

MICROBIOLOGIE DU SOL

COURS J. BALDENSBERGER

Ed. 1979

	PAGE
CHAPITRE I : LE MONDE MICROBIEN	
1. GENERALITES	1
La découverte du monde microbien	1
La controverse sur la génération spontanée	2
La découverte du rôle des microorganismes dans les transformations de la matière	3
Le développement des méthodes de culture pure	4
Géochimie et microbiologie du sol	5
Les méthodes d'enrichissement	6
2. LES MICROORGANISMES DANS L'HISTOIRE DE LA TERRE	7
2.1. <u>Le monde microbien sans les macroorganismes</u>	7
Le métabolisme des premiers microorganismes	8
Considérations thermodynamiques	8
Les sources d'énergie des premiers microorganismes	9
Première étape du monde microbien	10
Deuxième étape du monde microbien	11
Apparition des organismes photosynthétiques	
Producteurs d'oxygène	11
Aérobiose et anaérobiose	12
Evolution en atmosphère oxygénée	12
Les microorganismes agents des transformations géochimiques	13
2.2. <u>Le monde microbien avec les macroorganismes</u>	14
Augmentation de la biomasse	14
Plantes et microorganismes	15
 CHAPITRE II : CARACTERISATION ET DISTRIBUTION DES MICROORGANISMES DANS LE SOL	 16
1. LES GRANDS GROUPES DE MICROORGANISMES DU SOL	16
1.1. <u>Groupes morphologiques</u>	
1.1.1. Virus	16
1.1.2. Bactéries	16
1.1.3. Actinomycètes	18
1.1.4. Champignons	18
1.1.5. Algues	19
1.1.6. Protozoaires	19

1.2. <u>La taxonomie numérique</u>	19
1.3. <u>La taxonomie génétique et moléculaire</u>	20
1.4. <u>Les grands groupes nutritionnels</u>	20
1.5. <u>Les groupements fonctionnels</u>	21
2. DISTRIBUTION DES MICROORGANISMES DANS LE SOL	22
2.1. <u>Le problème des numérations</u>	22
2.2. <u>Les méthodes de comptage</u>	24
2.3. <u>Distribution des microorganismes à l'échelle géographique</u>	26
2.4. <u>Distribution des microorganismes à l'échelle métrique</u>	26
CHAPITRE III : BASES PHYSIOLOGIQUES DE LA VIE DES MICROORGANISMES DANS LE SOL	28
1. CROISSANCE ET DIVISION DES MICROORGANISMES	28
1.1. <u>Croissance et aliments carbonés</u>	28
1.2. <u>Synthèse des constituants cellulaires</u>	28
2. CROISSANCE EN MILIEU LIQUIDE NON RENOUVELLE	28
2.1. <u>Phase de latence et phase d'accélération</u>	29
2.2. <u>Phase exponentielle</u>	29
2.3. <u>Phase de ralentissement et phase stationnaire</u>	30
2.4. <u>Phase de déclin</u>	30
3. CROISSANCE SUR MILIEU SOLIDE	30
4. CROISSANCE EN CULTURE CONTINUE ET EN CULTURE DIALYSANTE	31
4.1. <u>Culture continue</u>	31
4.2. <u>Culture dialysante</u>	32
5. INFLUENCE DES FACTEURS ECOLOGIQUES SUR LE TAUX DE CROISSANCE	32
5.1. <u>Influence de la composition du milieu</u>	32
5.2. <u>Effet de la température</u>	32
5.3. <u>Effet de la concentration saline</u>	33
6. CROISSANCE BACTERIENNE EN CONDITIONS LIMITANTES	33
7. EFFET DE L'OXYGENE SUR LES MICROORGANISMES	34
7.1. <u>Aérobies obligatoires</u>	34
7.2. <u>Anaérobies facultatifs</u>	34
7.3. <u>Anaérobies stricts</u>	34
8. CROISSANCE ET DEGRE HYGROMETRIQUE , DESSICCATION ET FORMES DE RESISTANCE	35

CHAPITRE IV : INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES DANS LE SOL

1. LOIS DE LA CROISSANCE EN POPULATION MIXTE	36
1.1. <u>Neutralisme</u>	36
1.2. <u>Compétition</u>	36
1.3. <u>Mutualisme</u>	36
1.4. <u>Commensalisme</u>	37
1.5. <u>Ammensalisme</u>	37
1.6. <u>Parasitisme ou prédation</u>	37
2. LES CULTURES D'ENRICHISSEMENT	37
2.1. <u>Milieu sélectif</u>	38
2.2. <u>Enrichissement des microorganismes du sol</u>	38
2.3. <u>Percolation du sol</u>	39

CHAPITRE V : ACTION DU MICROENVIRONNEMENT SUR L'ACTIVITE
DES MICROORGANISMES DANS LE SOL

1. NIVEAU COLLOIDAL	41
1.1. <u>Charge des particules</u>	41
1.2. <u>Interactions entre particules chargées</u>	41
1.3. <u>Interactions entre bactéries et surfaces chargées</u>	42
1.4. <u>Interactions entre bactéries et argiles</u>	42
1.4.1. Mécanisme de l'adhésion	42
1.4.2. Formation du complexe argile-bactérie	43
1.4.3. Formation d'autres types d'associations	43
2. INFLUENCE DE L'ADSORPTION SUR LE METABOLISME DES MICROORGANISMES	43
2.1. <u>Influence d'une surface chargée sur l'activité des bactéries</u>	43
2.2. <u>Inactivation des enzymes par les surfaces chargées</u>	44
2.3. <u>Effet de masque par les particules solides</u>	44
2.4. <u>Stimulation de l'activité et de la croissance des bactéries adsorbées sur une surface solide</u>	44
2.5. <u>Inclusion de bactéries dans des matrices inertes</u>	44
2.6. <u>Effet des argiles sur l'activité et la crois- sance des bactéries</u>	45
2.7. <u>Influence de l'argile sur la survie en condi- tions arides</u>	45
3. NIVEAU DE L'AGREGAT	45
3.1. <u>Répartition des microorganismes dans l'agrégat</u>	45
3.2. <u>Distribution de cellules ajoutées à des agrégats stériles</u>	46

3.3. <u>Nombre de cellules dans l'agrégat en fonction de leur diamètre</u>	46
3.4. <u>Activité des microorganismes dans les agrégats</u>	47
3.5. <u>Effet de l'eau sur l'activité des microorganismes dans les agrégats</u>	47
CHAPITRE VI : ACTION DES MICROORGANISMES SUR LES CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DU SOL	48
1. ACTION SUR LA STRUCTURE	48
1.1. <u>Génèse de la structure</u>	
1.1.1. Polysaccharides bactériens	48
1.1.2. Substances humiques	48
1.1.3. Rôle des champignons et des algues	49
1.2. <u>Facteurs écologiques influant sur la génèse microbienne de la structure</u>	49
1.2.1. Apport de matière organique	49
1.2.2. Influence de certains ions	49
1.2.3. Conditions d'aération	50
1.2.4. Influence de la végétation	50
1.3. <u>Destruction de la structure</u>	50
2. ACTION SUR LE PH	50
2.1. <u>Acidification</u>	
2.1.1. Par production de gaz carbonique	50
2.1.2. Par nitrification	51
2.1.3. Par production d'acides organiques	51
2.1.4. Par sulfooxydation	51
2.2. <u>Alcalinisation</u>	
2.2.1. Par ammonification	52
2.2.2. Par sulfatoréduction	52
3. ACTION SUR LE POTENTIEL D'OXYDOREDUCTION	52
CHAPITRE VII : INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES ET PLANTES	54
1. INTERACTIONS AU NIVEAU DES LITIERES	54
1.1. <u>Redistribution des cations dans le profil</u>	54
1.2. <u>Décomposition de la litière par les microorganismes</u>	55
1.3. <u>Inhibition ou stimulation de la croissance par la litière</u>	55
2. INTERACTION AU NIVEAU DE LA GRAINE : SPERMOSPHERE	55
2.1. <u>Sulfatoréduction spermosphérique</u>	56
2.2. <u>Germination du riz en présence de cyanobactéries</u>	56

3. INTERACTION AU NIVEAU DE LA RACINE : RHIZOSPHERE	57
3.1. <u>Anatomie de la racine</u>	57
3.2. <u>Influence de la racine sur le développement des microorganismes</u>	58
3.2.1. Nombre de microorganismes	58
3.2.2. Modification du microenvironnement par la racine	59
3.2.3. Un exemple d'effet rhizosphère : la sulfatoréduction rhizosphérique	60
3.3. <u>Effet des microorganismes de la rhizosphère sur la croissance de la plante</u>	61
3.3.1. Influence directe des métabolites bactériens	61
3.3.2. Influence indirecte sur la nutrition	61
3.3.3. Influence des microorganismes sur le développement des racines	62
3.4. <u>Les associations plantes-microorganismes à caractère symbiotique</u>	62
3.4.1. Nodules	63
3.4.1.1. Nodules des légumineuses	63
3.4.1.2. Autres nodules fixateurs	65
3.4.2. Mycorrhizes	65
3.4.3. Associations multiples	66
3.4.4. Associations symbiotiques non racinaires	66
 CHAPITRE VIII : CYCLE DU CARBONE ET FLUX D'ENERGIE	67
1. GENERALITES	67
2. SOLUBILISATION DES CARBONATES	67
3. FIXATION DU GAZ CARBONIQUE PAR LES MICROORGANISMES AUTOTROPHES	68
4. UTILISATION DES EXSUDATS RACINAIRES PAR LES MICROORGANISMES	68
5. MINERALISATION DES RESIDUS ORGANIQUES	69
5.1. <u>Cellulolyse</u>	69
5.1.1. Cellulolyse aérobie	70
5.1.2. Cellulolyse aérobie par les bactéries libres	70
5.1.3. Cellulolyse aérobie par les associations symbiotiques	70
5.2. <u>Ligninolyse</u>	71
5.3. <u>Méthanogénèse</u>	71
6. IMMOBILISATION DU CARBONE SOUS FORME ORGANIQUE : HUMIFICATION	72
6.1. <u>Différentes formes de la matière organique du sol</u>	72

6.1.1. Matière organique fraîche non décomposée	72
6.1.2. Matière organique non humifiée (labile)	72
6.1.3. Matière organique humifiée (humus)	72
6.2. <u>Formation de l'humus à partir de la lignine</u>	72
6.3. <u>Humification à partir de composés carbonés non aromatiques</u>	72
6.4. <u>Humification directe</u>	73
6.5. <u>Maturation de l'humus</u>	73
6.6. <u>Deshumification</u>	73
CHAPITRE IX : CYCLE DE L'AZOTE	74
1. GENERALITES	74
2. APPORTS D'AZOTE D'ORIGINE MICROBIENNE : FIXATION D'AZOTE MOLECULAIRE	
.2.1. <u>Fixation symbiotique</u>	74
2.2. <u>Fixation par les microorganismes non symbiotiques</u>	75
2.2.1. Mesure de l'activité fixatrice par la réduction de l'acétylène	75
2.2.2. Activité fixatrice en région tempérée	77
2.2.3. Activité fixatrice en région tropicale	77
2.2.4. Organismes responsables de l'activité fixatrice non symbiotique	78
3. MINERALISATION DE L'AZOTE ORGANIQUE	80
3.1. <u>Protéolyse</u>	80
3.2. <u>Ammonification</u>	80
3.3. <u>Putréfaction</u>	81
3.4. <u>Devenir de l'azote ammoniacal dans le sol</u>	
3.4.1. Assimilation	81
3.4.2. Lessivage et volatilisation	81
3.4.3. Fixation par les argiles	82
3.4.4. Immobilisation sous forme organique	82
4. NITRIFICATION	82
4.1. <u>Oxydation de l'ammonium en nitrite</u>	82
4.2. <u>Oxydation du nitrite en nitrate</u>	83
4.3. <u>La nitrification dans le sol</u>	83
4.4. <u>Devenir du nitrate dans le sol</u>	83
5 . DENITRIFICATION	84
5.1. <u>Etapas intermédiaires et germes responsables</u>	84
5.1.1. Réduction du nitrate	85
5.1.2. Réduction du nitrite , de l'oxyde nitrique ou de l'oxyde nitreux	85

5.2. <u>Dénitrification dans le sol</u>	85
5.3. <u>Effet rhizosphère sur la dénitrification</u>	86
6. INTERACTIONS ENTRE NITRIFICATION, DENITRIFICATION ET FIXATION	87
 CHAPITRE X : CYCLE DU PHOSPHORE DANS L'ECOSYSTEME SOL PLANTE	 88
1. GENERALITES	88
2. FORMES DU PHOSPHORE DANS LE SOL	88
3. SOLUBILISATION DU PHOSPHORE MINERAL	
3.1. <u>Par les acides organiques</u>	89
3.2. <u>Par les acides minéraux</u>	89
3.3. <u>Par le gaz carbonique</u>	90
3.4. <u>Par l'hydrogène sulfuré</u>	90
4. MINERALISATION DU PHOSPHORE ORGANIQUE	90
5. IMMOBILISATION SOUS FORME ORGANIQUE	91
6. OXYDATION ET REDUCTION DU PHOSPHORE	91
7. ROLE DES MYCORRHIZES DANS L'ASSIMILATION DU PHOSPHORE PAR LA PLANTE	91
7.1. <u>Mycorrhizes ectotrophes des arbres</u>	91
7.2. <u>Endomycorrhizes</u>	92
 CHAPITRE XI : TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU SOUFRE DANS L'ECOSYSTEME SOL-PLANTE	 93
1. GENERALITES	93
2. LE CYCLE GLOBAL DU SOUFRE DANS LA BIOSPERE	94
3. ASSIMILATION DU SULFATE	95
3.1. <u>Incorporation du sulfate dans la cellule</u>	95
3.2. <u>Mécanismes enzymatiques de l'assimilation du sulfate</u>	
3.2.1. Activation par l' ATP	96
3.2.2. Réduction de l' APS	96
3.2.3. Réduction du sulfite	96
4. INCORPORATION DU SOUFRE ORGANIQUE DANS LA FRACTION ORGANIQUE DU SOL	97
5. MINERALISATION DU SOUFRE ORGANIQUE	98
6. RESPIRATION ANAEROBIE DU SULFATE ET DU SOUFRE ELEMENTAIRE	99
6.1. <u>Réduction dissimilatrice du sulfate</u>	99
6.1.1. Activation du sulfate	100
6.1.2. Réduction de l'APS	100

