus en plus populaire. Lorsque la chloration est utilisée, et étant donné que la matière organique neutralise le chlore, on doit accorder une attention constante à maintenir des niveaux efficaces de chlore. La dose de chlore doit être suffisamment grande pour laisser le chlore libre résiduel à une concentration de 0,2 à 2,0 mg / litre. Cependant la création de sous-produits de désinfection (SPD) est préoccupante, tels que les trihalométhanes (THM) qui se forment lorsque le chlore réagit avec la matière organique. Certains de ces composés peuvent être cancérogènes. Le traitement à l'ozone est apprécié, car il ne laisse pas de goût ou d'odeur.

Parce qu'il a peu d'effet résiduel, l'ozone est habituellement utilisé comme un traitement de désinfection primaire et est suivie par la chloration. L'utilisation d'une lumière UV est également un complément ou alternative à la désinfection chimique.

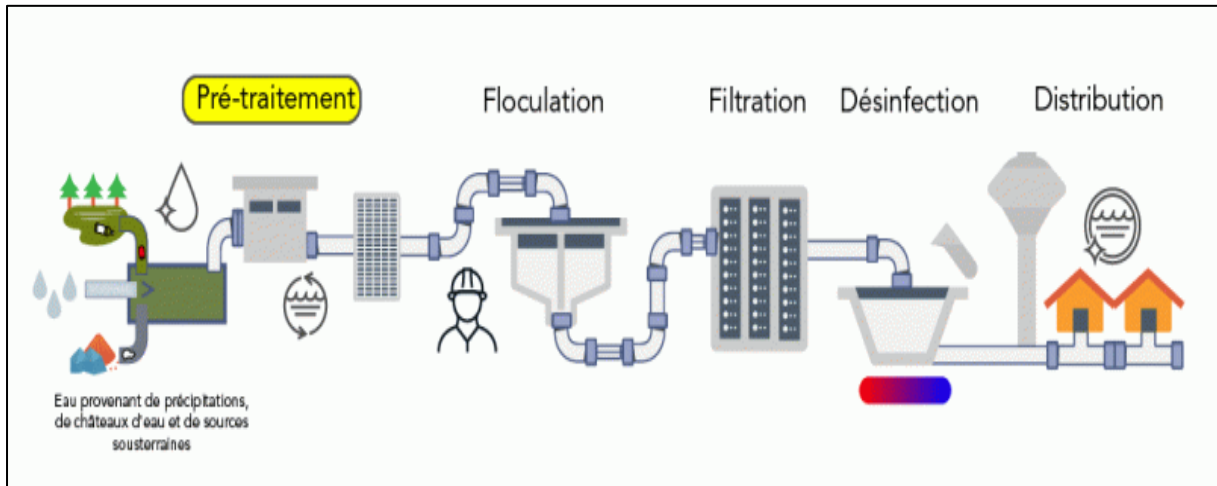


Figure 6 : Processus municipal de traitement des eaux

7. Maladies à transmission hydrique

Les maladies à transmission hydrique (MTH), sont à l'origine de la mortalité élevée des populations des pays en voie de développement. L'eau contaminée par les microorganismes est une source d'infections très importante.

Le tableau 3 montre les principales pathologies humaines transmissibles par l'eau, les germes responsables et les différentes origines de ces pathologies.

Tableau 3 : Principales infections humaines transmissibles par l'eau

	Agent responsable	Origine la plus fréquente
Sphère digestive		
Fièvre typhoïdes	<i>Salmonella typhi</i> (Para A-B)	Coquillages, Eau de boisson
Gastro-entérites	<i>E. coli</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella sp.</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i> <i>Giardia</i> <i>Cryptosporidium</i> Rotavirus	Eau de boisson, aliments crus, baignades
Choléra	<i>Vibrio cholerae</i>	Eau de boisson, aliments
Hépatite A et E	Virus	souillés, coquillages
Sphère respiratoire ORL		
Légionellose	<i>Legionella sp.</i>	
Mycoses pulmonaires	<i>Aspergillus sp.</i> Actinomycètes Thermophiles	Eaux aérosolisées, compostage
Affections ORL	Adénovirus Réovirus	Piscines, baignades
Méningo-encéphalites Amibiennes		Baignades (eau douce)
Sphère cutanéomuqueuse		
Dermatomycoses	Dermatophytes	piscines
Candidoses	<i>Candida albicans</i>	Baignades
Leptospirose	Leptospires	Baignades (eau douce)
Suppurations Bactériennes	Streptocoque hémolytique du groupe A <i>Staphylococcus</i> <i>Pseudomonas</i>	Baignades, piscines
Dermatites	Furcocercaires	Baignades (eau douce)

8. Eutrophisation des milieux aquatiques

L'introduction massive de matières organiques et d'éléments nutritifs (azote, phosphore) dans les eaux de surface perturbe les équilibres naturels des écosystèmes aquatiques. Ces apports externes, issus principalement de rejets directs d'effluents (domestiques, industriels et agricoles), de l'écoulement d'eaux de ruissellement contaminées après leur passage sur des surfaces agricoles et non agricoles, et des retombées atmosphériques, conduisent aux phénomènes de pollution des eaux continentales, ainsi que des eaux marines côtières. La manifestation la plus visible de ces types de pollutions est l'eutrophisation des masses d'eau fluviales, lacustres ou littorales, qui se traduit par un développement excessif d'algues et un appauvrissement de l'eau en oxygène, avec pour conséquence un risque accru de mortalité chez certains organismes aquatiques.

8.1. Définition de l'eutrophisation

L'eutrophisation des écosystèmes aquatiques est une succession de processus biologiques enclenchés en réponse à un apport excessif de nutriments. Elle se traduit par des réponses complexes de l'ensemble des écosystèmes aquatiques d'eau douce, saumâtre ou salée. Elle peut être progressive ou brutale. Les effets les plus notables sont des proliférations de producteurs primaires (plantes aquatiques, algues, cyanobactéries) (figure 7), des phénomènes de toxicité ou d'anoxie (absence d'oxygène), des pertes de biodiversité.



Figure 7 : Eutrophisation des milieux aquatiques

Les processus de l'eutrophisation s'appliquent à tous les milieux aquatiques, même s'ils revêtent des expressions et des dynamiques variées suivant que l'on considère les différents types d'eaux douces, d'eaux saumâtres ou salées.

8.2. Les causes de l'eutrophisation (source des pollutions)

Tout facteur qui participe à l'augmentation de la quantité d'éléments nutritifs dans les lacs peut influencer la vitesse d'eutrophisation des lacs. Ces facteurs peuvent être naturels ou anthropiques. Les nutriments (les polluants) concernés sont principalement l'azote (provenant surtout des nitrates agricoles et des eaux usées, et secondairement de la pollution automobile), et du phosphore (provenant surtout des phosphates agricoles et des eaux usées). L'ensoleillement ou la température de l'eau (qui tend à augmenter avec le dérèglement climatique) peuvent exacerber l'eutrophisation.

8.3. Pourquoi et comment lutter contre l'eutrophisation ?

8.3.1. Enjeux et importances des milieux humides

Un enjeu écologique important est à prendre en compte. En effet des espèces se trouvant seulement dans les milieux humides sont affectées par le moindre changement. La richesse écologique d'un milieu présente un enjeu écologique mais aussi économique, il est important de maintenir une ressource de qualité pour la pisciculture par exemple.

8.3.2. Action pour prévenir l'eutrophisation

➤ Le premier moyen est de limiter le rejet de substances nutritives dans le milieu. Cela peut passer par la limitation d'utilisation d'engrais en agriculture ou par la disparition des phosphates des produits quotidiens (comme dans les produits de lave-vaisselle).

➤ Ensuite, il est efficace dans certains cas de créer des zones tampons entre les champs et les cours d'eau, aussi appelés cultures intermédiaires pièges à nitrates (CIPAN). Ces zones sont des bandes enherbées et arborées qui permettent de limiter la pollution des sols en absorbant les substances nutritives via leurs racines. Les plantes vont piéger les nitrates qui ne seront ainsi pas emportés par les eaux.

➤ Enfin, une élimination plus efficace de l'azote et du phosphore par les stations d'épuration est également une solution recherchée par la mise en place de traitements complémentaires.

8.3.3. Actions pour remédier à une eutrophisation d'un milieu humide

Pour ralentir une eutrophisation ou même l'empêcher rapidement, il faut nettoyer le lac des végétaux morts qui sont en décomposition. Pour cela, il existe différentes techniques mécaniques classées en deux catégories.

➤ Traitement des sédiments

- **Décapage ou curage mécanique** qui a pour but de redonner la profondeur initiale au milieu avec des grands engins comme des bulldozers, après une baisse importante du niveau du lac.



Figure 8 : Engin de curage

- Le **dragage** consiste à extraire les sédiments déposés au fond du lac.



Figure 9 : le dragage des sédiments

➤ **Actions directes sur la surproduction végétale**

- **Faucardage et récolte manuelle** des **macrophytes** (ensemble des plantes aquatiques macroscopiques, visible à l'œil nu). Il existe plusieurs techniques pour réduire le volume de plantes aquatiques, arrachage à la main, ramassage à l'aide de râteaux ou coupe à l'aide de cisailles.



Figure 10 : Arrachage manuel de jussie depuis une barque

- **Faucardage et Coupe mécanique** des macrophytes avec des engins spéciaux de taille variable. Petits engins avec équipement de fauche ou moissonneuses avec une grande capacité d'arrachage.



Figure 11 : Faucardage à l'engin

Chapitre 5

Microbiologie des milieux souterrains

L'écologie microbienne des environnements profonds (de plusieurs dizaines à plusieurs milliers de mètres) est un sujet encore mal connu, notamment en raison de la difficulté de l'échantillonnage. L'étude de cette biosphère a commencé il y a une vingtaine d'années et a pu se développer grâce aux campagnes d'exploitation pétrolière, à des carottages profonds (pétrole, gaz, aquifère...) ou en utilisant les matériaux des sites miniers profonds.

Dans la biosphère profonde, la vie est rare mais pas inexistante. Pendant longtemps, les environnements extrêmes ont été considérés comme stériles. Mais depuis quelques décennies, les études sur la biodiversité dans ce type d'environnement tendent à prouver le contraire. Ainsi, dans les fumeurs noirs des fosses abyssales, dans les puits de pétrole, dans les geysers et autres types d'environnement, une microflore riche a-t-elle été trouvée et étudiée.

Les processus microbiens ont lieu dans différentes zones souterraines :

(1) une zone peu profonde où l'eau, venue de la surface, circule sous le niveau des racines des plantes ;

(2) des zones où la matière organique, venue aussi de la surface terrestre, a été transformée par des processus chimiques et biologiques pour devenir du charbon (à partir de plantes terrestres), des kérogènes (à partir de micro-organismes marins et d'eau douce), du pétrole et du gaz ;

(3) des zones où le méthane est synthétisé par l'activité microbienne;

(4) et de la biosphère profonde privée d'énergie.

Dans la zone peu profonde, les eaux de surface circulent souvent le long d'aquifères, structures géologiques poreuses situées sous le niveau des racines des plantes. Dans un système naturel où la zone superficielle est oxygène, les accepteurs d'électrons utilisés dans le catabolisme se distribuent depuis le plus oxydé et le plus favorable énergétiquement (l'oxygène), à proximité de la surface, jusqu'au moins favorable (où le CO₂ est utilisé dans la méthanogenèse) dans les zones inférieures.

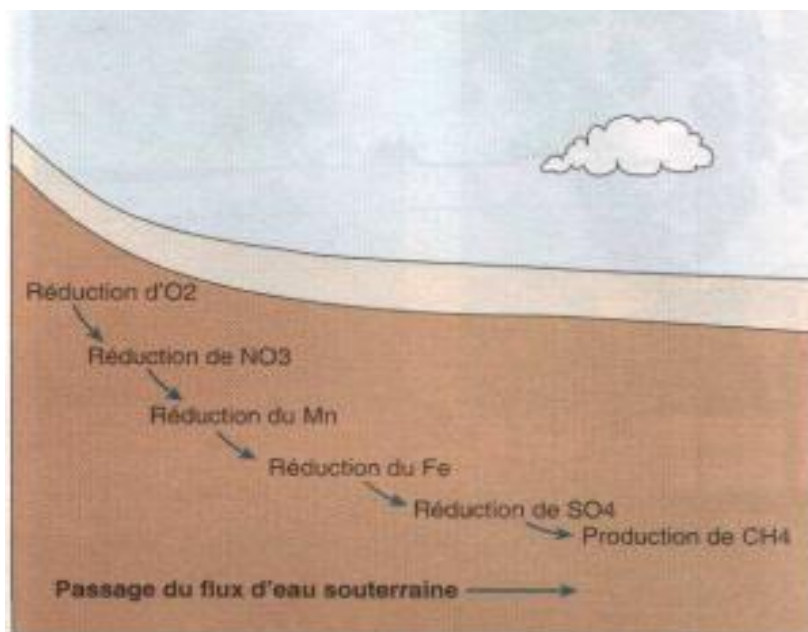


Figure 12 : La biosphère souterraine peu profonde. La zone souterraine peu profonde, dans un sédiment stable, montre la distribution des oxydants en fonction de la profondeur, comme on peut la trouver dans un aquifère aérobie intact. Dans les sédiments aérobies, la distribution des oxydants placera le plus favorable énergétiquement (l'oxygène) à proximité de la surface, et le moins favorable énergétiquement dans les zones inférieures de la structure géologique.

Dans les zones souterraines où la matière organique, venue de la surface terrestre, a été ensevelie et modifiée par les processus thermiques et peut-être biologiques, le kérogène et le charbon sont décomposés pour donner du gaz et du pétrole. Lorsqu'ils sont fabriqués, ces produits mobiles, principalement des hydrocarbures, gagnent vers le haut des structures géologiques plus poreuses où les micro-organismes peuvent être actifs. On trouve dans ces hydrocarbures du pétrole, des molécules qui sont la signature chimique de la biomasse végétale et microbienne.

Les microorganismes semblent aussi vivre dans les structures riches en pétrole de la profondeur intermédiaire : des assemblages actifs de bactéries et d'archées sont présents dans des réservoirs de pétrole à haute température (60°C à 90°C). On y trouve entre autres les genres *thermatogas*, *thermoanaerobacter* et *thermococcus* et parmi les archées, surtout des méthanogènes.

Chapitre 6

Adaptation des microorganismes aux environnements extrêmes

1. Définition des milieux extrêmes

La terre est largement constituée d'environnements où la température, la pression, le pH, la salinité, etc., sont extrêmes, c'est-à-dire où la survie de l'Homme se trouverait menacée. Ces environnements sont colonisés par des organismes que l'on appelle extrémophiles. On distingue les extrémophiles stricts, qui requièrent des conditions extrêmes pour leur survie, leur développement et leur multiplication, et les extrémophiles modérés ou extrémotolérants, qui tolèrent des conditions extrêmes mais sont aussi capables de croître dans des conditions plus modérées.

Dans la plupart des environnements, plusieurs conditions extrêmes peuvent coexister et les colonisateurs sont alors appelés poly-extrémophiles. À titre d'exemple, l'archée *Sulfolobus acidocaldarius* colonise des lieux où se produisent des éruptions gazeuses contenant de l'acide sulfurique où le pH est de 2 et la température de 80 °C. Les différentes espèces de bactéries appartenant au genre *Anaerobranca* sont thermophiles et alcalinotolérantes et ont été isolées d'échantillons provenant du parc national de Yellowstone (USA), d'un bras de mer chaude du lac Bogoria au Kenya, des sédiments d'un lac alcalin chaud situé sur l'île de Paoha en Californie, ou encore d'un bassin géothermal peu profond au Kamchatka en Russie. Les conditions extrêmes affectent la structure de tous les composants cellulaires : membranes, systèmes de transport, solutés internes, acides nucléiques et protéines. Les poly-extrémophiles ont donc développé différents mécanismes leur permettant de s'adapter aux multiples conditions auxquelles ils doivent faire face.

2. Conditions extrêmes et mécanismes d'adaptation

2.1. Température

Des températures extrêmes sont enregistrées dans des environnements froids, où la température est inférieure à 5 °C et des environnements chauds, où la température est très élevée et peut être de plus de 100 °C. Parmi les environnements froids extrêmes, on recense les profondeurs océaniques où la température varie entre -1 et 4 °C en dessous de 1000 mètres, les zones terrestres où la température des sédiments et de l'eau marine n'excède pas

-1 °C et où la glace marine peut aller jusqu'à -35 °C en hiver, ainsi que les régions alpines et les glaciers où la neige éternelle représente 20 % des sols.

Les organismes colonisant les environnements froids sont appelés psychrophiles. Ils ont un optimum de croissance de 15 °C ou moins. Les psychrotrophes, contrairement aux psychrophiles, sont des organismes capables de résister à des variations de température entre 5 et 25 °C. Parmi les organismes psychrophiles, on recense principalement des bactéries (*Pseudomonas*, *Vibrio*, *Cytophaga*, *Flavobacterium* et *Bacteroides*), des champignons (*Cryptococcus spp.*), des microalgues ainsi que quelques vertébrés comme les poissons d'antarctiques de la famille des Channichthyidae (*Chaenocephalus aceratus*). La température limite pour la vie a été enregistrée pour des bactéries qui colonisent des sols gelés en permanence et la glace marine où la température est de -20 °C.

Il existe des environnements extrêmes où la température est très élevée. Ces environnements sont souvent retrouvés à proximité de zones volcaniques actives ou le long des fractures tectoniques et des points chauds. Les volcans, geysers, fumeroles, cheminées hydrothermales des profondeurs océaniques, ainsi que les sources d'eau chaude sont des environnements où la température peut être supérieure à 100 °C. Il existe également des zones non-volcaniques considérées comme extrêmes qui sont localisées à 3000 mètres sous la surface de la terre dans des réservoirs d'huile chauffés par géothermie. On retrouve ces réservoirs sous le plancher de la mer du Nord et sous la surface enneigée du Nord de l'Alaska.