6.1.3. Réduction du sulfite en sulfure	101
6.2. <u>Réduction dissimilatrice du soufre élémentaire</u>	101
7. OXYDATION DES COMPOSES INORGANIQUES DU SOUFRE	103
7.1. <u>Oxydation par les bactéries chimiotrophes incolores</u>	103
7.1.1. Thiobactéries	103
7.1.2. Oxydation par les bactéries filamenteuses	105
7.2. <u>Oxydation par les bactéries photosynthétiques</u>	105
7.3. <u>Oxydation chimique</u>	107
8. QUELQUES PROBLEMES PARTICULIERS LIES AU CYCLE DU SOUFRE	107
8.1. <u>Le biotope d'estuaire : eaux, vases, sols de mangroves</u>	107
8.2. <u>Les eaux douces sulfureuses</u>	108
8.3. <u>La zone réductrice sous l'interface eau-sédiment</u>	110
8.4. <u>Corrosions dues aux bactéries du cycle du soufre</u>	111
8.4.1. Rôle des bactéries sulfatoréductrices dans la corrosion du fer	111
8.4.2. Corrosion aérobie du ciment par les thiobacilles	112
8.5. <u>L'alimentation en soufre de la plante</u>	112
8.6. <u>Sulfatoréduction spermosphérique et rhizosphérique</u>	113
8.7. <u>La fixation d'azote par les bactéries sulfatoréductrices</u>	114
8.8. <u>Toxicité des sulfures pour les nématodes phytoparasites</u>	115
CHAPITRE XII : LES BACTERIES DU FER	116
1. GENERALITES	116
2. LES BACTERIES A GAINÉ	116
3. OXYDATION DU FER PAR THIOBACILLUS FERROXYDANS	117
3.1. <u>Mécanisme enzymatique</u>	117
3.2. <u>Pollution acide des eaux de drainage des résidus miniers</u>	118
3.3. <u>Lixiviation des minerais de métaux par Thiobacillus ferrooxydans</u>	119

CHAPITRE XIII : DEGRADATION MICROBIENNE DES PESTICIDES DANS LE SOL	120
1. GENERALITES	120
2. METABOLISME DES COMPOSES AROMATIQUES PAR LES MICROORGANISMES	121
3. DECOMPOSITION DES PESTICIDES PAR LES MICROORGANISMES	121
4. INFLUENCE DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL	123
5. ROLE DU COMETABOLISME DANS LA DEGRADATION DES PESTICIDES	123

CHAPITRE I : LE MONDE MICROBIEN

1. GENERALITES

Le but du présent cours est d'essayer de mettre en évidence le rôle primordial des microorganismes dans la formation du sol et dans l'équilibre dynamique entre le sol et la plante . Par microorganisme, il faut entendre tous les organismes vivants qui ne peuvent pas être distingués à l'oeil nu . Un objet dont le diamètre est inférieur à 0,1 mm demeure invisible à l'oeil nu, et il est très difficile de distinguer le détail d'objets d'un diamètre inférieur à 1 mm . Tous les organismes dont le diamètre est inférieur à 1 mm sont donc des microorganismes, et leur étude constitue la microbiologie .

La découverte du monde microbien

Les microorganismes sont distribués en une grande variété taxonomique, puisqu'ils comprennent certains métazoaires, les protozoaires, beaucoup d'algues et de champignons, les bactéries et les virus .

Les microscopes furent inventés au début du 17^e siècle, mais les microorganismes ne furent découverts que plus d'un siècle plus tard . Ce décalage s'explique par la mauvaise qualité des premiers microscopes composés, dont les aberrations sphériques ne permettaient guère que de distinguer les détails structuraux d'objets macroscopiques . C'est au contraire grâce au microscope simple que furent acquises les grandes découvertes microscopiques. Ces appareils, qui ne comportaient qu'une seule lentille de très courte focale, ont l'avantage d'être moins sensibles aux aberrations optiques . Ils ne diffèrent pas dans leur principe de la loupe grossissante connue depuis l'antiquité .

Le découvreur du monde microbien est le hollandais ANTONY VAN LEEUWENHOEK . Marchand de tissu dans la ville de Delft il construisit, probablement dans un but professionnel, des microscopes simples d'une qualité très supérieure à ceux réalisés auparavant . Sans bagage scientifique et sans connaissances dans

le milieu intellectuel de son époque, LEEUWENHOEK fit connaître ses découvertes par plus de 200 lettres à la Royal Society de Londres qui en assura la traduction en anglais et la diffusion . Ces lettres datant de la fin du 17^e siècle comprennent un nombre considérable d'observations microscopiques sur les sujets les plus divers . Tous les principaux genres d'organismes unicellulaires que nous connaissons aujourd'hui ont été décrits par LEEUWENHOEK avec une précision telle qu'il est souvent possible d'identifier les espèces étudiées à partir de ses descriptions .

En plus de la diversité du monde microbien, LEEUWENHOEK prit conscience d'une autre caractéristique de sa découverte, c'est-à-dire de l'incroyable abondance des microorganismes . Dans une lettre décrivant les bactéries de la bouche, il raconte : "J'avais plusieurs invités, très étonnés en voyant les petits vers dans le vinaigre . Certains étaient si dégoutés qu'ils déclarèrent qu'ils n'utiliseraient jamais plus de vinaigre . Mais quelle serait la réaction de ces gens s'ils savaient qu'il y a plus d'animaux vivant dans leur bouche que d'habitants dans tout un royaume ? "

Bien que les contemporains de LEEUWENHOEK s'émerveillèrent pour ces découvertes scientifiques, l'exploration du monde microbien qu'il avait entreprise ne fut pas étendue plus avant pendant plus d'un siècle après sa mort . Les raisons principales sont encore techniques, ses successeurs étant incapables de tailler avec le même soin des lentilles ayant un grossissement suffisant . Malgré la supériorité intrinsèque du microscope composé, les instruments réalisés à l'époque présentaient toujours de graves défauts optiques . Les premières améliorations réelles du microscope composé commencèrent vers 1820 et permirent l'exploration plus complète du monde microbien dont les groupes majeurs étaient connus à la fin du 19^e siècle . Pendant cette période la microbiologie se développa dans d'autres directions, aboutissant à la découverte du rôle des microorganismes dans les transformations de la matière et dans les maladies .

La controverse sur la génération spontanée

Lorsque LEEUWENHOEK révéla l'abondance des microorganismes dans la nature, les scientifiques cherchèrent à expliquer l'origine de ces formes de vie . Dès le début, certains pensèrent que ces animalcules se formaient spontanément dans la matière non vivante, d'autres dont LEEUWENHOEK croyaient au contraire qu'ils se développaient à partir de "graines " ou " germes" toujours présents dans l'air . La doctrine de la génération spontanée

qui était restée acceptée sans restriction jusqu'à la Renaissance fut seulement abandonnée au milieu du 17^e siècle pour les animaux, mais demeurait ancrée dans les esprits pour ce qui concerne les microorganismes .Plus d'un siècle fut nécessaire pour convaincre les derniers partisans de la génération spontanée, des expériences de SPALLANZANI au milieu du 18^e siècle aux démonstrations de TYNDALL et PASTEUR dans la 2^e moitié du 19^e siècle .

La découverte du rôle des microorganismes dans les transformations de la matière

Pendant la controverse sur la génération spontanée, une relation entre la croissance des microorganismes dans les infusions organiques et l'apparition de changements dans leur composition chimique était fréquemment observée, et en 1837 il fut proposé que la levure qui apparaissait pendant la fermentation alcoolique était l'agent causal de la transformation du sucre en alcool et gaz carbonique .

Cette idée fut attaquée par les plus grands chimistes de l'époque, qui proclamèrent que les fermentations et les putréfactions étaient des phénomènes purement chimiques . C'est curieusement un autre chimiste, PASTEUR, qui démontra que tous les processus fermentaires sont le résultat de l'activité des microorganismes . PASTEUR montra que chaque type de fermentation est lié au développement d'un type spécifique de microorganisme, pouvant être défini par sa forme et sa taille et par les conditions favorisant sa croissance . Pendant ses travaux sur la fermentation butyrique, PASTEUR découvrit un aspect fondamental de la biologie , l'existence de vie sans air . Il démontra que certains microorganismes étaient capables de vivre en l'absence d'oxygène, qui était alors considéré comme indispensable à toute forme de vie . Les travaux de PASTEUR montrèrent que les fermentations sont des processus vitaux, la fermentation étant "la vie sans air " .

La connaissance plus intime des phénomènes de fermentation résulte d'une observation accidentelle faite en 1897 par BUCHNER. Ayant ajouté à un extrait broyé de levures une grande quantité de sucre dans le but de mieux conserver sa préparation, BUCHNER eut la surprise de constater un dégagement de gaz carbonique et la formation d'alcool par cette première préparation enzymatique.

Cette observation est à l'origine du développement de la biochimie. Elle montrait que la transformation complexe du sucre en alcool et gaz carbonique est en fait le résultat d'une succession de réactions chimiques simples chacune catalysée par une enzyme spécifique .

Le développement des méthodes de culture pure

PASTEUR possédait un sens intuitif qui lui permettait de tirer des conclusions exactes quant à la spécificité des processus de fermentation, alors qu'il travaillait avec des cultures contenant en mélange un très grand nombre de germes . En effet, les techniques de la bactériologie étaient demeurées rudimentaires et PASTEUR n'avait pas attaché d'importance à la pureté de ses cultures . Dans le cas particulier des fermentations qu'il étudiait l'isolement des germes n'était d'ailleurs pas une nécessité, car les conditions de ces fermentations sont assez sélectives pour que les contaminants demeurent peu importants .

Examinons ce qui se passe lorsqu'une solution nutritive est inoculée par un mélange de bactéries . Le principe de la sélection naturelle commence à opérer, et très rapidement l'espèce capable de se multiplier le plus rapidement dans le milieu initial devient dominante . Cependant la composition de ce milieu va progressivement changer par l'action même de ce microorganisme, et les conditions deviennent alors défavorables pour le premier colonisateur . Le milieu peut alors être mieux adapté à la croissance d'un autre microorganisme qui était lui aussi présent dans l'inoculum mais incapable de s'y développer au départ . On peut ainsi obtenir dans le même milieu le développement successif de nombreux types de microorganismes . Mais il est possible de maintenir la prédominance du premier type à se développer en transférant à intervalles rapprochés une fraction de la culture dans du milieu neuf . C'était l'astuce employée par PASTEUR et son équipe dans ses travaux sur les fermentations .

Si cette possibilité de succession dans le temps de populations différentes n'est pas connue, il est facile de conclure que les variations de forme des microorganismes observés dans une même culture reflètent les transformations de la même espèce . La théorie du pléomorphisme, selon laquelle les microorganismes sont doués d'une variabilité dans leurs formes et fonctions fut combattue par les disciples de PASTEUR qui soutenaient au

la théorie du monomorphisme, c'est-à-dire de la permanence de la forme et de la fonction des microorganismes .

Cependant il était évident que de nouveaux progrès dans la connaissance des microorganismes ne pouvaient être obtenus qu'en éliminant la difficulté que constitue l'emploi de populations mixtes. Les promoteurs de l'emploi de cultures pures, c'est-à-dire ne contenant qu'une seule espèce de microorganisme , furent des mycologistes, mais les méthodes employées en mycologie étaient d'un emploi malcommode en bactériologie . C'est à KOCH et à ses collaborateurs que l'on doit d'avoir inventé les techniques d'isolement et d'identification qui constituent encore aujourd'hui les bases de la méthodologie bactériologique . Utilisant d'abord des surfaces de coupe de pomme de terre, KOCH inventa la solidification des milieux par l'agar, carbohydrate complexe peu dégradable qui reste utilisé depuis . Un de ses assistants, PETRI, mis au point une boîte de culture qui porte son nom .

Géomicrobiologie et microbiologie du sol

L'étude du rôle des microorganismes en tant qu'agent des maladies infectieuses était restée le centre d'intérêt majeur des scientifiques pendant toute la fin du 19^e siècle . Cependant quelques chercheurs continuèrent le travail initié par PASTEUR dans ses études sur le rôle des microorganismes dans les fermentations . Ces travaux montraient clairement que les microorganismes peuvent être les agents spécifiques de transformations chimiques à grande échelle, et que l'ensemble du monde microbien peut être responsable d'une grande variété de réactions géochimiques . La reconnaissance du rôle que les microorganismes jouent dans les grands cycles de la matière sur terre (cycle du carbone, de l'azote du soufre) est due aux travaux de deux chercheurs, WINOGRADSKY et BEIJERINCK .

Au contraire des plantes et des animaux supérieurs, les microorganismes possèdent une très grande variété de physiologie . De nombreux groupes sont en effet spécialisés dans des transformations chimiques qui ne peuvent être réalisés par les plantes et les animaux, ils jouent alors un rôle vital dans les cycles de la matière . Un des meilleurs exemples est fourni par les bactéries autotrophes , découvertes par WINOGRADSKY . Ces bactéries peuvent se multiplier dans un milieu purement minéral, elles tirent alors leur énergie de l'oxydation de composés inorganiques réduits et utilisent le gaz carbonique comme source de carbone pour leurs

synthèses . WINOGRADSKY découvrit les principaux groupes de bactéries autotrophes, et la spécificité vis à vis de leur substrat énergétique . Une autre découverte fondamentale de WINOGRADSKY et BEIJERINCK est l'aptitude de certains microorganismes à utiliser l'azote gazeux comme source d'azote pour leurs constituants cellulaires . Ces microorganismes contribuent à maintenir l'apport d'azote combiné dans le milieu, toutes les autres formes de vie en étant incapables .