Les thermophiles et les hyperthermophiles colonisent les environnements où la température est respectivement élevée et très élevée, et ont un optimum de croissance supérieur à 50 °C pour les thermophiles et à 80 °C pour les hyperthermophiles. Les thermophiles appartiennent aux: algues et champignons, bactéries *Bacillus*, *Clostridium*, *Thiobacillus*, *Thermus spp.*, bactéries lactiques, actinomycètes, spirochètes, etc.) et archées (*Thermoplasma acidophilum*, *Picrophilus torridus*). Cependant, les organismes hyperthermophiles appartiennent exclusivement aux règnes des archées (*Sulfolobus*, *Pyrococcus*, *Pyrolobus*, *Methanopyrus...*). Le record de température pour la croissance est détenu par l'archée hyperthermophile *Pyrolobus fumarii*, capable de vivre à 113 °C.

La température affecte la structure des protéines. Les psychrophiles, thermophiles et hyperthermophiles ont donc développé des stratégies afin de maintenir la stabilité de leurs protéines et de préserver leur activité optimale sous différentes conditions. A haute

température, les thermophiles et les hyperthermophiles diminuent la flexibilité de leurs protéines grâce à l'augmentation du nombre d'interactions ioniques, de liaisons hydrogène, de ponts disulfure et d'interactions hydrophobes.

Les psychrophiles ont eux aussi développé des stratégies pour maintenir leurs protéines fonctionnelles lorsque la température diminue. Au contraire des thermophiles, la flexibilité des structures protéiques chez les psychrophiles est augmentée grâce à l'absence presque totale d'interactions ioniques et de liaisons hydrogènes, où encore grâce à l'existence d'une faible barrière énergétique entre les différentes conformations, via une faible enthalpie d'activation, une faible affinité de substrat et une forte activité spécifique. Les psychrophiles doivent aussi se protéger de la formation d'un cristal de glace qui détruirait leurs membranes. Ils préservent leur membrane en augmentant la proportion d'acides gras insaturés et en synthétisant des molécules/protéines cryo-protectrices et antigel (Protéines antigel (AntiFreeze Proteins, AFPs)) qui modifient la structure des cristaux de glace et inhibent la recristallisation de la glace à -10 °C. Ces AFPs ont été très bien décrites chez des poissons des mers Arctiques et Antarctiques, des insectes, des levures, des plantes et des champignons. Plus récemment, de telles protéines ont également été identifiées chez des procaryotes comme *Pseudomonas putida*, *Micrococcus cryophilus*, *Rhodococcus erythropolis*, *Matrinomonas protea*, et une espèce du genre *Moraxella*.

2.2. pH

Les environnements alcalins, peuvent être d'origine naturelle ou anthropique. Dans ce dernier cas, ils sont le fruit de processus commerciaux comme la fabrication du ciment ou du papier. Les lacs et les déserts de soude sont le principal type d'environnements alcalins naturels. Ces lacs et déserts ont des pH souvent supérieurs à 11,5 et on estime que plus de 80 % du volume des eaux intérieures sont alcalines. Ces lacs sont caractérisés par la présence de grandes quantités de carbonate de sodium formées par l'évaporation sous des conditions géologiques, géographiques et climatiques particulières. Bien que les environnements alcalins semblent inhospitaliers, ils sont colonisés par des organismes que l'on appelle alcalophiles et dont la croissance nécessite un pH compris entre 10 et 11. La biomasse des lacs alcalins est dominée par le règne procaryote. On retrouve néanmoins des algues eucaryotes et des protozoaires mais les exemples où ces organismes représentent une fraction significative de la population sont rares et sont souvent observés dans les lacs les plus dilués et les moins alcalins. Les lacs alcalins sont colonisés par des représentants alcalophiles des principaux

groupes trophiques de bactéries et d'archées incluant les cyanobactéries, spirochètes, protéobactéries, *thermotogas*, archées méthanogènes.

Les environnements acides sont généralement associés à des zones volcaniques, sources naturelles de dioxyde de soufre. Les geysers et les lacs sulfuriques sont également une source importante d'acidité. Enfin, les eaux acides proviennent du drainage de sites miniers acides comme ceux du Rio Tinto (Espagne) où l'eau a un pH de 2,2. Les micro-organismes qui colonisent les environnements acides sont appelés acidophiles et ont un pH optimal de croissance inférieur à 3. On recense des acidophiles eucaryotes, dont la majorité sont des microalgues telles que *Chlorella spp.*, *Chlamydomonas acidophila*, *Ulothrix zonata* ou *Klebsormidium fluitans* et des acidophiles procaryotes tels que *Ferromicrobium acidophilus* (capable d'oxyder le fer), *Thiobacillus acidophilus* (capable d'oxyder le soufre) ou encore *Acidobacterium capsulatum*. Les organismes les plus acidophiles, comme les archées *Picrophilus oshimae* et *Picrophilus torridus*, ont un pH optimal de croissance inférieur à 0,7.

Pour conserver l'activité optimale de leurs protéines et leur intégrité structurale, les organismes doivent maintenir un pH cytoplasmique entre 7,4 et 7,8. Les acidophiles et les alcalophiles évoluant dans des milieux où le pH externe est respectivement en dessous de 1 et au-dessus de 10, ils ont développé des stratégies afin de maintenir leur pH interne proche de la neutralité.

Pour les alcalophiles, l'utilisation de pompes à protons qui permettent d'augmenter la concentration intracellulaire en ions hydrogène et ainsi d'augmenter le pH interne est une stratégie répandue. Cependant, la façon dont leurs protéines extracellulaires restent actives à des pH extrêmes est encore inconnue à ce jour.

Pour les acidophiles, plusieurs mécanismes ont été observés pour maintenir un pH interne proche de la neutralité. Il existe des mécanismes actifs comme les pompes à protons qui pompent l'excès de protons à l'extérieur de la cellule, notamment observés chez *Bacillus acidocaldarius* et *Thermoplasma acidophilum*. De plus, les acidophiles ont une capacité de tamponnage interne élevée grâce à une large gamme d'acides aminés tampon comme par exemple des acides aminés basiques. La membrane a également un rôle essentiel dans l'adaptation des acidophiles à leur milieu, puisque la perte de leur intégrité pour des pH supérieurs à 4 est causée par une déficience de la fonction de barrière de la membrane.

2.3. Pression

Les environnements terrestres viables pour l'Homme où la pression atmosphérique est de 10^5 Pascal (Pa) ou moins ne représentent qu'1 % de la biosphère. Des pressions atmosphériques supérieures sont considérées comme extrêmes et sont retrouvées au fur et à mesure que l'on se rapproche du centre de la terre.

Dans les océans, la pression hydrostatique augmente de 10 MégaPascal (MPa) par kilomètre dans la colonne d'eau et de 30 MPa par kilomètre sous le plancher océanique. En termes de volume, les environnements à forte pression représentent la plus grande partie de la biosphère puisque 70 % de la surface terrestre est recouverte d'océans dont la profondeur moyenne est de 3800 mètres et où la pression moyenne est 380 fois supérieure à celle de la surface terrestre. Dans les fosses océaniques, la pression hydrostatique peut atteindre 110 MPa. En plus des environnements marins profonds, des régions à fortes pressions sont retrouvées dans les lacs d'eau douce telle que le lac Baikal en Sibérie où la profondeur maximale est de 1600 mètres.

Les organismes colonisateurs des environnements à haute pression ont initialement été appelés barophiles. Pour des raisons étymologiques, le terme barophile a aujourd'hui été remplacé par celui de **piézophile** puisque le préfixe « baro » signifiait poids en grec alors que le préfixe « piezo » signifie pression. On appelle piézophiles les organismes qui supportent des pressions supérieures à 0,1 MPa. On distingue les hyperpiézophiles dont l'optimum de croissance est supérieur à 60 MPa. Actuellement, les organismes les plus piézophiles sont des actinomycètes affiliées aux genres *Dermacoccus*, *Kocuria*, *Micromonospora*, *Streptomyces*, *Tsakamurella* et *Williamsia* isolés de la fosse des Mariannes à 10 898 mètre de profondeur dans l'océan Pacifique où la pression enregistrée est supérieure à 100 MPa.

Les environnements où l'on enregistre une forte pression sont presque exclusivement associés à des températures extrêmes. Les organismes qui les colonisent sont donc pour la plupart poly-extrémophiles et leur survie est déterminée par leur adaptation à une forte pression ainsi qu'à des températures extrêmes, comme *Marinitoga piezophila* ou plusieurs espèces du genre *Pyrococcus* (*P. kukulkanii*, *P. yayanosii*, *P. furiosus*, *P. woesei*, *P. horikoshii*, *P. abyssi*, *P. glycovorans*) qui colonisent les cheminées hydrothermales des profondeurs océaniques.

Les mécanismes d'adaptation des piézophiles à leur environnement ont été beaucoup moins étudiés que ceux des autres extrémophiles. Néanmoins, il a été observé que *Photobacterium profundum* accumule des monomères et oligomères de β -hydroxybutyrate en réponse à une pression hydrostatique et que *Marinitoga piezophila* accumule des acides aminés (α -glutamate, proline et alanine) en réponse à une pression atmosphérique élevée. Cependant, le rôle de ces solutés dans l'adaptation à de fortes pressions n'a pas été investigué.

2.4. Autres conditions extrêmes

2.4.1 Radiations ionisantes

Les radiations ionisantes sont des particules ou rayonnements énergétiques ayant la capacité de transmettre leur énergie à la matière irradiée. Un rayonnement ionisant possède assez d'énergie pour créer des dommages dans la matière qu'il traverse. Les radiations affectent les cellules en abimant leurs organites et en endommageant leur ADN, directement ou indirectement via l'action des espèces réactives de l'oxygène (EROs), formées par la réaction des molécules de dioxygène avec les radiations. Ces EROs sont responsables de mutations et de cassures sur les brins d'ADN.

Certains procaryotes ont développé des mécanismes qui leur permettent de résister à une exposition à de très fortes doses d'irradiation. Ils sont appelés radiophiles. Les trois organismes les plus résistants à la radioactivité découverts à ce jour sont les bactéries *Deinococcus radiodurans*, *Deinococcus radiophilus* et *Rubrobacter radiotolerans*. La bactérie *Deinococcus radiodurans* isolée d'un réacteur nucléaire peut survivre à plus de 20 000 Gray de radiation gamma, c'est-à-dire 2000 fois la dose létale pour un homme. Ces radiations fragmentent son génome, mais un système efficace de réparation lui permet de réparer son ADN en quelques heures et de subir jusqu'à 150 cassures double brin par chromosome.

2.4.2 Métaux lourds

Aucune définition scientifique n'est clairement établie mais on appelle métaux lourds des éléments métalliques naturels dont la densité est supérieure à 5 g.cm⁻³. Les métaux lourds existent naturellement mais en quantité très faible dans les sols, l'eau et l'air. Ils peuvent être libérés dans l'atmosphère par des sources naturelles comme les feux de forêt ou les éruptions volcaniques. Certaines activités humaines comme la combustion du charbon, du pétrole, des déchets et certains procédés industriels libèrent une grande quantité de métaux lourds dans l'environnement. Les principaux métaux lourds émis dans l'atmosphère par les activités humaines sont le zinc, le cuivre, le nickel, le plomb, le chrome, le sélénium, l'arsenic, le mercure et le cadmium.

Les bactéries de l'environnement qui peuvent supporter de fortes concentrations en métaux lourds sont appelés métalophiles. La plupart des systèmes de résistance sont codés par des groupes de gènes présents sur des plasmides, mais des systèmes similaires sont retrouvés sur le chromosome pour certaines espèces (*Bacillus*).

Chapitre 7

Biotransformation et biodégradation des polluants

Les activités humaines rejettent parfois des contaminants dans l'environnement. Puisqu'il est souvent impossible de simplement retirer l'eau ou les sols contaminés pour dépolluer un milieu, des solutions biotechnologiques ont été développées afin de permettre la décontamination. Certains polluants peuvent être dégradés, transformés ou accumulés par des micro-organismes ainsi que par certains végétaux. Cette capacité naturelle qu'ont certaines espèces de se nourrir des contaminants en les dégradant permet de remédier à de nombreux problèmes environnementaux.

1. Biodégradation des polluants

La biodégradation des polluants est le processus naturel de décomposition des contaminants par l'action des microorganismes et des végétaux.

1.1. Biodégradation des métaux lourds

Les microorganismes interagissent avec les métaux selon deux grands types d'actions :

- en modifiant l'environnement : potentiel redox modifié entraînant une oxydation du métal et, ainsi, le rendant plus soluble ; acidification du milieu permettant aussi de garder le métal en solution ;

- plus spécifiquement en formant des complexes solubles avec le métal par production de métabolites (acide citrique, pyruvique.....)

Selon la source d'énergie utilisée, deux types de microorganismes peuvent être impliqués :

- Des chimioorganotrophes tels les bactéries du genre *Cellulomonas* ;
- des chimiolithotrophes du genre *Thiobacillus* notamment *T. ferroxydans* et *T. thioparus*

D'autres mécanismes existent aussi :

- précipitation des ions métalliques sous forme de sulfure par des bactéries sulfatoréductrices en présence de nutriments organiques, de sulfates et en anaérobiose ;
- complexation par des microorganismes synthétisant des métabolites à grande affinité pour les métaux (protéines, polysaccharides) ;

- absorption des métaux par la biomasse (vivante ou morte) sur les sites membranaires, par exemple l'uranium (*Streptomyces sp.*), le plomb et le cadmium (*Citrobacter sp.*), le cobalt, le cuivre et le nickel (*Zooglea sp.*), l'argent (*T. ferrooxydans*).....

1.2. Biodégradation des hydrocarbures et des rejets industriels

La pollution par hydrocarbures (de 30 à 70% d'hydrocarbures saturés, de 20 à 40 % d'hydrocarbures aromatiques et polyaromatiques, de 5 à 25% d'hydrocarbures polaires et de 0 à 10% d'asphaltènes) pose de gros problèmes d'élimination. Afin d'éliminer cette pollution, l'emploi de méthodes physicochimiques (évaporation, solubilisation, émulsification, sédimentation, photo oxydation) a montré rapidement ses limites et même peut se révéler néfaste (toxicité de certains dispersants ou des émulsions qu'ils forment). On a donc été amené à développer l'utilisation des microorganismes.

Dans un premier temps, la biodégradation naturelle par les souches sauvages a été étudiée et reste le plus important mécanisme de dégradation naturelle. Ainsi, les groupes bactériens suivants s'avèrent des « dépollueurs » prépondérants : *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*....En fait, une seule souche ne peut généralement pas métaboliser à elle seule les polluants. Une « communauté » de microorganismes est requise, chacune des espèces réalisant une partie du processus de dégradation. Elles doivent travailler en synergie et une déficience en l'une d'entre elles diminue fortement l'efficacité du traitement.

Le traitement des nappes souterraines polluées peut se faire par injection dans le sous-sol de cultures bactériennes (par exemple *Arthrobacter*, *Azotobacter*) en présence d'eau oxygénée et de nutriment minéraux (KNO_3 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4)

D'une manière générale, on peut utiliser aussi les microorganismes pour le traitement des rejets provenant des industries chimiques et contenant des substances toxiques (pesticides, composés halogénés, chlorés, benzène, toluène, hydrocarbures aromatiques....). On peut traiter directement les effluents rejetés ou les sols et nappes phréatiques contaminés. Ce sont essentiellement les germes du genre *Pseudomonas* qui sont utilisés : dégradation de la diméthylamine (*aminovorans*), du phénol et du camphre (*putida*) du P-crésol (*fluorescens*), du 2,4,5 trichlorobenzoate (*cepacia*), du trinitrotoluène (*aeruginosa*)..... d'autres microorganismes peuvent être aussi utilisés : *Enterobacter* dégrade l'insecticide DDT,

Brevibacterium les dioxines, *Aspergillus* la cellulose, *Acremonium charticola* le caoutchouc vulcanisé, *Cladosporium resinae* le kérosène.

2. Valorisation biologique

La valorisation biologique, appelée aussi valorisation organique, est un mode de traitement des déchets organiques par compostage ou méthanisation. Il existe plusieurs flux de déchets organiques : les boues (fumier, lisier, boues d'épuration), la fraction fermentescible des ordures ménagères (épluchures, etc.), les déchets fermentescibles de l'industrie agro-alimentaire, les déchets verts et sous-produits de l'agriculture.

2.1. Le compostage

C'est un procédé biologique contrôlé de conversion et de valorisation des substrats organiques, sous-produits de la biomasse et déchets organiques d'origine biologique en un produit stabilisé, hygiénique, semblable à un terreau, riche en composés humide.

Les matières organiques compostables sont :

- les fermentescibles des ordures ménagères et déchets verts ;
- les déchets de stations d'épuration urbaines ;
- papier carton des ordures ménagères.

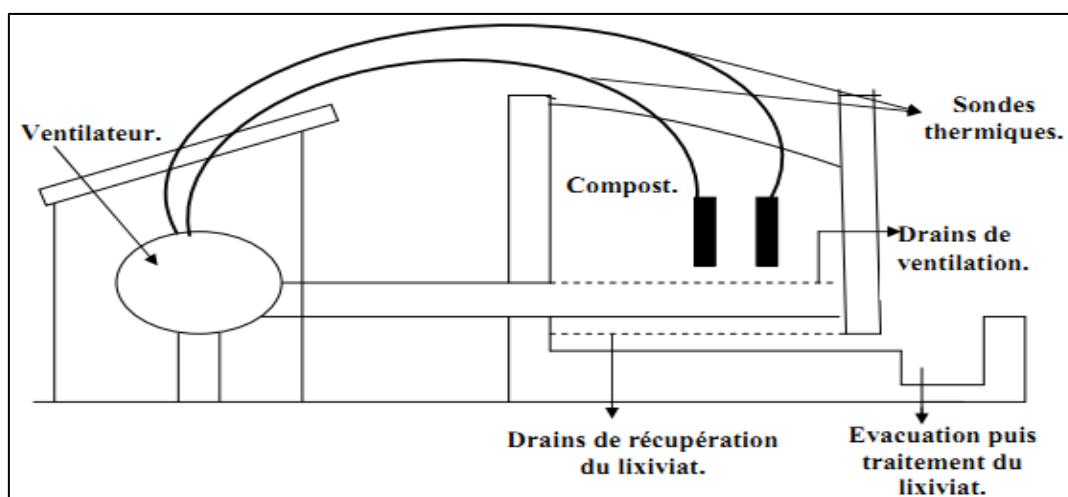


Figure 13 : Schéma d'une installation de compostage

Le compostage nécessite une microflore constituée essentiellement de bactéries, actinomycètes, champignons, protozoaires et algues dont l'activité est influencée par les facteurs du milieu qui sont particulièrement :

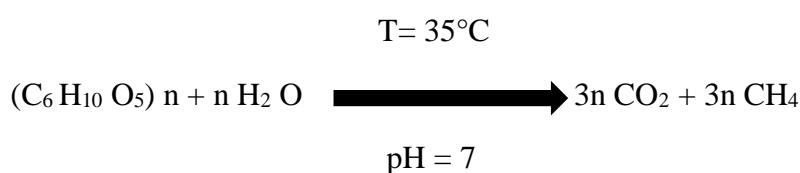
- La teneur en oxygène, car les micro-organismes étant surtout aérobies ;
- L'humidité ; l'optimum pour le compost urbain étant de 50 – 60 %
- La température moyenne pouvant atteindre 65°C, parfois plus et ce compte tenu de l'aspect mésophile et thermophile de la microflore ;
- Le pH optimal étant la neutralité. Son évolution au cours du compostage exige une correction par ajout de la chaux.