Les méthodes d'enrichissement

Pour l'isolement et l'étude des divers types physiologiques de microorganismes, WINOGRADSKY et BEIJERINCK mirent au point une nouvelle et importante technique, les cultures d'enrichissement . En inoculant un milieu de composition définie par une population variée, comme par exemple celle d'une petite quantité de sol, on obtient une culture enrichie de l'espèce microbienne qui se trouve favorisée par les conditions du milieu de culture . En faisant varier de nombreux facteurs tels que la source de carbone, d'azote, d'énergie, la température, le pH, l'oxygénation, une forme particulière sera prédominante dans chacune des conditions fixées, qui sera adaptée à ces conditions particulières, si bien sûr elle est présente au départ dans l'inoculum . La méthode des cultures d'enrichissement est toujours un précieux outil de travail pour le microbiologiste, elle lui permet d'isoler des espèces ayant des besoins nutritionnels très variés . De nouveaux genres, de nouvelles espèces sont ainsi toujours isolées dont la connaissance permet une meilleure compréhension des écosystèmes étudiés .

C'est ainsi, par exemple, que le groupe de microbiologie du laboratoire de l'ORSTOM à Dakar a trouvé de nouvelles espèces de bactéries nitrites-dépendantes (dont la croissance n'est possible qu'en présence d'une concentration en NO_2^- de 2 à 10 g/l) ainsi que de nouvelles espèces de bactéries sulfooxydantes (capables d'assimiler le nitrate en anaérobiose) ou fixatrices d'azote (supportant des concentrations d'oxygène plus élevées que les espèces décrites) . La mise en évidence de nouvelles espèces dans le sol ne doit pas surprendre, si l'on considère que le nombre d'espèces bactériennes décrites à ce jour ne dépasse pas 3000 , alors que plus d'1 million d'espèces d'insectes ont été

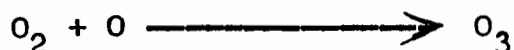
décrites et qu'il s'en décrit chaque année un très grand nombre . Cependant , la notion d'espèce s'applique mal aux bactéries qui n'ont pratiquement qu'une reproduction asexuée . Il est alors malaisé , ayant décrit un nouvel isolat, de lui attribuer une nouvelle espèce ou un nouveau genre plutôt que de le considérer comme une souche différente d'une espèce déjà décrite . Nous verrons plus loin que l'analyse mathématique des caractères peut permettre d'apprécier les relations phylogéniques entre des souches et donc de différencier des espèces .

2 LES MICROORGANISMES DANS L'HISTOIRE DE LA TERRE

2.1 Le monde microbien sans les macroorganismes

On peut raisonnablement penser que pendant une longue période le monde microbien s'est diversifié sans macroorganismes, de l'apparition de la vie que l'on situe à 3,5 milliards d'années à l'origine des premiers macroorganismes il y a environ 1 milliard d'années . Les plus vieux fossiles connus datent d'environ 3,2 milliards d'années . Ce sont des formes assez semblables aux bactéries actuelles, petits bâtonnets de $0,2 \mu$ de diamètre sur $0,7 \mu$ de longueur .

L'atmosphère primitive était alors probablement composée d'oxyde de carbone, d'azote et d'hydrogène , l'oxygène n'étant qu'en concentration très faible . Cet oxygène, comme l'ozone, était produit par photodissociation de l'eau :



Cependant, l'ozone formé absorbant très fortement dans l'ultraviolet (maximum à 250 nm) , la production d'oxygène et d'ozone par photodissociation de l'eau se trouvait autorégulée, les gaz produits protégeant la vapeur d'eau des rayons ultraviolets. Suivant l'hypothèse de VREY , cet effet d'autorégulation limitait la concentration d'oxygène à moins de 1/1000 atmosphère (soit 0,1 % de la concentration actuelle dans l'air) . En conséquence les surfaces ~~ex~~ sondées et les couches supérieures de la mer étaient soumises à un rayonnement ultraviolet intense .

Sur les continents, les roches nues subissaient d'intenses attaques par érosion, et l'on considère que dans l'atmosphère réductrice les feldspaths, les sulfures et le fer ferreux n'étaient pas oxydés. Dans la mer, les concentrations en ammonium et en gaz carbonique ne dépassaient pas 2×10^{-10} M, le pH étant voisin de 9. Toujours suivant l'hypothèse de VREY, la concentration de matière organique formée par réactions photochimiques entre les éléments minéraux atteignait 1%. Dans ces conditions, on estime qu'une lame d'eau de 10 m était nécessaire pour protéger les premiers organismes vivants du rayonnement ultraviolet.

Le métabolisme des premiers microorganismes

On pourrait être tenté de croire que les premières formes vivantes possédaient un métabolisme apparenté à celui des bactéries chemoautotrophes actuelles, c'est-à-dire des organismes utilisant des composés minéraux à la fois comme source d'énergie et d'éléments pour leurs synthèses. De très nombreuses indications font penser qu'au contraire les bactéries primitives utilisaient uniquement le carbone et l'azote organique, et que les microorganismes autotrophes actuels sont le terme d'une longue évolution à partir d'ancêtres hétérotrophes.

Considérations thermodynamiques. Avant de discuter du métabolisme des microorganismes primitifs qui ont marqué l'évolution des roches et amorcé la pédogénèse, il n'est pas inutile de rappeler les deux principes de la thermodynamique qui régissent toutes les réactions chimiques :

première loi : l'énergie totale d'un système fermé reste constante
deuxième loi : l'entropie de ce système augmente

L'énergie totale comprend la chaleur et la capacité de travail. L'entropie caractérise le désordre du système. Dans une réaction chimique intervenant à pression constante, la chaleur produite ou consommée est l'enthalpie désignée par ΔH . La tendance à l'augmentation de l'entropie est la force motrice de toute réaction, les changements d'entropie et d'enthalpie étant reliés par un troisième paramètre, l'énergie libre de la réaction, ΔF :

$$\Delta H = \Delta F + T \Delta S$$

où : ΔH est l'enthalpie ou chaleur de réaction
 ΔF est l'énergie libre convertible en travail
 T est la température absolue
 ΔS est l'accroissement d'entropie du système

Cette équation montre que dans un organisme vivant une partie seulement de l'énergie totale fournie par le substrat, c'est à dire de la chaleur de réaction (ΔH), est utilisable et convertible en travail : c'est l'énergie libre ΔF , alors qu'une partie est obligatoirement perdue en accroissement d'entropie (ΔS) du système. L'énergie utilisée pour la croissance (E) ne peut être prélevée que sur l'énergie libre ainsi définie. De plus, cette énergie doit être produite sous une forme utilisable biologiquement, de sorte qu'elle ne représente finalement qu'une fraction de l'énergie libre : $E < \Delta F < \Delta H$.

Les sources d'énergie des premiers microorganismes

Comme les microorganismes actuels, les formes primitives tiraient l'énergie nécessaire à la croissance de réactions d'oxydo-réduction. Dans les conditions réductrices existant alors, il est probable que ces réactions ne faisaient pas intervenir l'oxygène, à l'image de la fermentation alcoolique des microorganismes actuels.

Le processus fermentaire le plus répandu parmi les microorganismes est l'oxydation du glucose (sucre en C_6) par le "tronc commun de la glycolyse". Dans cette voie métabolique, les ions hydrogène et les électrons du substrat sont transportés par un transporteur unique (le NAD) et l'énergie libre de la réaction est transférée à 2 molécules d'ATP sous forme de liaison anhydride phosphorique riche en énergie. Pour chaque molécule de glucose oxydé, 2 molécules de NAD sont réduites en NADH et 2 molécules d'ATP sont produites. Cette énergie peut être ensuite utilisée par la cellule, l'hydrolyse d'une molécule d'ATP en ADP libérant 7 K cal.

A partir de ce "tronc commun", le métabolisme des microorganismes diffère suivant le mode de réoxydation des NADH formés. Le transporteur réduit peut céder ses électrons à la chaîne respiratoire vers l'oxygène ou vers des accepteurs minéraux tels que le nitrate ou le sulfate. On peut alors parler d'une

respiration du nitrate ou du sulfate . Cependant, l'oxygène est le seul accepteur final dont la réduction soit exothermique, donc productrice d'énergie libre pour la cellule . Les respirations du nitrate ou du sulfate sont au contraire endothermiques, le gain d'énergie libre à partir du glucose est donc plus faible qu'avec l'oxygène .

Dans les processus fermentaires ,le transporteur réduit est réoxydé par les produits même de la glycolyse (pyruvate dans le muscle ou la fermentation lactique, produit de dégradation du pyruvate dans la fermentation alcoolique) .

Toutes les réactions de la glycolyse étant réversibles, elles peuvent conduire à la biosynthèse des glucides, chez les végétaux ou les microorganismes photosynthétiques par exemple . Le couplage de l'oxydation des substrats et des réactions de synthèse est schématisé dans la figure 1 .

Première étape du monde microbien

On admet que les microbes primitifs vivaient à faible profondeur dans les mers, utilisant les produits organiques synthétisés par réactions photochimiques . Le premier biotope était probablement limité à cette zone, car le rayonnement ultraviolet intense existant en surface ou sur les continents interdisait la multiplication des microorganismes qui s'y trouvaient placés sous l'action des vagues et du vent . Un schéma de cet écosystème est donné en Figure 2 . Les composés organiques étant progressivement consommés par ces premiers organismes, leur effet protecteur vis à vis du rayonnement ultraviolet diminuait d'autant . A travers des mutations nombreuses de nouvelles voies métaboliques apparurent qui permirent l'adaptation des formes primitives à des conditions de plus en plus variées . On retrouve ces nouvelles voies métaboliques dans les microorganismes actuels :

- dégradation des sucres en C_6 par d'autres processus
- décomposition de molécules plus grosses, par exemple débris de cellules mortes
- utilisation possible de composés minéraux pour les synthèses (fixation d'azote moléculaire ou de gaz carbonique) .

Ces deux nouvelles propriétés pourraient être apparues simultanément dans un même organisme, le même pigment jouant un rôle important dans les deux chaînes de réactions .

Deuxième étape du monde microbien

Il résulte de l'évolution que nous venons d'évoquer une diversification du monde microbien et sa différenciation en trois groupes principaux dans l'écosystème :

-les producteurs , capables de synthétiser la matière organique à partir de composés minéraux

-les consommateurs ou transformateurs utilisant les petites molécules organiques synthétisées par les réactions photochimiques

-les décomposeurs dégradant les grosses molécules organiques provenant des microorganismes morts .

Ces grands groupes préfigurent la classification des microorganismes actuels, telle que nous l'évoquerons au cours des chapitres suivants, en hétérotrophes (dont la croissance nécessite du carbone sous forme organique) et autotrophe (pouvant utiliser le carbone sous forme minérale) . Cependant , on pense qu'à ce stade d'évolution les producteurs , ancêtres probables des autotrophes actuels, ne pouvaient pas se développer en autotrophie stricte, mais que leur croissance n'était possible qu'en présence de carbone organique .

Tous ces microorganismes étaient anaérobies , et restaient confinés au biotope marin . Cependant il est possible que certains "producteurs" (tels que les bactéries sulfatoréductrices ou méthanigènes) commencèrent dès ce stade la colonisation de la surface exondée proche du littoral . La figure 3 schématise ce biotope au deuxième stade d'évolution du monde microbien .

Apparition des organismes photosynthétiques producteurs d'oxygène

L'étape la plus importante dans l'évolution du monde microbien est l'apparition des premières protoalgues produisant de l'oxygène . Suivant l'hypothèse de DE LEY , ces protoalgues utilisaient l'eau comme donateur d'hydrogène mais ne pouvaient pas consommer l'oxygène produit . De ces protoalgues dérivent les cyanobactéries actuelles , qui elles peuvent utiliser l'oxygène comme accepteur final d'électrons . On retrouve des protoalgues dans des sédiments datant de plus de 2 milliards d'années, et c'est à partir de cette époque que l'atmosphère commença à s'enrichir en oxygène . Cependant, aucun fossile d'organismes aérobie n'a pu être retrouvé dans des sédiments datant de plus d'1 milliard d'années, il semble donc que l'atmosphère soit restée réductrice pendant une longue période après l'apparition des protoalgues . Suivant BERKNER et MARSHALL , la pression partielle d'oxygène n'a atteint

1% de la valeur actuelle que vers le Cambrien .

Aérobiose et anaérobiose

Cette augmentation de la pression partielle d'oxygène dans l'atmosphère s'accompagna d'une nouvelle diversification du monde microbien en trois groupes :

- les organismes anaérobies qui ne peuvent vivre qu'en l'absence d'oxygène libre (pression partielle inférieure à 1% de la valeur actuelle)
- les organismes anaérobies facultatifs , qui peuvent vivre avec ou sans oxygène
- les organismes aérobies qui ne peuvent vivre qu'en présence d'oxygène (au moins 1% de la pression partielle actuelle) .

Une hypothèse récente tend à expliquer cette différence de métabolisme par l'acquisition chez les anaérobies facultatifs et les aérobies d'une enzyme capable de protéger la cellule contre les attaques d'une forme activée de l'oxygène , le radical superoxide O_2^- . En effet, des considérations théoriques sur la répartition des électrons dans la molécule d'oxygène indiquent que les réactions d'oxydation se font par étape monoélectronique , avec formation d'un radical O_2^- . Malgré une durée de vie très courte, ce radical très réactif affecte les systèmes de synthèse des acides aminés et seuls les organismes ayant acquis l'enzyme catalysant sa dismutation se trouvèrent capables de vivre en milieu oxygéné . La recherche systématique de cette enzyme montre qu'en effet elle est présente chez tous les organismes anaérobies facultatifs et aérobies, et seulement absente chez quelques rares espèces bactériennes anaérobies strictes qui sont tuées par exposition de plus d'une à deux minutes à l'oxygène .

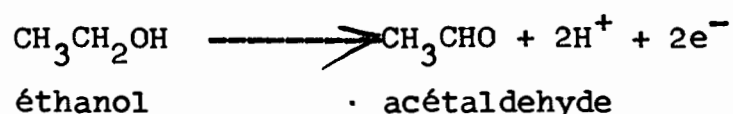
Suivant l'hypothèse de LUMSDEN, les mécanismes de production d'oxygène et de protection vis à vis du radical superoxide sont apparus simultanément chez une bactérie photosynthétique, la même enzyme étant responsable de la décomposition de l'eau et de la dismutation du superoxide .

Evolution en atmosphère oxygénée

La diversification des voies métaboliques s'accroît à partir de l'apparition de la photosynthèse, les systèmes nouveaux

les plus importants étant le cycle tricarboxylique et les systèmes transporteurs d'électrons .

Dans la cellule vivante, les réactions d'oxydoréduction se font en effet par départ d'atomes d'hydrogène et non d'électrons. A chaque étape d'oxydation sont en général libérés 2 protons et 2 électrons , par exemple:



mais ni les protons ni les électrons ne sont libérés dans le milieu : les protons sont transférés à des transporteurs d'hydrogène, les électrons à des transporteurs d'électrons . Plusieurs systèmes transporteurs sont apparus au cours de l'évolution, ils diffèrent par leur potentiel standard (E_o'), c'est-à-dire par la différence de potentiel électrique entre le mélange à parties égales de leur forme oxydée et réduite et l'électrode d'hydrogène prise comme référence . (électrode d'hydrogène = $1/2 \text{H}_2 \rightarrow \text{H}^+ + \text{e}^-$) . Le potentiel standard d'un système transporteur exprime l'énergie des électrons libérés par l'oxydation, qui est d'autant plus grande que ce potentiel est plus électronégatif . Un système transporteur ne peut donc céder ses électrons qu'à un autre système ayant un potentiel moins électronégatif, le niveau énergétique des électrons baissant au cours de chaque transfert jusqu'à l'accepteur final . La figure 4 montre l'apparition des différents systèmes au cours de l'oxygénation progressive de l'atmosphère et la figure 5 les voies d'oxydations biologiques utilisant ces transporteurs .

La disponibilité d'oxygène a rendu possible l'oxydation complète des sucres en C_6 jusqu'au stade du CO_2 et de l'eau, à travers le cycle de KREBS ou cycle tricarboxylique . Le gain final est alors de 38 molécules d'ATP par sucre C_6 oxydé, c'est-à-dire 19 fois plus que le gain d'ATP de la fermentation primitive .

Les microorganismes agents des transformations géochimiques

Nous avons vu que l'oxygénation de l'atmosphère primitive pouvait avoir commencé il y a environ 2 milliards d'années . On retrouve dans des granites datant de cette époque du fer réduit, formé en atmosphère réductrice . Cependant l'âge des premiers sables ou quartz contenant du fer ferrique variant beaucoup d'une

région à l'autre, il est difficile de dater avec précision cette oxygénation du milieu . Le sulfate existant dans les eaux du biotope primitif a pu être réduit en sulfure par l'action de bactéries sulfatoréductrices pendant une longue période sans oxygène, puis avec l'oxygénation apparurent les ferrobactéries dont on trouve des fossiles dans le Précambrien , les bactéries nitrifiantes , ces nouvelles formes permettant l'installation des grands cycles de matière.

La possibilité d'utiliser des éléments minéraux pour la synthèse a permis la colonisation de la surface des terres par une variété de bactéries autotrophes jouant le rôle de pionniers . L'oxygène atmosphérique dont la pression partielle devait atteindre 1% de la valeur actuelle à la fin du Précambrien ayant un effet protecteur vis à vis du rayonnement ultraviolet, d'autres utilisateurs de la matière organique produite par les autotrophes s'installèrent ensuite sur les continents . L'altération de certains granites Cambriens résulte probablement de l'action de ces microorganismes .

2.2 Le monde microbien avec les macroorganismes

De nombreux fossiles de macroorganismes apparaissent soudainement au début du Cambrien, il y a environ 600 millions d'années . Dans l'hypothèse de BERKNER et MARSHALL , la soudaine explosion des macroorganismes était rendue possible dès que la pression partielle d'oxygène dans l'atmosphère atteignit une valeur suffisante pour que la respiration devienne un processus énergétiquement rentable . Ils estiment que ce seuil, appelé point PASTEUR , correspond à 1% de la valeur actuelle . La plupart des algues et des invertébrés apparurent au Cambrien, le dégagement d'oxygène par une énorme masse d'algues amenant la concentration d'oxygène à des valeurs supérieures à la valeur actuelle .

Augmentation de la biomasse

Dès le Dévonien, des plantes vasculaires sans graines recouvraient une grande partie des terres et pendant tout le Paléozoïque leur biomasse augmenta considérablement . Cette augmentation se retrouve dans les teneurs globales en acides aminés mesurées dans les roches : 1 ppm pour l'Ordovicien, 3 à 6 ppm pour le Silurien, 15 à 20 ppm pour le Dévonien . Le développement du système racinaire des grandes plantes du Dévonien a probable-

ment permis la colonisation des couches profondes par les microorganismes et le début de la pédogénèse .

Pendant le Paléozoïque et le Tertiaire la biomasse augmente de façon exponentielle avec le temps, comme le prouvent les dépôts pétroliers: on constate en effet que le log de la masse de pétrole déposée augmente linéairement avec le temps pendant toute cette période .

Plantes et Microorganismes

Les plantes se développant à la surface commencèrent à jouer un rôle plus important dans la production de biomasse, les microorganismes et les animaux étant consommateurs . Certains microorganismes franchirent à cette période la barrière de défense de certaines plantes, formant des associations symbiotiques ou parasitiques avec des végétaux . Dès le Paléozoïque apparaissent en effet les premières mycorrhizes, associations intimes d'une racine et d'un champignon que nous étudierons plus loin . Dans cette association, les deux partenaires forment une union mutuellement bénéfique, le champignon profitant des sucres excrétés par la plante alors que celle-ci utilise le système mycélien du champignon pour extraire du sol des éléments minéraux et de l'eau .

Un autre type d'association entre plante et microorganisme apparaît au Jurassique : la nodulation bactérienne sur des racines d'angiospermes . Ces nodulations permettent à la plante d'utiliser de l'azote combiné par les bactéries, donc de coloniser des sols pauvres en azote combiné .

CHAPITRE II :

CARACTERISATION ET DISTRIBUTION

DES MICROORGANISMES DANS LE SOL

1. LES GRANDS GROUPEs DE MICROORGANISMES DU SOL

Nous avons vu que les microorganismes comprennent quelque métazoaires, les protozoaires, certaines algues et champignons, les bactéries et les virus. Les cellules des bactéries et de certaines algues (algues bleu-vertes, également appelées cyanobactéries) n'ont pas de noyau individualisé, leur information génétique est constituée par une seule molécule cyclique d'acide desoxyribonucléique (DNA) . Pour cette raison ces organismes sont appelés procaryotes , pas opposition aux autres organismes possédant un noyau individualisé , les eucaryotes .

1.1 Groupes morphologiques

1.1.1. Virus :

Ce sont les plus petites entités vivantes, qui ne peuvent se multiplier qu'à l'intérieur des cellules d'autres organismes vivants . Leur taille varie de 100 à 1000 Å . Ils sont formés uniquement d'une enveloppe protéique contenant un acide nucléique (DNA ou RNA) . Chaque virus parasite un hôte spécifique. Pour se limiter aux virus vivant dans des microorganismes, et qui peuvent intéresser indirectement la microbiologie du sol, on connaît des bactériophages et des actinophages (parasitant les actinomycètes) mais pas de virus parasitant des champignons .

1.1.2. Bactéries :

Les bactéries forment le groupe le plus important dans le sol . La figure 6 donne l'image de la distribution de chaque groupe de microorganisme dans un sol agricole fertile . Les bactéries ont une grande variété de formes, elles peuvent être mobiles ou immobiles, avoir des formes de résistance (spores, kystes) . On utilise fréquemment une réaction colorée de la membrane pour caractériser les espèces . La raison précise de la différence de comportement vis à vis de la coloration de GRAM n'est pas

connue, cependant cette coloration est toujours largement utilisée car les bactéries qui font visiblement partie d'un même sous-groupe réagissent de la même façon. Certaines bactéries peuvent avoir des GRAM variables suivant leur état physiologique.

Bactéries sporulantes. Les deux genres principaux, Bacillus et Clostridium sont abondants dans le sol. Le genre Bacillus, très hétérogène, comprend des espèces anaérobies facultatives ou aérobies, alors que les Clostridium sont tous anaérobies stricts et fermentaires. Ces deux genres ont des GRAM positifs ou variables.

Bactéries GRAM positives non sporulantes. Trois groupes principaux :

- les bactéries lactiques, qui sont également fermentaires donc anaérobies facultatives
- les bactéries méthanigènes, anaérobies strictes, utilisent le CO_2 comme accepteur final d'électrons et forment du méthane
- les corynebactéries de forme très variable, intermédiaires entre les bactéries et le grand groupe des actinomycètes

Bactéries photosynthétiques. Nous y incluons les cyanobactéries qui sont des GRAM négatives possédant un système photosynthétique producteur d'oxygène. Certaines espèces peuvent se développer à l'obscurité en oxydant des composés organiques, comme des bactéries hétérotrophes. En croissance photosynthétique, près de 40 espèces sont aussi capables de combiner l'azote moléculaire. Elles sont donc abondantes dans les eaux pauvres en azote fixé. Bien que leur physiologie présente une grande homogénéité, leurs formes structurales sont très diverses (uni ou pluri cellulaires).

Bactéries rouges et vertes. Leurs pigments, les bactériochlorophyles, ne sont pas photosynthétiques, elles ne produisent donc pas d'oxygène. Les bactéries rouges sont mobiles, elles peuvent se développer à la lumière en anaérobiose en utilisant le CO_2 comme source de carbone et des composés minéraux réduits (H_2S , H_2 , etc) comme donateurs d'électrons. Mais elles peuvent aussi croître à l'obscurité en aérobiose en oxydant des composés organiques, et en utilisant du carbone combiné.

Les bactéries vertes au contraire, immobiles, ne se développent qu'en anaérobiose à la lumière sur CO_2 .

Les Bactéries GRAM négatives hétérotrophes , de très nombreuses espèces, peuvent utiliser une grande variété de composés organiques comme source de carbone et d'énergie . Ce groupe comprend les genres Pseudomonas, Azotobacter, Rhizobium, etc.. d'une grande importance agronomique et que nous étudierons plus loin .

Les entérobactéries sont GRAM négatives et anaérobies facultatives. Elles se développent en aérobiose sur un très grand nombre de substrats organiques, mais la fermentation anaérobie n'est possible qu'à partir de quelques sucres simples . Le représentant le plus connu de ce groupe est Escherichia coli qui a servi de matériel pour la plupart des études de physiologie et de biochimie . Les genres Enterobacter et Klebsiella ont probablement une certaine importance dans la fixation d'azote en sol inondé .

1.1.3. Actinomycètes

Souvent décrites comme un groupe distinct par les microbiologistes du sol, les actinomycètes peuvent être considérées comme des bactéries filamenteuses GRAM positives . Leur morphologie rappelle celle des champignons; mais le diamètre de leurs filaments est bien inférieur à celui des mycéliums de champignons . Les genres principaux sont Streptomyces, comportant une grande variété de formes de filaments et produisant des conidies(spores asexuées) et Nocardia se reproduisant par fragmentation du mycélium sans formation de spores . Le genre Nocardia se rapproche donc beaucoup des corynébactéries .

1.1.4. Champignons

Microorganismes non photosynthétiques, les champignons se répartissent en 4 grands groupes : Phycomycètes, Ascomycètes, Basidiomycètes et Imperfecti .

Phycomycètes . De nombreuses espèces sont aquatiques, se reproduisant par des spores mobiles à flagelles (gamètes) . Les formes les plus simples ne forment pas de mycélium, mais un sac contenant les spores . Le cycle des formes plus évoluées passe par un mycélium diploïde ($2n$ chromosomes) qui se forme à partir du zygote (œuf résultant de la fusion de 2 gamètes), puis par un mycélium haploïde (n chromosomes) produisant des gamètes . Les espèces non aquatiques ne forment pas de spores flagellées et se reproduisent par stolons . La reproduction sexuée n'intervient que si 2 mycéliums de sexe différents se trouvent en contact : il y a alors

formation des spores .

les Ascomycètes forment le groupe le plus nombreux, ils se reproduisent par des ascospores groupés par 8 dans un sac, l'asque . Celui-ci provient d'un zygote, c'est-à-dire d'un oeuf formé par la réunion de 2 filaments de "type" opposé . De nombreuses espèces produisent aussi des conidies, petites spores asexuées se formant à l'extrémité de certains filaments .

Basidiomycètes leur fructification forme ce qui est appelé communément champignon . Les spores sont les basides, groupées par 4 à l'extrémité de cellules spécialisées .

Imperfecti . Quand on ne connaît pas la forme de reproduction sexuée d'un champignon, il est placé dans le groupe des imperfecti, mais il se peut que cette reproduction sexuée soit observée par la suite, l'espèce est alors déplacée dans le groupe qui convient . Deux catégories sont fréquemment isolées des sols: les Sphaeropsidales, formant des pycnides, sacs épaissis contenant des spores, et les hyphomycètes, les plus communs dans le sol .

1.1.5. Algues . Cet ensemble regroupe des formes extrêmement variées de tailles diverses, depuis les organismes microscopiques jusqu'aux algues marines qui peuvent atteindre 30 m de long . Les algues eucaryotes les plus petites sont flagellées, les organismes plus gros sortant du domaine de la microbiologie .

1.1.6. Protozoaires . Ce sont des eucaryotes non photosynthétiques mobiles ou immobiles, d'une grande variété de formes structurales .

1.2. La taxonomie numérique

Pour certains grands groupes bactériens, la simple description des caractères morphologiques ou nutritionnels ne permet pas d'établir facilement une classification de type phylogénique, on peut alors recourir à la taxonomie numérique qui place chaque caractère décrit sur le même plan et procède par comparaisons entre deux organismes ou deux groupes d'organismes; .

Cette comparaison est exprimée par le coefficient de similitude (C_s) qui ne prend en compte que les caractères positifs communs, ou le coefficient de parenté (C_p) qui considère à la fois les

caractères positifs ou négatifs . Le tableau ci-dessous indique le mode de calcul de ces coefficients , si

- a est le nombre de caractères positifs dans les 2 souches
- b est le nombre de caractères positifs dans la souche 1 et négatifs dans la souche 2
- c est le nombre de caractères négatifs dans la souche 1 et positifs dans la souche 2
- d est le nombre de caractères négatifs dans les 2 souches

$$\text{alors } C_s \text{ de 1 par rapport à 2} = \frac{a}{a + b + c}$$

$$C_p \text{ de 1 par rapport à 2} = \frac{a + b}{a + b + c + d}$$

Les coefficients sont reportés sur une matrice de similitude ou de parenté, qui permet de tracer un dendrogramme visualisant les relations hiérarchiques entre les souches . Cette méthode permet souvent de clarifier la classification de certains genres, ou de distinguer des espèces différentes à l'intérieur de nombreux isolats .