Les produits du compostage présentent un intérêt organique comme valeur fertilisante, amendement organique des sols en viticulture, arboriculture, floriculture, sylviculture et en espaces verts. Les opérations de compostage suivent généralement la séquence suivante :

- 1) Tri
- 2) Broyage
- 3) Préparation de la charge.
- 4) Fermentation aérobie en tas (andains)
- 5) Contrôle de l'humidité, de la température et de l'aération.
- 6) Maturation

2.2. La méthanisation

La méthanisation est un procédé de dégradation de la matière organique par une flore microbiologique en l'absence d'oxygène tout en produisant un gaz à haute teneur en méthane selon la réaction chimique :



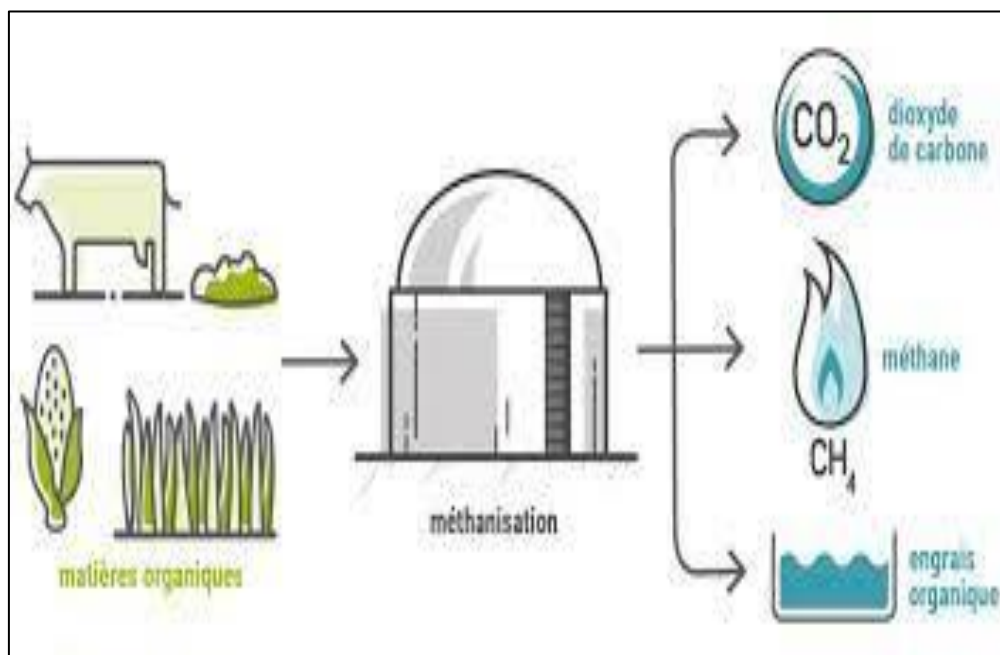


Figure 14 : Schéma de la méthanisation

Elle s'applique à la plupart des déchets organiques, alors qu'elle peut être compétitive par rapport au compostage, pour des tonnages supérieurs à 20.000 tonnes/an. La méthanisation est une filière de stabilisation avant stockage au centre de stockage de déchets ultimes, qui limite l'émission de gaz et de lixiviats.

Chapitre 8

Relations symbiotiques / syntrophiques avec des organismes eucaryotes

1. Associations des micro-organismes du sol avec les végétaux

Les plantes sont la principale source de matière organique dont la plupart des micro-organismes du sol dépendent ; en outre, elles sont fortement colonisées par des microorganismes, beaucoup d'entre eux ont développé des relations étroites avec les végétaux (commensalisme, mutualisme, pathogènes). Différents types de micro-organismes sont associés aux feuilles, tiges, fleurs, graines et aux racines. La communauté microbienne influence directement ou indirectement les plantes. Cette communauté inclut des micro-organismes qui se développent à la surface de la plante ou épiphytes, et à l'intérieur des cellules végétales ou endophytes.

1.1. Micro-organismes de la phyllosphère

Une grande variété de micro-organismes se trouvent sur les surfaces et dans les parties aériennes des plantes, appelée la phyllosphère. Il s'agit notamment de microorganismes qui ont des interactions complexes avec la plante à différents stades de développement. Les feuilles et les tiges libèrent des composés organiques, et cela peut conduire à un développement massif de microorganismes, incluant les *Sphingomonas*, qui peuvent survivre à des niveaux élevés de rayonnement UV. Cette bactérie, aussi commune dans les sols et les eaux, peut se produire à 10^8 cellules par gramme de tissu végétal. Les *Sphingomonas* représentent souvent la majorité des espèces cultivables. Les micro-organismes de la phyllosphère jouent un rôle important dans la protection mais peuvent éventuellement nuire à la plante.

1.2. Micro-organismes de la rhizosphère et du rhizoplan

La rhizosphère, terme employé pour la première fois en 1904 par Hiltner, correspond à la zone du sol soumise à l'influence des racines vivantes, caractérisé par une intense activité microbienne. Les propriétés abiotiques et biotiques particulières de la rhizosphère sont dues à la libération dans le sol de nombreux composés (diffusion de sucres, acides aminés et organiques ; sécrétion de mucilages, de phytosidérophores, de composés allélopathiques ; excrétion d'ions carbonate, de protons, d'éthylène) qui stimulent les microorganismes du sol.

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol racine. En effet, le rhizoplan (la surface de la racine) et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant.

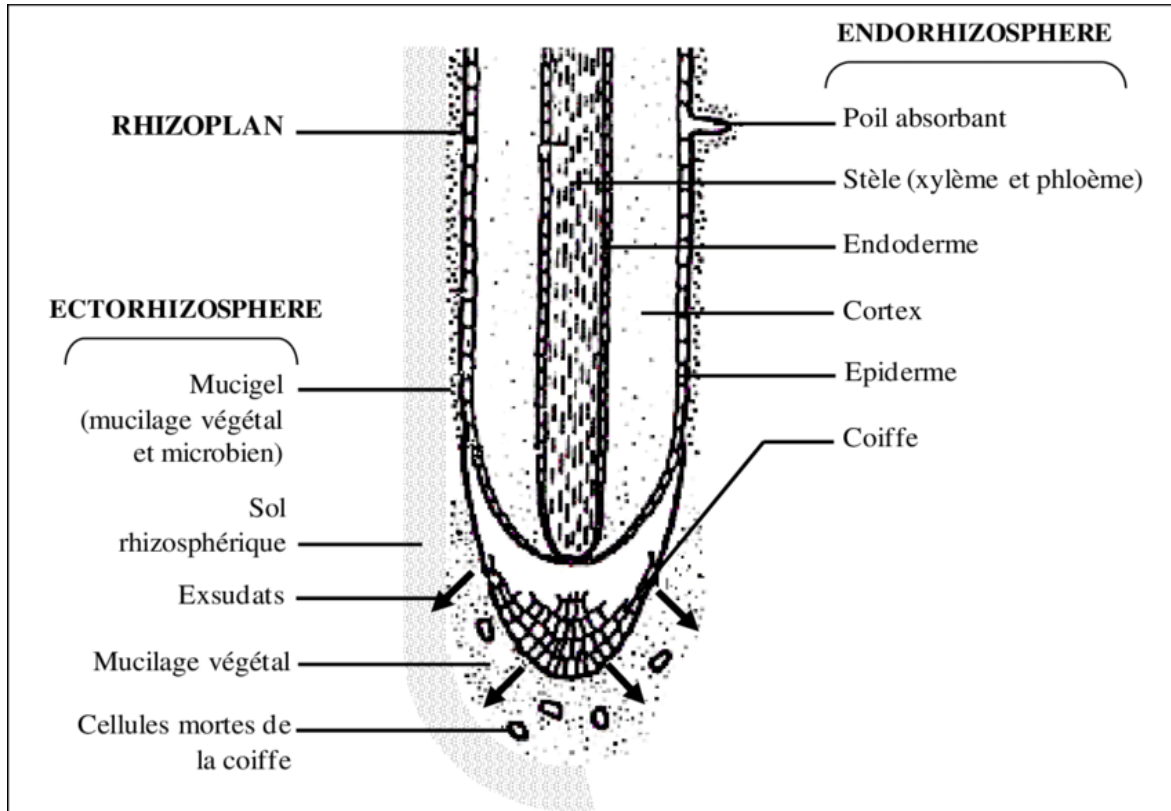


Figure 15: Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère

Dans la rhizosphère une large gamme de bactéries peut favoriser la croissance des plantes, en communiquant avec celles-ci au moyen de signaux chimiques complexes. Ces signaux chimiques, incluent des auxines, gibbérellines, glycolipides, et cytokinines, qui sont un intéressant moyen biotechnologique. Parmi les rhizobactéries qui promouvoient la croissance des plantes (PGPR) on retrouve les genres *Pseudomonas* et *Achromobacter*.