1.3. taxonomie génétique et moléculaire

Enfin, d'autres méthodes peuvent être employées pour préciser les liens phylogéniques entre souches ou espèces . Par exemple, les molécules d'acides nucléiques (ou d'autres molécules) ayant des propriétés caractéristiques pour chaque souche, il est possible d'utiliser leurs propriétés pour différencier des isolats et préciser des liens de parenté entre microorganismes .

1.4. Les grands groupes nutritionnels

Les premiers microbiologistes classèrent les microorganismes en 2 grandes catégories: les autotrophes pouvant utiliser les composés minéraux pour leurs synthèses et les hétérotrophes qui ne peuvent utiliser que des composés organiques . Mais ces catégories ne suffisent pas à rendre compte de la variété des métabolismes des microorganismes , et il est nécessaire de considérer au moins deux caractères : la nature de la source d'énergie

et la nature de la principale source de carbone .

On différencie deux principales sources d'énergie : la lumière chez les phototrophes et l'énergie chimique chez les chimiotrophes . La combinaison des caractères nutritionnels (source de carbone) et de la source d'énergie donne 4 principales catégories d'organismes :

1. Photoautotrophes . Utilisent la lumière comme source d'énergie, le CO_2 comme source de carbone . Ce groupe inclut la plupart des organismes photosynthétiques : végétaux supérieurs, algues, nombreuses bactéries photosynthétiques .
2. Photohétérotrophes . Utilisent la lumière comme source d'énergie et un composé organique comme source de carbone . Cette catégorie comprend certaines bactéries vertes ou pourpres .
3. Chimioautotrophes . tirent leur énergie de l'oxydation de composés minéraux réduits (H_2S , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{=}$, NH_3 , NO_2^- , H_2) et le CO_2 comme source de carbone . Ce groupe ne contient que des bactéries .
4. Chimiohétérotrophes . Utilisent l'énergie chimique et tirent leur carbone de composés organiques . Pour certains microorganismes, un seul composé peut à la fois être source de carbone et d'énergie .

1.5. Les groupements fonctionnels

L'activité catalytique des microorganismes contribue d'une façon très importante à la chimie du sol . Les microbiologistes du sol ont donc élaboré une classification basée sur l'activité des microorganismes dans le sol : par exemple, les organismes qui peuvent décomposer la cellulose sont regroupés dans la catégorie des " cellulolytiques" . Le tableau ci-dessous classe certaines espèces dans les principales catégories fonctionnelles .

Groupement fonctionnel	Bactéries	Actinomyètes	Champignons
Cellulolytiques:	<i>Achromobacter</i> <i>Bacillus</i> <i>Cellulomonas</i>	<i>Nocardia</i> <i>Streptomyces</i> <i>Micromonospora</i>	<i>Aspergillus</i> <i>Fusarium</i> <i>Trichoderma</i>
Ligninolytiques:			<i>Coprinus</i> <i>Agaricus</i> <i>Poria</i>

(suite)

Groupement fonctionnel	Bactéries	Actinomycètes	Champignons
Pectinolytiques:	<i>Bacillus</i> <i>Erwinia</i> <i>Clostridium</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Fusarium</i> <i>Verticillium</i>
Chitinolytiques:	<i>Achromobacter</i> <i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i>	<i>Streptomyces</i> <i>Micromonospora</i> <i>Nocardia</i>	<i>Fusarium</i> <i>Aspergillus</i> <i>Mucor</i>
Nitrifiants:	<i>Mycobacterium</i> <i>Bacillus</i> <i>Nitrosomonas</i> <i>Nitrobacter</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Aspergillus</i>
Denitrifiants:	<i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Thiobacillus</i>		
Sulfoxydants	<i>Thiobacillus</i> <i>Beggiatoae</i> <i>Bactéries vertes</i>		<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>
Sulfatoréducteurs:	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> <i>Desulfovibrio</i>		

2- DISTRIBUTION DES MICROORGANISMES DANS LE SOL

2.1 . Le problème des numérations

Caractériser un biotope par la densité des microorganismes présents est un des objectifs du microbiologiste du sol : de très nombreux travaux sont fondés, directement ou indirectement, sur des numérations . Avant de discuter de la validité des méthodes de comptage, nous parlerons du problème de l'échantillon-

nage en microbiologie du sol .

Dans une estimation d'un caractère d'un milieu continu à partir de mesures ponctuelles, la précision de la mesure augmente avec:

- la taille de l'échantillon effectivement traité, que cet échantillon corresponde unitairement à un prélèvement ou qu'il soit composé du mélange de plusieurs prélèvements (échantillon moyen) .
- le nombre de mesures par unité de surface, c'est-à-dire la densité des mesures .

Pour des raisons pratiques, la taille de l'échantillon traité est toujours limitée, et il est difficile de jouer sur ce facteur pour améliorer la précision des mesures . Cependant, pour une même taille d'échantillon, on augmentera la précision en préparant des échantillons moyens à partir de plusieurs prélèvements.

Il est possible d'estimer le nombre d'échantillons à traiter (la "maille" de l'étude) pour obtenir une précision déterminée à l'avance si l'on connaît la loi de répartition du phénomène étudié dans le biotope considéré . Dans le cas particulier des numérations de microorganismes, on connaîtra cette loi de répartition en traitant un grand nombre d'échantillons prélevés au même moment et en traçant l'histogramme de la population (nombre d'observations pour chaque classe de mesure) . Ce traitement graphique des résultats permet de déterminer le type de répartition du microorganismes étudié dans le milieu, et d'estimer le nombre de prélèvements à effectuer pour connaître la densité de ce microorganisme dans ce milieu avec la précision souhaitée . Dans la pratique, trois types de distribution peuvent se rencontrer :

- la distribution régulière , chaque individu colonise toujours le même volume, un individu en excluant un autre . Cette distribution est rarement observée chez les animaux supérieurs, elle n'a jamais été décrite pour les microorganismes .
- la distribution au hasard : les individus se répartissent de façon aléatoire, la présence d'un individu en un point n'influençant pas la répartition des autres . La loi de répartition est alors une loi de Poisson : cette distribution est rarement observée dans le sol, sauf pour des populations très peu denses (classe zero importante) . Dans un milieu agité (eaux en mouvement) des populations denses peuvent être distribuées au hasard .

- la distribution agrégée : les individus forment des amas de plus ou moins grande densité . Les échantillons extraits de telles populations se répartissent suivant des lois binomiales -négatives ou Log-normales . C'est le cas le plus général pour les microorganismes dans le sol ou à sa surface, et ceci quelque soit l'échelle de l'étude (parcelle, microparcelle, motte de terre, agrégat) .

La figure 7 montre un exemple d'un histogramme du nombre d'algues mesuré dans 40 unité -échantillons de $3,14 \text{ cm}^2 \times 1 \text{ cm}$ d'épaisseur prélevées dans une parcelle de 0,25 ha. Les valeurs (nombre d'algues par cm^3 de sol) se répartissent suivant une loi Log-normale (courbe en L) et les Log de ces valeurs suivant une loi normale . Comme les calculs statistiques classiques ne peuvent pas s'appliquer à des variables qui se répartissent suivant une loi Log-normale, ils ne peuvent pas être conduits directement sur les nombres de microorganismes déterminés mais sur les Logs de ces nombres . De très nombreux auteurs négligent ce point important , et leurs calculs de moyenne, écart type et intervalle de confiance ne sont pas valables .

2.2. Les méthodes de comptage

Aux erreurs inhérentes à l'échantillonnage viennent s'ajouter les erreurs systématiques provenant de l'imprécision des méthodes de numération . Ces erreurs sont d'importance variable suivant les méthodes et les microorganismes étudiés . Les méthodes de numération se répartissent en 2 groupes suivant leur principe :

- Techniques basées sur l'hypothèse qu'un seul microorganisme placé dans dans le milieu convenable se développe en donnant une colonie . On estime alors le nombre de microorganismes par des dilutions successives de l'échantillon, la plus forte dilution donnant lieu à croissance étant supposée ne contenir au début qu'un seul germe . Des tables permettent alors de connaître le nombre le plus probable de germes présents dans cette dilution . On peut également étaler la dilution sur un milieu spécifique solidifié et compter le nombre de colonies apparues après incubation . Ces méthodes donnent des résultats assez variables et le plus souvent par défaut, car on sait que beaucoup d'espèces

ne donnent pas de croissance, dans les conditions habituelles, à partir d'une seule cellule . De plus les erreurs inhérentes aux dilutions s'amplifient avec les dilutions les plus élevées, les résultats étant calculés à partir de comptages à des dilutions pouvant atteindre 10^{-9} ou 10^{-10} .

-Techniques utilisant comme indice de croissance l'apparition ou la disparition d'un métabolite spécifique du microorganisme étudié . A la différence des méthodes précédentes, on inocule alors le milieu de croissance avec une forte densité de germes, la croissance étant suivie par un " test" si possible non destructif . En pratique l'utilisation de filtres permettra de déposer l'inoculum provenant d'une suspension-dilution de sol ou d'eaux d'une façon homogène, et le temps d'incubation sera proportionnel au \log_2 du nombre de microorganismes présents au départ sur le filtre . En effet , pendant la croissance, la production ou la disparition d'un métabolite est proportionnelle au nombre "n" de germes présents à l'instant "t" :

$$\frac{dm}{dt} = A \cdot n \quad (1)$$

n étant fonction du nombre initial de germes au début de l'incubation (n_0) :

$$n = n_0 \cdot 2^{kt} \quad (2)$$

k étant le taux exponentiel de croissance, c'est-à-dire le nombre de divisions par unité de temps . On a alors :

$$m = A \cdot n_0 \int_0^t 2^{kt} \cdot dt \quad (3)$$

Mais la quantité de métabolite produit ou consommé nécessaire pour que le test de croissance soit positif est une constante, et en posant $K = k m$ il vient :

$$\log_2 n_0 = \log_2 K - \log_2 (2^{kt} - 1) \quad (4)$$

c'est-à-dire

$$\log_2 n_0 = A' - \log_2 (2^{kt} - 1) \quad (5)$$

L'équation 5 montre que le temps nécessaire à l'apparition du test positif est proportionnel au \log_2 du nombre initial de germes n_0 si $2^{kt} \gg 1$, ce qui est en général le cas puisque la croissance des microorganismes est rapide (temps de doublement inférieur à 1 heure)

Les méthodes de numération utilisant ce principe sont en général plus reproductibles et plus fiables que les méthodes basées sur des dilutions élevées .

On voit donc que l'estimation du nombre de microorganismes présents dans un biotope n'est pas aussi simple qu'il n'y paraît, peu de travaux écologiques satisfont aux exigences statistiques permettant d'exploiter les résultats .

2.3. Distribution des microorganismes à l'échelle géographique

Bien qu'il soit particulièrement difficile d'estimer l'influence géographique sur la distribution des microorganismes, quelques tendances générales peuvent être signalées .

Quantitativement, on peut penser que la température étant un paramètre essentiel de la croissance des microorganismes le nombre de germes sera plus important en zone tropicale qu'en zone tempérée . En effet , si l'humidité est favorable, on multiplie par 5 l'activité microbienne du sol en augmentant la température de 11° (température moyenne en France) à 25 ° (moyenne courante en zone tropicale) . Mais la pluviométrie, qui conditionne l'état hygrométrique dans le sol, joue un grand rôle en limitant le développement des microorganismes (par excès d'eau ou manque d'eau) .

Qualitativement, on note l'augmentation du nombre des actinomycètes depuis les régions tempérées vers les régions plus chaudes, alors que les champignons sont plus abondants dans les zones froides . Le nombre absolu et relatif des bacilles diminue avec la latitude et l'altitude . Si la microfaune du sol est en général ubiquiste, cette règle souffre des exceptions chez les champignons et même les bactéries: c'est ainsi que les Beijerinckia (bactéries fixatrices d'azote) sont limitées aux régions tropicales

Les caractéristiques du biotope se retrouvent souvent dans les caractères physiologiques des souches isolées à partir du biotope considéré : résistance à la dessiccation des souches provenant de sols des régions tropicales sèches, optimum de température plus élevé pour les nitrifiants des sols tropicaux .

2.4. Distribution des microorganismes à l'échelle métrique

La distribution verticale est souvent liée à la succes-

sion des horizons du sol : dans les horizons qui se caractérisent par des teneurs différentes en matière organique, des pH ou des textures différentes, les microorganismes se répartissent différemment suivant leurs caractères physiologiques .

La distribution la plus fréquente est de type décroissante, l'horizon supérieur étant plus riche en microorganismes . Une autre distribution convexe est rencontrée quand l'horizon B est plus riche que la surface en matière organique , par exemple dans les podzols . Une distribution concave est possible si l'horizon inférieur (au contact de l'arène .) est plus actif: c'est le cas de certains sols forestiers .

La distribution horizontale est en règle générale de type agrégée, et ceci quel que soit l'échelle de l'étude (parcelle microparcelle, motte de terre , etc.) . De l'ensemble des résultats obtenus au laboratoire de biologie des sols de Dakar, il ressort que les bactéries de la rhizosphère (dénitrifiantes, fixatrices d'azote, sulfatoréductrices) les bactéries non liées à la rhizosphère (méthanigènes, sulfoxydantes) et les cyanobactéries de la surface sont distribuées suivant le type agrégé dans tous les sols étudiés .

CHAPITRE III :

BASES PHYSIOLOGIQUES DE LA VIE DES MICROORGANISMES DANS LE SOL

1. CROISSANCE ET DIVISION DES MICROORGANISMES

La figure 8 schématise les processus de croissance et de division à partir de l'énergie chimique ou lumineuse et des substrats assimilés .

1.1. Croissance et aliments carbonés

Les microorganismes autotrophes sont capables d'utiliser le carbone minéral (CO_2) comme source de carbone pour leurs synthèses . Parmi les hétérotrophes (utilisant le carbone sous forme organique) , certains microorganismes peuvent se multiplier dans un milieu simple ne contenant qu'un seul sucre ou acide organique : ils sont appelés prototrophes par opposition aux auxotrophes qui ont besoin de facteurs de croissance tels que divers acides aminés, vitamines, etc ..