Les micro-organismes tels que *Azotobacter*, *Azospirillum* et *Acetobacter* fixant l'azote sont présents sur la surface des racines des plante, le rhizoplan, ainsi que ceux présents dans la rhizosphère contribuent à l'accumulation d'azote par les graminées tropicales. Ces bactéries favorisent la production d'hormones qui augmentent la croissance et le développement des radicelles et donc une plus grande capacité de la plante à absorber les substances nutritives.

1.3. Associations spécifiques

Les plantes interagissent étroitement avec les micro-organismes aussi bien par leurs racines que par et la surface des feuilles ; et même plus intimement au niveau de leur tissu vasculaire ou encore au niveau de leurs cellules. La plupart des mutualismes entre les plantes et les micro-organismes accroissent la disponibilité des éléments nutritifs pour les plantes ou augmentent leurs défenses contre les agents pathogènes. Parmi ces phénomènes mutualistes on peut citer :

- les mycorhizes : un mutualisme dans lequel les plantes se dilatent et interconnectent leur système racinaire par l'association avec un champignon;
- les nodules racinaires : un mutualisme permettant la fixation de l'azote atmosphérique;
- endophyte pathogène : maladie de la galle du collet, une symbiose qui est nuisible à la plante.

1.3.1. Mycorhizes

1.3.1.1. Les composantes de la symbiose mycorhizienne

Les mycorhizes résultent d'une union durable basée sur des échanges réciproques entre les racines des végétaux et certains champignons du sol. Elles constituent des composantes essentielles dans la relation sol-plantes-microorganismes. En effet, certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans s'associer à un partenaire fongique.

Le nouvel organe mixte résulte de l'association intime de la plante hôte et du champignon mycorhizien et chaque partenaire optimise son développement grâce à cette symbiose. Les racines de plus de 80 % des espèces de plantes vasculaires présentent ou sont susceptibles de présenter des structures mycorhiziennes au sein de leur système racinaire. La présence de mycorhizes est donc un phénomène général chez les plantes à l'exception de quelques familles comme les *Brassicaceae*, les *Caryophyllaceae*, les *Cyperaceae*, les *Juncaceae*, les *Chenopodiaceae* et les *Amaranthaceae* qui présentent très peu d'associations mycorhiziennes. Leur impact est primordial dans tout ou partie du cycle de la plante, surtout, mais non exclusivement, pour la nutrition. Le champignon profite des ressources carbonées synthétisées par la plante via la photosynthèse et qui sont indispensables à son métabolisme et à sa fructification. En retour, les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte grâce à l'augmentation du volume de sol prospecté et à la production de divers

enzymes extracellulaires (protéinases, phosphatases, etc.) susceptibles de mobiliser des éléments nutritifs à partir de composés complexes du sol.

1.3.1.2. Les principaux types la symbiose mycorhizienne

➤ **Les ectomycorhizes** (du grec *ektos* : à l'extérieur) où les champignons se développent essentiellement autour de la racine, en formant un manchon mycélien (le manteau) à partir duquel se développent des hyphes qui s'insèrent entre les cellules corticales de la racine (réseau de Hartig). Ce type d'association est principalement représenté chez les essences forestières des régions tempérées, méditerranéennes et boréales, mais il a été également décrit chez quelques espèces tropicales de la famille des *Dipterocarpaceae*, *Euphorbiaceae*, *Cesalpiniaceae*, *Myrtaceae* et *Fagaceae*). Les partenaires fongiques appartiennent aux Basidiomycètes (*Boletus*, *Russula*, *Laccaria*...), mais aussi aux Ascomycètes (*Tuber*, *Elaphomyces*...).

➤ **Les endomycorhizes** (du grec *endon* : à l'intérieur) sont caractérisées par l'absence de manchon mycélien externe et par la pénétration des hyphes fongiques dans les cellules corticales. On rencontre :

- **Les endomycorhizes des Orchidées** formées par des Basidiomycètes et **les endomycorhizes des Ericacées** associées aux Ascomycètes (les *Pezizaceae*). Dans ces deux cas, le mycélium forme des pelotons à l'intérieur des cellules du parenchyme cortical.

- **Les endomycorhizes des cistacées** où les pénétrations endocellulaires ont une forme coralloïde. Les champignons symbiotiques impliqués appartiennent aux Ascomycètes hypogés (les *Terfeziaceae*).

- **Les mycorhizes à vésicules et arbuscules** formées par des champignons inférieurs et qui concernent environ 80 % des espèces végétales. Ces associations doivent leur nom aux structures fongiques résultant des hyphes intracellulaires qui se ramifient intensément à l'intérieur des cellules du cortex racinaire pour former des structures appelées arbuscules. Ces hyphes peuvent former des vésicules.

➤ **Les ectendomycorhizes** Il arrive que les ectomycorhizes et les endomycorhizes soient présents en même temps sur une racine, on parle alors d'ectendomycorhizes, le premier type est minoritaire et concerne surtout les arbres, le second est majoritaire et concerne presque

tous les végétaux. Ils montrent simultanément, un manteau réduit ou absent qui possède un réseau de Hartig bien développé, des structures des ectomycorhizes et des hyphes qui pénètrent dans les cellules racinaires, des structures des endomycorhizes.

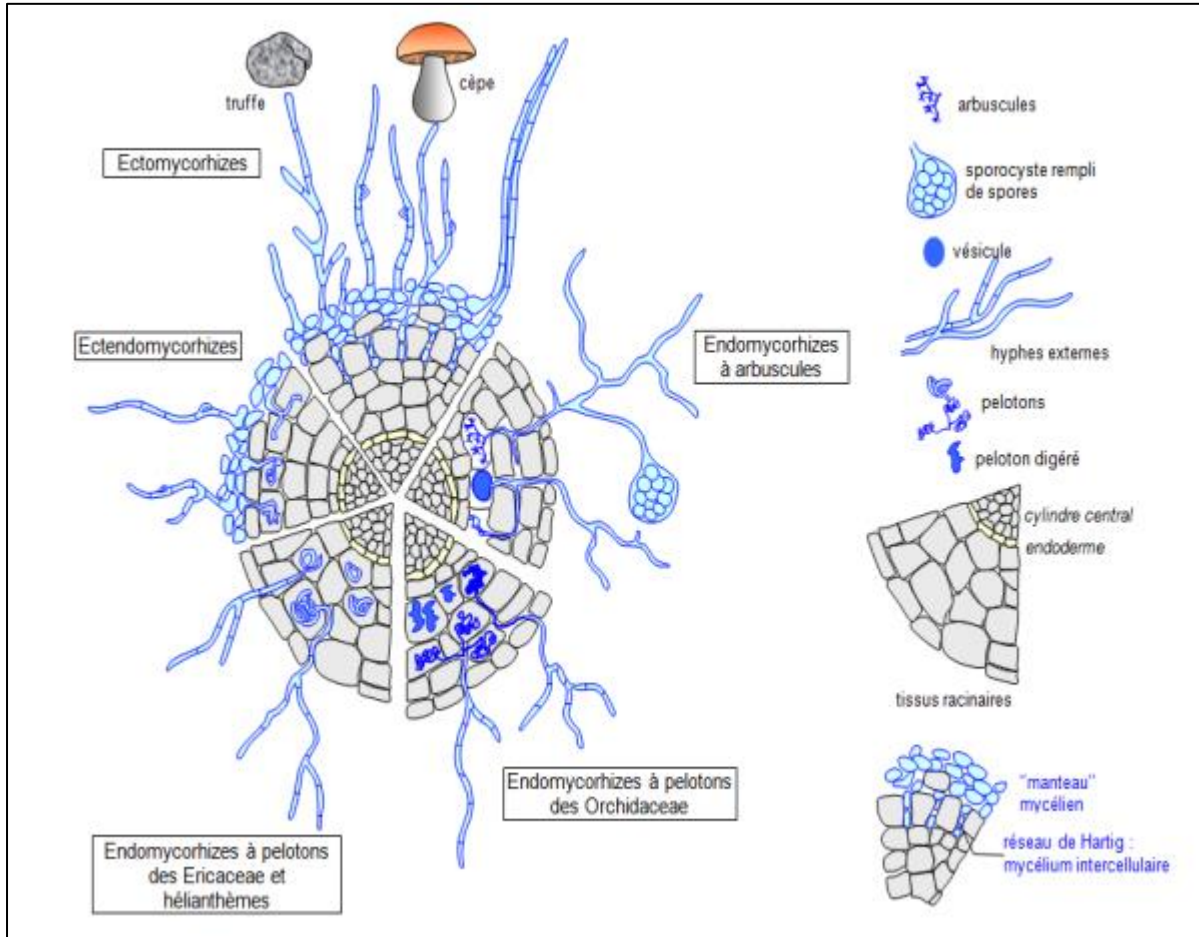


Figure 16 : Principales formes de mycorhizes associées aux racines des plantes

1.3.2. Actinorhizae

Des relations actinorhiziennes, se produisent également. Celles-ci sont formées par l'association de souches de *Frankia* avec huit familles de plantes non légumineuses. Elles fixent l'azote et sont importantes, en particulier pour les arbres et les arbustes. Les membres du genre *Frankia* sont à croissance lente, et jusqu'en 1978, cet actinomycète a été cultivé sur des milieux complétés avec des intermédiaires métaboliques tels que le pyruvate.

1.3.3. Micro-organismes formant des nodules racinaires

En plus des micro-organismes se développant sur la surface d'une plante, de nombreux microorganismes intéressants et importants se développent à l'intérieur des plantes. Ces associations sont dépendants des signaux chimiques complexes, ce qui indique que ces relations sont très anciennes. Il est important de souligner que les mécanismes par lesquels un grand nombre de ces interactions plantes-microorganismes se produisent sont également présents dans les interactions microanimaux. Un mutualisme plante-bactérie d'une grande importance pour l'homme est celui des légumineuses/ bactéries fixatrices d'azote. Les partenaires de la symbiose sont appelés symbiotes. Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote jouent un rôle encore plus important dans la croissance des plantes pour la production agricole, peuvent se développer librement dans le sol ou infecter les plantes portant un nom générique « *Rhizobia* » et appartiennent à plusieurs genres. Les genres *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, et d'autres infectent les racines de légumineuses telles que : le soja, les haricots, les pois, les arachides, la luzerne, le trèfle..... (Dont la plupart sont des plantes buissonnantes ou de petits arbres trouvés dans des sols pauvres dans de nombreuses parties du monde). Les *Rhizobium*s sont spécialement adaptés pour certaines espèces de légumineuses, sur lequel ils forment des nodules racinaires (figure 17). L'azote est ensuite fixé par un procédé symbiotique de la plante et des bactéries. La plante fournit des conditions anaérobies et des nutriments de croissance pour les bactéries, les bactéries fixent l'azote qui peut être incorporé dans des protéines végétales.

Rhizobium infecte et nodule spécifiquement les légumineuses. La bactérie possède un grand plasmide qui est vital pour l'infection et la nodulation de la plante hôte. Le processus d'infection par *Rhizobium* est contrôlé par le gène *bacA* qui est nécessaire pour établir le nodule. Le développement symbiotique des légumineuses est contrôlé par une protéine régulatrice de la plante qui différencie les cellules corticales profondes et redémarre la division cellulaire pour établir des nodules dits primaires dans la racine envahie. Ces nodules primaires sont envahis par *Rhizobium* utilisant des canaux d'infection créés par la plante hôte. La mise en place des nodules implique un autre gène végétal appelé *nin*.

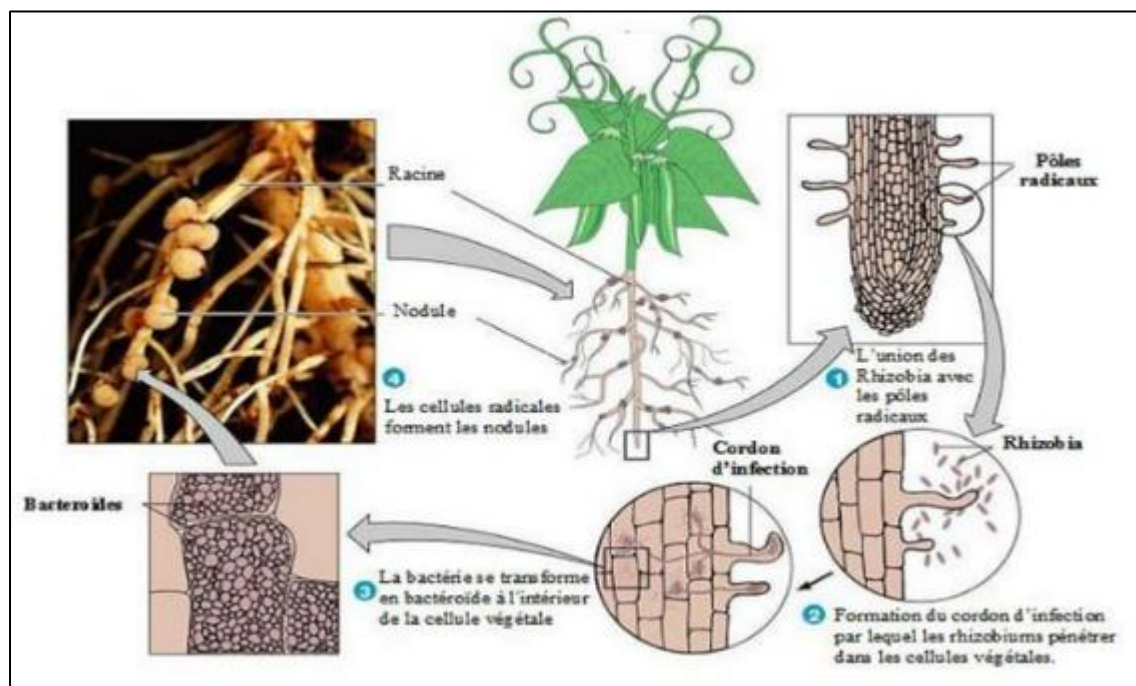


Figure 17 : Formation d'un nodule de racine dans une légumineuse infectée par *Rhizobium*

1.3.4. Symbiose nuisible *Agrobacterium* et la galle du collet

Certains micro-organismes développent des symbioses parasites avec les plantes. Le genre *Agrobacterium*, est l'exemple type d'organisme, provoquant la formation d'excroissances tumorales sur diverses plantes. Les deux espèces d'*Agrobacterium* les plus étudiées sont *Agrobacterium tumefaciens*, responsable de la galle du collet, et *rhizogenes* qui provoque la maladie des racines velues.

Agrobacterium est une bactérie capable de transformer génétiquement une cellule végétale. Elle est attirée par des composés phénoliques dégagés par les plantes dicotylédones vers le site de la blessure. *Agrobacterium* contient un plasmide Ti (tumor-inducing), dont une partie dite T-DNA est transférée à la cellule végétale attaquée et s'intègre à son génome (figure 18). Les gènes portés par l'ADN-T s'expriment et provoquent la synthèse de composés spécifiques, tels que :

- les hormones de croissance végétales, l'auxine, et une cytokinine, dont la surproduction entraîne une multiplication anarchique des cellules végétales, d'où formation de la tumeur.
- les opines, qui sont particulièrement catabolisées par la bactérie *Agrobacterium* qui induit la formation de la tumeur et sont pour elle source de carbone, d'azote et d'énergie. Cette spécificité est liée au fait que les gènes déterminant l'utilisation des opines sont portés par le

plasmide Ti. La présence des opines dans la tumeur favorise la croissance des pathogènes et concourt à leur dissémination.

L'interaction *Agrobacterium* - plante peut par conséquent être vue comme une manipulation génétique naturelle durant laquelle la bactérie détourne à son profit l'activité métabolique de la plante.

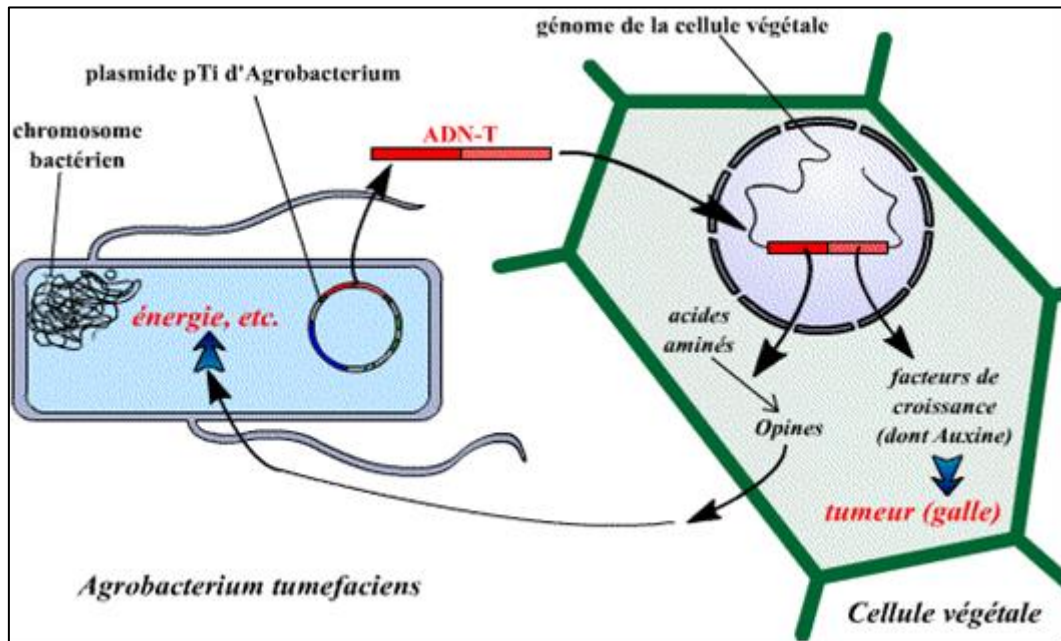


Figure 18 : Le transfert naturel d'ADN-T dans le génome d'une cellule végétale

Plasmide Ti d'*Agrobacterium tumefaciens

Le plasmide Ti est un petit plasmide, de 215 milliers de paires de bases. Ce plasmide comporte plusieurs régions (figure 19):

- **ADN-T** : région transférée de la bactérie à la cellule végétale.
- Cette région est flanquée de deux zones de bordures (FD à droite et FG à gauche), importantes pour la réalisation du transfert.
- L'ADN-T comporte une région permettant le développement de la tumeur (galle) chez la plante infectée.
- L'ADN-T comporte aussi les gènes permettant la synthèse et la libération des opines par les cellules végétales.