1.2. Synthèse des constituants cellulaires

Le processus fondamental de la croissance est la synthèse des protéines ou enzymes, ces dernières catalysant toutes les réactions métaboliques dans la cellule . Cette synthèse n'est pas anarchique, mais régulée par des mécanismes divers : répression de la synthèse par un des produits finaux de la chaîne métabolique, inhibition par un composé chimique parfois très différent des composés intervenant dans la réaction .

2. CROISSANCE EN MILIEU LIQUIDE NON RENOUVELLE

Quand on ensemence un milieu liquide avec un faible inoculum et que l'on mesure la croissance en déterminant le nombre de germes par unité de volume en fonction du temps, on obtient une courbe de croissance (Figure 9) en général caractéristique de la croissance exponentielle . En portant non pas le nombre de germes mais le Log de ce nombre en fonction du temps, on distingue alors des phases successives dans la croissance. On évalue très souvent le nombre de germes en mesurant la densité optique du milieu :

en effet dans certaines limites la densité optique mesurée au densitomètre est proportionnelle à la densité microbienne exprimée soit en nombre de cellules par unité de volume , soit en poids sec . Une fois étalonnée pour un microorganisme, cette relation permet donc de déterminer facilement la densité microbienne d'une culture en mesurant sa densité optique .

Sur la courbe reliant le Log du nombre de cellules au temps d'incubation, on distingue plusieurs phases :

2.1. Phase de latence et phase d'accélération

Ces phases ne sont observées que si l'on utilise un inoculum âgé, ou si les cellules de l'inoculum proviennent d'un milieu de culture différent du milieu étudié . La latence correspond alors au temps nécessaire à la synthèse de nouvelles enzymes dans les cellules .

2.2. Phase exponentielle

elle est atteinte lorsque le taux de croissance, c'est-à-dire le nombre de divisions par unité de temps, devient constant. En effet, dans les conditions optimales de croissance, si l'apport de substrats énergétiques ou de lumière est suffisant et si les cellules ne sont pas empoisonnées par des produits de leur métabolisme, le nombre N de microorganismes présents à l'instant t est égal à

$$N = N_0 \cdot 2^{kt} \quad (1)$$

si N_0 est le nombre de germes au temps zero et k le taux exponentiel de croissance (nombre de divisions par unité de temps) .

Le taux de croissance peut donc être calculé en mesurant le nombre de germes présents à 2 moments de la phase exponentielle

$$k = \frac{\log_2 N_2 - \log_2 N_1}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

soit en utilisant les \log_{10} plus commodes :

$$k = \frac{\log_{10} N_2 - \log_{10} N_1}{0,301 (t_2 - t_1)} \quad (3)$$

dans les conditions optimales de croissance, le taux de croissance k est une caractéristique génétique du microorganisme. Il est souvent commode d'exprimer cette caractéristique par le temps de

doublement , qui est l'inverse du taux de croissance ($1/k$) .
Les temps de doublement des microorganismes varient de 10 à 15 min pour certaines bactéries à plusieurs jours pour des cyanobactéries photosynthétiques . Avec un volume moyen de $1\mu^3$, une seule bactérie peut donc théoriquement former en 48 h une colonie d'un volume supérieur à celui de la terre .

2.3. Phase de ralentissement et phase stationnaire . Les aliments n'étant pas indéfiniment disponibles, la croissance exponentielle ne dure que pendant un nombre limité de générations . Le ralentissement peut également provenir d'une intoxication de la cellule par des produits de son métabolisme . On observe alors une transition entre phase exponentielle et phase stationnaire, la mort de certaines cellules étant plus ou moins compensée par la divisions d'autres individus .

2.4. Phase de déclin . Elle suit dans certains cas la phase stationnaire, elle correspond à une diminution du nombre total de cellules. Cependant chez les bactéries la mort de la cellule n'est pas toujours suivie d'une lyse, et la masse de cellules reste constante pendant que le nombre de cellules viables diminue .

3. CROISSANCE SUR MILIEU SOLIDE

Cet autre modèle de croissance peut également correspondre à la croissance des microorganismes dans le sol . Considérons une colonie à la surface d'un substrat, les conditions d'alimentation en énergie et éléments pour les synthèses n'étant pas limitantes . La masse de la colonie augmente alors en fonction du temps :

$$\frac{dM}{dt} = \mu M \quad (1)$$

μ étant le taux de croissance instantané . En intégrant il vient

$$\text{Log } M = \mu t + \text{Log } M_0 \quad (2)$$

M_0 étant la masse de la colonie au temps zero. En supposant que cette colonie forme une hémisphère à la surface du substrat et que la densité des microorganismes reste constante dans la colonie :

$$M = \frac{2}{3} \pi r^3 d \quad (3)$$

en remplaçant dans (2) il vient :

$$\text{Log } r = (\mu/3) t + \text{Log } r_0$$

r_0 étant le rayon au temps zero .

Si la colonie forme un disque d'épaisseur constante et de rayon R , sa masse s'écrit

$$M = \mu R^2 h d \quad (4)$$

c'est-à-dire en remplaçant dans (2) :

$$\text{Log } R = (\mu/2) t + \text{Log } R_0$$

On voit donc que dans les deux cas le rayon de la colonie augmente de façon exponentielle avec le temps .

En fait, lorsque la taille de la colonie augmente, la demande en aliments énergétiques augmente également mais la diffusion des aliments à travers la masse de cellules diminue . Quand l'apport devient nul, les cellules cessent de se multiplier et la croissance de la colonie est limitée à une zone périphérique (Figure 10 A) . Dans ce modèle, la zone périphérique de croissance a une largeur l qui correspond à une zone où la concentration en aliments reste suffisante pour assurer la croissance . On montre que dans ce cas le rayon de la colonie augmente de façon linéaire avec le temps . Un tel modèle rend mieux compte de la croissance des colonies microbiennes dans le sol .

4. CROISSANCE EN CULTURE CONTINUE ET EN CULTURE DIALYSANTE .

Les expressions mathématiques de ces modèles sont plus complexes, mais il est nécessaire de les évoquer car l'habitat naturel des microorganismes dans le sol s'apparente davantage aux cultures continues ou dialysantes qu'à la culture en milieu liquide limité . En effet, l'eau, les aliments se déplacent dans le sol avec les pluies, l'irrigation, l'évaporation, alors que souvent les microorganismes sont immobilisés sur des surfaces (Figure 10 B) ou entraînés avec la solution du sol .

4.1. Culture continue .

Dans une culture continue, les microorganismes sont entraînés hors du vase de culture avec le milieu liquide, au même débit que l'arrivée de milieu neuf . La croissance va dépendre à la fois du taux de croissance k et du taux de dilution D :

$$D = d / V$$

d étant le débit et V le volume du vase de culture .

-si le taux de dilution D est supérieur au taux de croissance k , la population diminue dans le vase jusqu'à ce que tous les microorganismes soient entraînés hors du vase de culture . La

croissance s'arrête d'elle même .

-Si le taux de croissance est supérieur au taux de dilution, la population augmente jusqu'à se trouver limitée par l'apport de substrat : le taux de croissance diminue alors en raison de cette carence et va s'ajuster de lui-même au taux de dilution : la densité microbienne reste alors constante dans le vase de culture, c'est le principe du chemostat .

4.2. Culture dialysante .

La théorie est plus complexe : la densité microbienne augmente quand l'apport de milieu neuf diminue , alors que dans le modèle précédent elle s'ajustait d'elle même au taux de dilution . On constate généralement que dans le sol les densités microbiennes sont fortes pour des concentrations en substrats assez faibles: il est donc probable que la croissance microbienne suive le modèle de la culture dialysante , qui permet d'obtenir des densités fortes avec des concentrations en substrat faibles .

5. INFLUENCE DES FACTEURS ECOLOGIQUES SUR LE TAUX DE CROISSANCE.

5.1. Influence de la composition du milieu

La teneur en RNA ribosomal , c'est-à-dire en appareil de synthèse des protéines, est plus forte chez les microorganismes ayant un taux de croissance élevé . Le transfert d'un milieu à un autre modifie le taux de croissance : c'est le cas des variations dans la composition de la solution du sol ou des déplacements des microorganismes par entraînement qui ont donc une influence sur la croissance des germes .

5.2. Effet de la température .

La température influe sur la croissance, en modifiant le temps de division, le type de reproduction, la morphologie ou le type d'aliment utilisable . On appelle température optimale la température à laquelle le taux de croissance est maximum . Cette température optimale est atteinte lorsque l'effet dénaturant de la chaleur sur les protéines l'emporte sur l'augmentation des vitesses de réactions enzymatiques avec la température . Les températures optimales varient très largement pour les microorganismes, depuis 15° C (psychrophiles) jusqu'à 60° et même 90° pour certaines espèces thermophiles . En général la température optimale se situe vers 30° -37° (mésophiles) .

5.3. Effet de la concentration saline .

La plupart des bactéries n'ont pas besoin de réguler leur pression osmotique interne avec précision, puisque la paroi cellulaire peut supporter de forts écarts de pressions . De fait, la pression osmotique interne dépasse généralement la pression osmotique du milieu . La tolérance pour des pressions élevées et l'exigence nutritionnelle pour l'ion Na^+ sont deux caractères distincts : certaines bactéries peuvent se développer dans un milieu pauvre en Na^+ , d'autres au contraire ont besoin d'une forte concentration en sodium même si la pression osmotique optimum est obtenue par d'autres ions (Mg ou Ca) .

Du point de vue de la tolérance osmotique, on distingue

- les bactéries halointolérantes, entre 0 et 0,04 % de NaCl
- les halotolérantes , entre 0 et 5 %
- les halophiles modérées, entre 2,3 et 20 %
- les halophiles extrêmes , entre 10 et 36 % (saturation) .

Dans le sol, la concentration en sel peut varier de façon très importante lors des alternances d'humidification et de dessiccation . De plus, le sel peut être distribué de façon hétérogène, créant une grande variété de microhabitats différents quant à la concentration saline .

6. CROISSANCE BACTERIENNE EN CONDITIONS LIMITANTES

D'une façon générale, le sol n'est pas un milieu riche par rapport aux milieux de croissance préparés au laboratoire . Les conditions limitantes diminuent la proportion d'énergie libre utilisée pour la croissance et la division, l'énergie nécessaire à la maintenance augmentant en proportion . Quand la concentration en substrat devient nulle, les cellules meurent après un temps variable suivant les espèces, les produits de la lyse pouvant assurer la survie d'autres cellules : on a montré que les produits libérés par 50 cellules d'Aerobacter aerogenes peuvent permettre la croissance et la division d'une cellule encore vivante . Certaines espèces fréquentes dans les sols sont adaptées à ces conditions défavorables: 65 % des cellules d'Arthrobacter sont encore viables après un jeûne de 60 jours en tampon phosphate .

7. EFFET DE L'OXYGENE SUR LES MICROORGANISMES

Comme nous l'avons vu au chapitre 1 , les microorganismes se répartissent en 3 groupes suivant leur sensibilité à l'oxygène .

7.1. Aérobies obligatoires .

On trouve dans ce groupe de nombreuses bactéries, la plupart des algues, des champignons et des protozoaires . Certaines bactéries aérobies sont également fixatrices d'azote, bien que l'enzyme responsable, la nitrogénase , soit très sensible à l'oxygène . On estime que chez ces microorganismes la nitrogenase reste fonctionnelle grâce à des mécanismes protecteurs divers :

- association de l'enzyme à d'autres protéines dans des ensembles ou la nitrogénase n'est pas accessible à l'oxygène
- respiration très forte de la cellule, qui abaisse la pression partielle dans le milieu
- disposition des cellules en amas spécialisés, les cellules extérieures des amas ,non fixatrices, protégeant par leur respiration les cellules de l'intérieur qui peuvent fixer l'azote et libérer de l'azote combine dans le milieu au profit des cellules de l'extérieur .

7.2. Anaérobies facultatifs .

Ce groupe comprend des bactéries, des protozoaires, des levures, et des champignons . En anaérobiose, ces organismes respirent le nitrate,, le nitrite, le N_2O , ou le tétrathionate . Les anaérobies facultatifs sont toujours inhibés par des pressions partielles d'oxygène supérieures à la pression normale dans l'atmosphère .

7.3. Anaérobies stricts .

Ils peuvent avoir un métabolisme fermentaire (les électrons provenant du substrat sont cédés à un accepteur organique de la chaîne métabolique) ou respiratoire (les accepteurs finaux sont des composés minéraux) . L'oxygène inhibe leur développement par plusieurs mécanismes:

- inhibition de certains enzymes
- répression de la synthèse de certaines protéines
- attaque des constituants cellulaires par des composés oxygénés (O_2^- , H_2O_2) .

8. CROISSANCE ET DEGRE HYGROMETRIQUE, DESSICCATION ET FORMES DE RESISTANCE

Une classification des champignons en hygrophiles, mesophiles et xérophiles a été établie en fonction de la réponse de ces organismes aux conditions de culture . Pour les bactéries, il est plus difficile d'étudier l'influence de la dessiccation sur la croissance : on remarque cependant que les bactéries formant des spores peuvent se développer dans une atmosphère plus sèche , le genre Arthrobacter (non sporulant) étant particulièrement bien adapté à ces conditions .

La formation de spores ou de kystes est une réponse aux conditions défavorables, les spores ou kystes étant alors très résistants à la dessiccation . La plupart des champignons et des actinomycètes du sol forment des spores, ainsi que certaines espèces bactériennes .

CHAPITRE IV

INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES DANS LE SOL

1. LOIS DE LA CROISSANCE EN POPULATION MIXTE .

Lorsque plusieurs microorganismes cohabitent dans le même milieu, ils forment une association microbienne dans laquelle la croissance d'une espèce est plus ou moins influencée par celle des autres . On distingue 6 catégories d'associations, représentées schématiquement dans la figure 11 .

1.1. Neutralisme .

Les deux populations se multiplient sans aucune interaction . Il y a peu d'exemples de ce type d'association en microbiologie du sol, en effet il est difficile pour 2 microorganismes de se développer de façon indépendante à la même place .

1.2. Compétition .

Les deux populations sont en compétition pour un même substrat ou pour un même habitat . En culture non renouvelée la densité des deux populations sera , en fin de croissance, inférieure à la densité obtenue en culture pure . Dans un système en culture continue, le microorganisme ayant le taux de croissance le plus faible sera éliminé du vase de culture . Dans le sol, la compétition peut intervenir au niveau du substrat énergétique, et également au niveau d'ions minéraux nécessaires à la croissance (phosphate, magnésium) ou d'oligoéléments (cobalt, fer) .

1.3. Mutualisme .

Les deux populations ont une influence bénéfique l'une sur l'autre, éventuellement l'association est nécessaire à la survie des deux espèces . Ce type d'association est fréquent dans le sol, en raison des liens trophiques entre plusieurs groupements fonctionnels : fixateurs d'azotes et bactéries photosynthétiques, cellulolytiques et algues, sulfatoréductrices et sulfoxydantes . La densité des deux populations en fin de culture sera supérieure à la densité obtenue en culture pure .

1.4. Commensalisme .

L'une des populations est bénéfiquement influencée par l'autre, la seconde n'étant pas affectée . On trouve des exemples de commensalisme entre certaines algues qui favorisent la croissance de bactéries sans que leur propre taux de croissance soit modifié par la présence de la bactérie . Cette observation est confirmée par le fait que l'extrait acellulaire d'algue possède le même effet favorable .

1.5. Ammensalisme .

L'une des populations est inhibée, l'autre non affectée . Un exemple très classique est l'inhibition de la croissance d'une espèce par une substance antibiotique sécrétée dans le milieu par une autre . Ces antibiotiques sont en général libérés dans le milieu en fin de phase exponentielle . Une association de type ammensalisme existe quand les métabolites excrétés par une espèce inhibent la croissance d'autres espèces : c'est le cas des ions S^{2-} formés par les bactéries sulfatoréductrices qui inhibent la croissance de nombreux microorganismes .

1.6. Parasitisme ou prédation .

Il n'y a pas de frontière nette entre parasitisme et prédation : l'ingestion d'un petit organisme par un plus gros est appelé prédation, la destruction d'un gros organisme par un petit est le parasitisme .

Le parasitisme existe entre certaines bactéries dans le sol, par exemple entre les Bdellovibrio qui se fixent sur la membrane d'autres bactéries, pénètrent dans leur cytoplasme et s'y multiplient avant de faire éclater la cellule hôte en libérant des bactéries filles . Tous les virus sont également des parasites obligatoires.

La plupart des protozoaires du sol sont des prédateurs de bactéries . Le taux de croissance d'un prédateur est fonction de la concentration de la proie dans le milieu . La prédation des bactéries par les protozoaires joue certainement un rôle dans l'équilibre entre les groupes de microorganismes dans les sols .

2. LES CULTURES D'ENRICHISSEMENT

Appliquant le principe de la sélection naturelle à l'étude du monde microbien, WINOGRADSKY et BEIJERINCK mirent au point les

techniques de culture d'enrichissement utilisées en particulier en microbiologie du sol .

2.1. Milieu sélectif

Les besoins nutritionnels des microorganismes étant très variés, il n'existe pas de milieu artificiel qui permette la croissance de toutes les espèces microbiennes présentes dans un sol . Quand on ensemence un milieu solide avec une suspension-dilution de sol, de nombreuses espèces forment des colonies à la surface du milieu, sans compétition réelle entre elles . Par contre, en milieu liquide, les espèces les mieux adaptées au milieu initial se développent plus vite et deviennent dominantes . Il existe deux catégories de milieu sélectif :

Milieu minimum . Il ne contient que le minimum de substrat nécessaire à un groupe nutritionnel, les autres groupes ne pouvant pas se développer par manque d'un composé essentiel . Par exemple, un milieu minimum pour fixateurs d'azote ne contient pas d'azote combiné et est incubé sous azote gazeux .

Milieu avec inhibiteur . Il contient des composés inhibant la croissance de certains groupes, favorisant ainsi la croissance des autres . On utilise des inhibiteurs variés tels que des colorant naturels , des antibiotiques, des sels biliaires , etc. Par exemple, les bactéries GRAM-négatif sont plus facilement isolées en présence de crystal violet qui inhibe les bactéries GRAM-positif . Au contraire, les GRAM-négatif sont sensibles à l'azoture de sodium.

2.2. Enrichissement des microorganismes du sol .

Pour enrichir le milieu en une catégorie de microorganisme, il faut donc que le milieu soit favorable à cette catégorie et si possible défavorable aux autres . Diverses conditions peuvent s'établir en équilibre dans un système clos, et différents groupes microbiens peuvent alors coloniser ces habitats , des relations trophiques étroites s'établissant entre les espèces . Deux exemples classiques de ces milieux d'enrichissement sont :

-la colonne de WINOGRADSKY (Figure 12 A) . On enrichit un échantillon de sol en gypse et en débris organiques (racines, papier filtre broyé , etc..) . On place alors ce sol en couche de 3 à 5 cm au fond d'un cylindre rempli d'eau . Un peu d'espace est laissé sous le bouchon qui est hermétiquement placé . LA colonne ainsi préparée est laissée à la lumière et à la température ambiante

pendant plusieurs mois . Les composés organiques sont dégradés par les bactéries sulfatoréductrices dans la couche de sol enrichi en sulfate de calcium, les sulfures produits sont réoxydés par différents microorganismes: bactéries vertes et rouges, utilisant le CO_2 produit par décomposition de la matière organique pour leurs synthèses . Au sommet de la colonne où se trouve l'oxygène se développent des cyanobactéries et des bactéries sulfoxydantes aérobies . Cette colonne peut ainsi fonctionner en équilibre pendant de nombreuses années, l'apport d'énergie étant fourni par la lumière .

-le modèle de KOBAYASHI OKUDA (Figure 12 B) . Un échantillon de sol de rizière est enrichi par une solution saline (sulfates, phosphates) et incubé à la lumière . On observe alors la succession dans le temps de divers groupes microbiens: algues vertes, puis sulfatoréducteurs , bactéries rouges et vertes, puis bactéries rouges non sulfureuses . Ce modèle montre la succession de populations différentes en fonction des changements intervenant dans le milieu .

2.3. Percolation du sol .

-milieu non renouvelé . Pour étudier plus facilement les interactions entre les microorganismes dans le sol, LEES et QUASTEL ont mis au point un appareil permettant de percoler un échantillon de sol par une solution circulant en circuit fermé . (Figure 13) . Il est alors possible d'étudier la cinétique des populations microbiennes : par exemple, en percolant avec une solution enrichie en NH_4 , on constate une augmentation absolue et relative du nombre des nitrifiants . Si la même colonne est soumise à un deuxième cycle de percolation, la phase de latence qui était observée au début du premier cycle disparaît . Enfin, si la percolation est poursuivie pendant un temps assez long, la vitesse des réactions biochimiques devient constante ainsi que le nombre des microorganismes dans la solution : le sol est alors " saturé " les microorganismes ayant rempli toutes les microniches accessibles. Si la percolation est menée en anaérobiose avec une solution de nitrates, le percolat s'enrichit en bactéries dénitrifiantes qui oxydent les composés organiques du sol en utilisant le nitrate comme accepteur final d'électrons .

La percolation en milieu non renouvelé permet également la recherche d'espèces microbiennes particulières, comme par

exemple de bactéries dégradant des pesticides ou des herbicides .

-milieu renouvelé . En percolant une colonne de sol par une solution renouvelée, MACURA et MALEK ont montré que l'oxydation du glucose est proportionnelle au temps de percolation après 3 jours d'incubation, le système ayant alors trouvé son équilibre . Des numérations faites à différents endroits de la colonne montrent que les groupes microbiens s'installent à des endroits différents de la colonne (Figure 14) .

En anaérobiose, la dégradation du glucose produit principalement des acides organiques : lactique, formique, acétique en début de percolation, puis acide acétique et butyrique quand l'équilibre est atteint .

ACTION DU MICROENVIRONNEMENT SUR L'ACTIVITE DES MICROORGANISMESDANS LE SOL

1. NIVEAU COLLOIDAL

1.1. Charge des particules .

Les interactions entre particules colloïdales ont une grande importance dans la vie microbienne du sol . Ces interactions dépendent de la nature et de la charge électrostatique de la surface des particules, en particulier des microorganismes .

La charge électrostatique peut être due :

- à des radicaux ionogènes de certains composants de la membrane, tels que les acides aminés (radicaux N ou C terminal) .
- à l'adsorption ou la désorption d'ions bivalents
- au métabolisme même de la bactérie (transfert d'électrons de l'intérieur vers la membrane) .

Pour les particules colloïdales d'argile, la charge est due à l'adsorption d'ions, la capacité d'échange caractérisant tel ou tel type d'argile . Les charges des particules argileuses sont réparties sur les bords et les surfaces , en solution acide les faces sont chargées positivement, en milieu alcalin elles sont chargées négativement . Les bords du cristal d'argile sont en général chargés positivement .

1.2. Interactions entre particules chargées.

Par le jeu combiné des forces attractives et répulsives les particules colloïdales peuvent dans certains cas s'agglomérer (flocculer) .

Forces répulsives . Ce sont les forces électromagnétiques qui ont pour origine une double couche de charges : en effet, la charge de la surface engendre une couche de charges contraires dans le milieu au contact même de la particule, qui est entourée d'un halo de charge opposée à la charge de sa surface (Figure 15) . Les forces répulsives entre charges opposées augmentent de façon exponentielle quand la distance diminue, avec un maximum pour une certaine distance .

Forces attractives . Elles ont trois origines : interaction entre

charges opposées, effet de polarisation d'une particule chargée sur une particule non chargée, attraction des masses . Ces deux dernières forces sont additives, c'est-à-dire que des particules de grosse taille s'attirent plus que des particules de petite taille à charge égale . Les forces attractives sont inversement proportionnelles à une puissance de la distance entre particules .

L'interaction est donc fonction de la somme des effets répulsifs et attractifs: on trouve deux types d'interactions entre particules chargées :

-avec un maximum aux distances moyennes , et minimum aux grandes distances

-l'interaction décroît régulièrement avec la distance (Figure 15

Dans le premier cas ,la floculation sera lente, dans le second cas rapide . Le temps nécessaire à la floculation est fonction des charges (donc de l'électrolyte de la solution) et de l'agitation brownienne (température) . En milieu faiblement concentré, les forces répulsives sont proportionnellement plus fortes et la floculation est plus lente .

1.3. Interactions entre bactéries et surfaces chargées .

Les cellules peuvent être attirées ou repoussées à proximité d'une surface chargée suivant le signe et la charge totale de la bactérie et de la surface . Les résines échangeuses d'ions sont un bon matériel pour l'étude de ces interactions . Par exemple, une résine anionique chargée d'anions échangeables forme autour d'elle une épaisse couche de cations . Les bactéries qui sont chargées négativement à un pH acide ou neutre ne sont pas adsorbées . Au contraire à pH acide inférieur à 3 , les bactéries chargées positivement sont fortement adsorbées sur la résine .

1.4. Interactions entre bactéries et argiles .

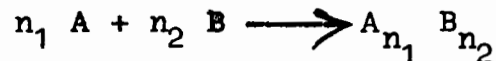
1.4.1. Mécanismes de l'adhésion . Entre bactérie chargée négativement et argile Na^+ , l'adhésion est très rapide, surtout en milieu acide, les bords de la particule d'argile étant alors fortement chargés. Un traitement à l'héxamétaphosphate qui masque les bords de la particule argileuse a pour effet de diminuer l'adhésion avec les bactéries .

Entre bactérie chargée positivement et argile Na^+ , l'adhésion est possible sur les faces de l'argile qui sont chargées négativement . Les groupements amine ou carboxyl des

acides aminés sont responsables de l'adhésion avec les argiles, par l'intermédiaire d'ions bivalents qui peuvent former des ponts électrostatiques entre deux particules chargées de même signe .

1.4.2. Formation du complexe argile-bactérie

l'adhésion peut être représentée par la formule :



où n_1 et n_2 sont respectivement les nombres de particules d'argile et de bactéries associés . Quand n_1 ou $n_2 = 1$, l'association est appelée complexe , quand n_1 et n_2 sont tous deux supérieurs à 1 , l'association est appelée agrégat (Figure 16) .

La quantité d'argile fixée par une bactérie dans un complexe dépend du pH : par exemple, la quantité de batonite adsorbée par Bacillus subtilis décroît quand le pH augmente, elle est nulle à pH 8 . Une particule argileuse de grosse taille traitée par des ions bivalents peut former un complexe avec plusieurs bactéries . Les complexes se forment en général rapidement, l'adhésion étant complète en moins d'une minute . Au contraire les agrégats se forment plus lentement, en 2 ou 3 heures. Le temps nécessaire à l'agrégation dépend de la concentration en particules, il diminue quand cette concentration augmente jusqu'à une certaine limite .

1.4.3. Formation d'autres types d'associations

Certaines bactéries sécrètent des composés visqueux à haut poids moléculaire, relativement insolubles , les cellules s'entourant d'une capsule . Ces composés jouent un grand rôle dans les associations entre bactéries et argiles qui peuvent atteindre des tailles macroscopiques .

2. INFLUENCE DE L'ADSORPTION SUR LE METABOLISME DES MICROORGANISMES

On imagine facilement que l'adhésion à une surface solide influence la croissance et l'activité des microorganismes du sol, mais on connaît encore mal le détail de cette action .

2.1. Influence d'une surface chargée sur l'activité des bactéries.

Chez plusieurs espèces (Azotobacter agilis, Escherichia

coli, Pseudomonas fluorescens) l'adsorption sur une résine chargée H^+ déplace l'optimum physiologique vers des valeurs de pH basiques par rapport aux valeurs observées en milieu liquide . De même l'oxydation des nitrites par Nitrobacter se produit à un pH plus basique quand la bactérie est adsorbée sur une surface solide .

2.2. Inactivation des enzymes par les surfaces chargées .

Les enzymes, catalyseurs des réactions biochimiques dans la cellule, sont des protéines possédant une configuration spécifique nécessaire à leur activité . Elles perdent une partie de cette activité si elles sont adsorbées puis désorbées d'une surface chargée probablement en raison d'un changement dans la configuration spatiale au contact de la surface .