- **b- VIR** : région de virulence, Cette région comporte une série de gènes, qui permettent la fixation de la bactérie aux cellules végétales et le transfert de l'ADN-T.
- **c- OCC** : région de catabolisme des opines, Cette région permet à la bactérie d'utiliser les opines libérées par le végétal suite à son infection par l'ADN-T.
- **d- ORI** : région de réplication, Cette région permet au plasmide de se multiplier dans la bactérie.

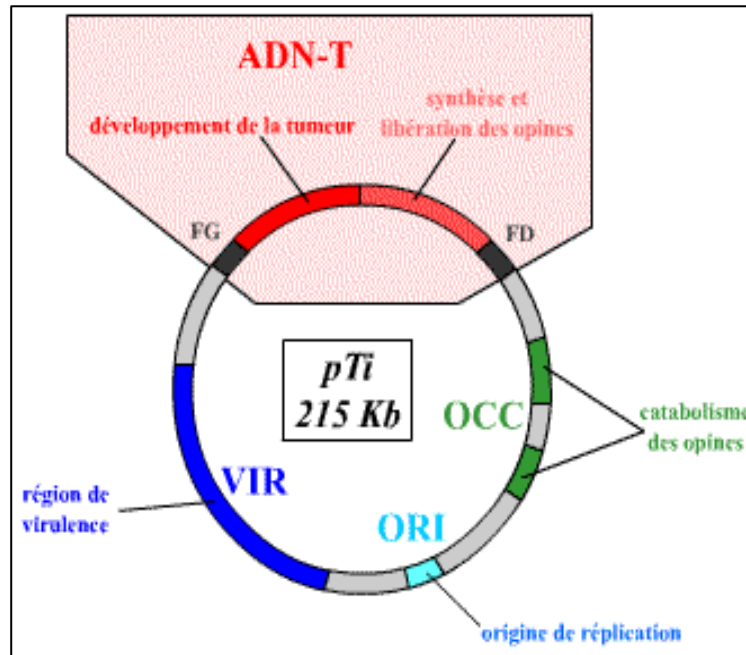


Figure 19 : Le plasmide Ti

2. Interactions microorganismes animaux

Les animaux dans leurs ensemble, naissent normalement stériles mais ils sont immédiatement colonisés par une microflore diversifiée qui s'établit à leur surface et, surtout, dans leur tube digestif. Elle évolue dans sa composante, puis se stabilise dans un équilibre qualitatif et quantitatif spécifique au site d'implantation et à l'espèce animale hôte. Certains microorganismes, notamment des bactéries, sont pathogènes et peuvent causer de nombreuses infections graves. Mais dans leur grande majorité les microorganismes ont une activité commensale ou symbiotique, parfois indispensable à la physiologie de l'hôte. Il existe dans le monde animal de nombreux écosystèmes microbiens symbiotiques. Le cas le plus remarquable en ce domaine est certainement celui des ruminants mais il en existe d'autre.

Les ruminants sont des mammifères herbivores qui comptent des espèces d'une grande importance en production animale: bovins, ovins, caprins, camélidés et autres. Ils ont tous la particularité anatomique de posséder un compartiment digestif particulier : le rumen où se localise leur microflore digestive principale. C'est dans le rumen que se réalise l'hydrolyse et la métabolisation de la cellulose et des autres composés pariétaux des végétaux alimentaires, sous l'action exclusive des microorganismes. Car, au même titre que les autres mammifères, les ruminants sont dépourvus des enzymes digestives : cellulase et autres, nécessaires à la métabolisation des composés constitutifs des végétaux de leur alimentation. La microflore joue donc, en ce domaine, un rôle vital en métabolisant les composés pariétaux végétaux, avec pour produits terminaux principaux des acides gras volatiles (AGV) : acétate, propionate et butyrate, et des gaz : dioxyde de carbone et méthane. Les AGV sont alors activement absorbés à travers la paroi du rumen et fournissent, par leur oxydation, la principale source d'énergie métabolisable des ruminants. La microflore du rumen produit également des acides aminés et des vitamines qui constituent aussi une source majeure pour l'animal.

Le rumen est milieu très réduit qui fonctionne comme un fermenteur, avec des réactions métaboliques très complexes qui intègrent l'activité combinée de populations microbiennes anaérobies très diversifiées, formées principalement de bactéries mais aussi de champignons et de protozoaires.

Les bactéries sont largement dominantes par leur diversité, leurs activités et leur nombre qui atteint 10^{11} bactéries/ml. Les groupes principaux sont constitué par: les bactéries cellulolytiques dont la plupart dégradent aussi le xylane (polysaccharide majeur des parois végétales), les bactéries amilolytiques et les bactéries méthanogènes.

Les champignons fermentent la cellulose en AGV et jouent un rôle dans la dégradation des autres composés pariétaux végétaux : lignine, hémicelluloses, pectines. Les protozoaires appartiennent au groupe des ciliés et contribuent au système fermentaire, même si leur rôle est estimé non essentiel. Ils hydrolysent la cellulose et l'amidon et produisent des AGV. Ils se nourrissent aussi par l'ingestion de bactéries, jouant ainsi probablement un rôle dans le contrôle de leur densité de population.

Conclusion

L'écologie microbienne consiste à caractériser la biodiversité microbienne d'un écosystème, à caractériser les interactions entre micro-organismes (chaînes trophiques), à identifier le rôle des micro-organismes dans l'écosystème, à étudier les interactions hôtes-microorganismes (symbiose, commensalisme, parasitisme, agent pathogène...). L'écologie microbienne couvre donc des domaines très variés.

L'avancée des méthodes de biologie moléculaires, depuis les années 1980, a contribué à la connaissance de la diversité et des adaptations des communautés microbiennes dans les écosystèmes. Ceci a permis d'expliquer les interactions microbiennes par les flux de gènes et de la capacité de réponses de communautés microbiennes aux stress environnementaux.

En conclusion, la focalisation des travaux scientifiques sur cette discipline est nécessaire vue la détérioration rapide de notre environnement et de la nécessité de remettre en équilibre les écosystèmes de cet environnement.

Références bibliographiques

Besse A. Interactions microbiennes et adaptations en milieu extrême : peptides antimicrobiens d'archées halophiles. 2016. Microbiologie et Parasitologie. Museum national d'histoire naturelle - MNHN Paris.

Bousseboua H., 2004. Cours de la microbiologie générale. Edition université Mentouri Constantine.

Duponnois R., Sanon A., Hafidi M., Ndoye I., Bâ A. M. 2013. Généralités sur la symbiose mycorhizienne. IRD Editions. 55p

Pinay G., Gascuel C., Ménesguen A., Souchon Y., Le Moal M(coord)., Levain A., Etrillard C., Moatar F., Pannard A., Souchu P. L'eutrophisation : manifestations, causes, conséquences et prédictibilité. Synthèse de l'Expertise scientifique collective CNRS - Ifremer - INRA - Irstea (France). 148 p.

Gobat J.M., Aragno M., Matthey W. 2003. Le sol vivant 2e éd. Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne. 568 p.

Boulila F. Ecologie microbienne. Polycopié de cours. Faculté S.N.V. Université de Bejaia. 85p

Madigan M.T., Martinko J.M. 2007. Brock Biologie des micro-organismes. 11e éd Pearson éducation paris France. pp : 539-678 et 907-915.

Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clark D.P. 2012. Brock Biology of Microorganisms 13th edition Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings, 1301 Sansome Street, San Francisco, CA. pp: 643-755; 787-815.

Meyer A., Deiana J., Bernard A. 2004. Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés 2e éd. 440p

Mezaache-Aichour S., Arif F. Microbiologie environnementale. Polycopié de cours. Faculté S.N.V. Université Ferhat abbas Sétif1. 52p.

Prescott L.M. Harley J.P. et Klein D.A. 1995: Microbiologie 2 ed. DeBoeck Wesmael S.A. Bruxelles. pp : 804-845.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. 2002. Microbiology 5 ed. The McGraw–Hill Companies. pp: 596-697.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Wiley J.M., Sherwood L.M., Woolverton C.J. 2010. Microbiologie. 3e éd. Editions DeBoeck Université Bruxelles.

Roger P.A., Garcia J.L. 2001. Introduction à la microbiologie du sol. Polycopié de cours. Université de Provence, Université de la Méditerranée, Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Luminy. 191p

Seagren E.A., Aydilek A.H. 2010. Environmental Microbiology. Wiley and Sons Publications. 363p.

Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. 2003. Introduction à la Microbiologie. Editions du renouveau pédagogique, Québec Canada. 945p.

Tortora G.J., Funke B.R. Case C.L. 2010. Microbiology: an introduction 10th ed. Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings, 1301 Sansome Street, San Francisco, CA. 975p.