2.3. Effet de masque par des particules solides .

Quand une cellule est adsorbée sur une surface solide ou attachée à une particule, la surface de paroi cellulaire accessible aux substrats en solution se trouve diminuée, et l'on peut s'attendre à ce que l'activité métabolique soit freinée . C'est en effet ce qui est parfois observé, mais l'activité normale est restaurée par la désorption de la cellule .

2.4. Stimulation de l'activité et de la croissance des bactéries adsorbées sur une surface solide

-stimulation de l'activité . La fermentation alcoolique par les levures est plus rapide pour des cellules adsorbées sur des fibres de cellulose . De même l'activité deshydrogénasique de Desulfovibrio est favorisée par l'adsorption sur un gel de silice.

-stimulation de la croissance . Le temps de génération de cellules d'Escherichia coli cultivées sur une résine est inférieur au temps de génération de cellules cultivées en milieu liquide

2.5. Inclusion de bactéries dans des matrices inertes .

L'activité de différentes bactéries est maintenue pendant une très longue durée (plusieurs mois) sans division cellulaire si les bactéries sont incluses dans des gels inertes (polyacrylamide, par exemple) après croissance en milieu liquide . Cette technique d'inclusion permet de conserver des préparations actives et viables pour l'inoculation de milieu neuf, ou de réaliser des percolations à travers le gel , l'activité enzymatique des bactéries

se maintenant pratiquement constante sans multiplication ni entraînement des germes dans le percolat .

2.6. Effet des argiles sur l'activité et la croissance des bactéries

Dans les complexes ou les agrégats entre bactéries et argiles , les effets complexes des charges et des surfaces se combinent . En général, l'activité et la croissance sont stimulées par la présence d'argiles .

LEES et QUASTEL ont montré que l'ammonium adsorbé sur les argiles était plus accessible aux bactéries nitrifiantes que l'ammonium de la solution , la vitesse de la nitrification étant proportionnelle à la quantité d'ammonium fixé et non à la concentration d'ammonium dans la solution . On peut aussi augmenter cette vitesse en ajoutant du sol stérile, c'est-à-dire des sites de fixation .

La montmorillonite augmente significativement le taux de croissance de certaines bactéries : Azotobacter chroococcum , Thiobacillus thiooxydans , T. denitrificans, Desulfovibrio vulgaris par exemple ; de levures (Saccharomyces cerevisiae) ou de champignons (Aspergillus niger).

2.7. Influence de l'argile sur la survie en conditions arides .

Un effet protecteur de la montmorillonite et de la kaolinite a été observé pour des cellules de Rhizobium et d'Azotobacter soumises à la dessiccation .

3. NIVEAU DE L'AGREGAT

Nous considérons maintenant l' influence de la structure agrégée du sol sur l'activité des microorganismes, en supposant acquises les notions de porosité, d'eau gravitaire, capillaire et hygroscopique, etc . La figure 17 donne une représentation schématique d'un agrégat.

3.1. Répartition des microorganismes dans l'agrégat .

On peut estimer la proportion de microorganismes qui se développent à la surface des agrégats en séparant par lavage les cellules fixées à l'extérieur : après plusieurs lavages par un tampon stérile, le nombre de microorganismes mis en solution diminue , on estime alors que les germes extérieurs ont été épuisés .

Les bactéries GRAM-positives sporulantes sont plutôt réparties à l'extérieur, les GRAM-négatives étant situées dans les pores centraux . Cette observation peut être expliquée en considérant que les bactéries sporulantes sont plus résistantes à la dessiccation et peuvent donc se maintenir vers l'extérieur où les conditions hygrométriques sont plus variables .

Par sonication des agrégats lavés, on libère alors les microorganismes internes, contenant une plus forte proportion de bactéries GRAM-négatives non sporulées sensibles à la dessiccation .

3.2. Distribution de cellules ajoutées à des agrégats stériles .

Si l'on ensemence des agrégats stérilisés et séchés par une suspension bactérienne, on observe que la proportion entre bactéries " externes " et " internes " est la même dans tous les agrégats, mais varie en fonction de la densité microbienne de la suspension ajoutée : plus cette densité augmente, plus on augmente le rapport externes/ internes. Il semble donc que les microorganismes colonisent préférentiellement les parties internes de l'agrégat, les sites externes n'étant saturés qu'après les sites internes .

3.3. Nombre de cellules dans l'agrégat en fonction de leur diamètre.

On peut calculer le nombre de particules sphériques contenues dans un volume de 1 cm^3 en fonction de leur diamètre :

diamètre de la particule	nombre de particules dans 1 cm^3
10 mm	1
1	1×10^3
0,1	1×10^6
0,02	$1,25 \times 10^8$
0,005	8×10^9
0,001	1×10^{12}

En supposant que $1,25 \times 10^8$ bactéries (nombre courant) soient réparties de façon uniforme dans 1 cm^3 de sol, chaque agrégat d'au moins 0,02 mm contiendra au moins 1 bactérie . Dans un sol frais, la taille des agrégats est comprise entre 0,01 et 0,05 mm , les comptages montrent que chaque agrégat contient entre 1 et 100 cellules .

3.4. Activité des microorganismes dans les agrégats .

Les agrégats du sol contiennent donc de nombreux microorganismes, la plupart aérobies : leur activité est limitée par la diffusion de l'oxygène dans l'agrégat , la croissance des aérobies étant ralentie quand la concentration est inférieure à 2% . On peut vérifier cette influence de la diffusion de l'oxygène sur l'activité des bactéries dans les agrégats en comparant le quotient respiratoire , exprimé en oxygène consommé par unité de poids et de temps, de deux types d'agrégats :

- type 1 : agrégats préparés en mélangeant une suspension peu dense avec des agrégats stériles séchés, les bactéries internes étant proportionnellement nombreuses par rapport aux bactéries externes

- type 2 : préparés avec une suspension dense, les bactéries externes étant alors proportionnellement plus abondantes .

Dans les deux cas, le quotient respiratoire augmente avec le nombre de cellules jusqu'à un maximum quand la diffusion devient le facteur limitant : le maximum est plus élevé pour les agrégats du type 2 , la diffusion limitant davantage l'activité des bactéries internes plus abondantes dans le type 1 (Figure 17) .

3.5. Effet de l'eau sur l'activité des microorganismes dans les agrégats .

L'eau contenue dans les agrégats influe de deux façons principales sur l'activité des microorganismes dans les agrégats :

- l'espace disponible à la croissance augmente avec la teneur en eau, qui est donc un facteur positif,

- la diffusion de l'oxygène diminue avec la teneur en eau, le coefficient de diffusion étant 1000 fois plus faible dans l'eau que dans l'air , l'augmentation de la teneur en eau est alors un facteur négatif .

Ces deux effets s'opposant, il y a donc en général un optimum de teneur en eau pour l'activité microbienne dans un sol, cette valeur dépendant évidemment de la texture et de la structure . Par exemple, l'activité nitrifiante ou sulfoxydante est maximum pour des teneurs en eau correspondant à pF 2,5 , c'est-à-dire une valeur limite entre eau capillaire et gravitaire .

Dans les sols inondables ou l'activité de certains groupes de bactéries anaérobies est importante (sulfatoréductrices, fixatrices d'azote, méthanigènes , etc) , cette activité augmente avec la teneur en eau, l'optimum étant atteint avec la saturation .

CHAPITRE VI

ACTION DES MICROORGANISMES SUR LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-

CHIMIQUES DU SOL

1. ACTION SUR LA STRUCTURE

Rappelons que la structure désigne le type de disposition des particules élémentaires du sol les unes par rapport aux autres . Liées par un ciment d'origine minérale (argile, oxyde de fer, silice amorphe) ou organique (polysaccharides, résines, substances humiques) , ces particules élémentaires forment des unités structurales (agrégats) réunies en unités plus importantes (macro-agrégats) dans l'édifice structural (sol) . Les microorganismes ont un rôle très important dans la génèse et la dégradation de la structure .

1.1. Génèse de la structure .

1.1.1. Polysaccharides bactériens . De très nombreuses espèces fréquemment observées dans le sol, en particulier au contact des racines, sont capables de produire des polysaccharides , longues chaines de sucres, parfois branch es . Leur influence sur l'agrégation a été montr e directement, en ajoutant ces composés isolés à partir de bactéries (Azotobacter par exemple) ; ou indirectement, soit en favorisant la croissance bactérienne par des apports de matière organique fraîche, soit en ensemençant le sol par des suspensions de bactéries produisant des polysaccharides (Agrobacterium, Arthrobacter) .

Le mécanisme de l'agrégation par les polysaccharides est encore mal connu, il semble que des liaisons hydrogène ou ioniques se forment avec les particules du sol . Cependant le rôle réel dans la génèse " in situ " est discuté .

1.1.2. Substances humiques . La synthèse des composés humiques étant étudiée plus loin, nous n'examinerons ici que le rôle de ces substances dans l'agrégation . Les substances humiques sont

principalement des polyphénols, de chaîne assez courte, polymérisés avec des composés phosphorés ou soufrés . Les acides fulviques sont moins évolués (poids moléculaire inférieur à 700) , alors que les acides humiques sont très polymérisés .

Les substances humiques agissent soit en agrégeant les particules, comme dans le cas des polysaccharides, soit en réduisant la mouillabilité , ce qui favorise la stabilité des agrégats en formation.

1.1.3 . Rôle des champignons et des algues. Le rôle des champignons est direct, les hyphes ou filaments fongiques pouvant emballer les particules élémentaires comme un filet . La longueur des hyphes est en effet très importante dans un sol, elle peut atteindre 10 km par cm^3 de sol . Certaines espèces (Cladosporium, Penicillium, Trichoderma) ont des propriétés agrégatives plus nettes . Enfin , le rôle des champignons serait plus important dans les sols tropicaux qui ont en général des pH plus bas .

Les algues interviennent de la même façon dans les premiers centimètres des sols sableux .

1.2. Facteurs écologiques influant sur la génèse microbienne de la structure

1.2.1. Apport de matière organique. Les polysaccharides microbiens étant facilement dégradés dans le sol, leur renouvellement nécessite un apport de matière organique . In vitro , le saccharose est le précurseur le plus efficace pour l'agrégation, cependant qu'in situ les résidus végétaux à rapport C/N élevé favorisent davantage la génèse de la structure .

1.2.2. Influence de certains ions . Le calcium ayant un effet stabilisant sur la matière organique favorise l'agrégation d'origine microbienne . D'autres cations (NH_4 , Al, Fe) formant des ponts entre polysaccharides et argile ont également un effet stabilisant, mais le Fer et l'aluminium créant aussi des liaisons entre les molécules de polysaccharides ces ions peuvent diminuer le pouvoir d'agrégation en réduisant le nombre de sites actifs pour les particules solides .

1.2.3. Conditions d'aération . La synthèse des substances agrégatives est plus active en anaérobiose ou en conditions peu aérobies, de même que la dégradation de ces composés . L'anaérobiose favorise donc plutôt l'agrégation d'origine bactérienne.

1.2.4. Influence de la végétation . La croissance des espèces produisant des polysaccharides semble nettement favorisée par la présence de la racine, l'effet rhizosphère étant plus marqué que pour les autres bactéries du sol . Par exemple, 95 % des espèces isolées dans le proche voisinage de racines de graminées sont productrices de substances agrégatives, contre 65 % dans le sol nu . L'action des microorganismes permet de transformer une partie des substances excrétées par les racines en polysaccharides hydrosolubles de poids moléculaire compris entre 25 000 et 70 000 susceptibles de jouer un grand rôle dans la genèse de la structure .

1.3. Destruction de la structure

En dehors du cas banal où la destruction de la structure résulte de la stimulation de l'activité de la microflore à la suite de dénudation, brûlage, etc.. sans apport compensateur de matière organique, l'influence de la microflore sur cette destruction peut être due à une production de substances hydrofuges ou colmatantes . Cette surproduction entraîne un colmatage des pores, un mauvais drainage donc un ralentissement des activités microbiennes .

2. ACTION SUR LE PH

L'activité des microorganismes a en général pour conséquence une acidification du milieu de croissance, dans le sol cette acidification est compensée par le pouvoir tampon du complexe absorbant . L'influence de la microflore sur le pH du sol est donc fonction de ce pouvoir tampon, et des processus métaboliques acidifiants .

2.1. Acidification .

2.1.1. par production de gaz carbonique . L'oxydation aérobie des composés organiques, c'est-à-dire la respiration des microorganismes produit du gaz carbonique très soluble qui est en équilibre avec

l'acide carbonique (acide faible) . Le pH d'une solution saturée en équilibre avec l'atmosphère est de 5,5 , et le pouvoir tampon (par formation de carbonates) est suffisant pour que l'acidification du sol soit limitée . Sous prairie, la respiration des racines (qui inclut la respiration des microorganismes qui y sont associés) représente seulement 19 % de la respiration totale du sol .

En fait , l'acidification due à la production de gaz carbonique par la microflore n'est mesurable que dans un milieu très peu tamponné, comme par exemple l'eau de submersion des rizières . La respiration consomme de l'oxygène et produit du gaz carbonique à un taux pratiquement constant le jour et la nuit, mais la photosynthèse qui produit l'oxygène et consomme le gaz carbonique ne se produit que pendant le jour : on observe alors pendant la nuit une baisse du pH liée à l'augmentation de la teneur en CO_2 et une baisse de la concentration en oxygène dissous .

2.1.2 Par nitrification . LA nitrification, c'est-à-dire l'oxydation de l'ammonium en nitrate , produit des ions H^+ :



et l'acidification du sol sera d'autant plus importante que l'on apporte d'engrais ammoniacaux et que la microflore nitrifiante est active . Par exemple, un apport de 400 ppm d'ammonium provoque au bout de 5 mois d'incubation aérobie un abaissement du pH de 2 unités dans un sol à faible complexe absorbant . L'activité des microorganismes nitrifiants est influencée par l'aération, elle diminue en présence d'ions Na^+ donc dans des sols salés .

2.1.3. Par production d'acides organiques . Différents acides (formique, acétique, butyrique, lactique) sont produits par oxydation de la matière organique ou fermentation dans le sol . Ces acides faibles n'ont que peu d'influence sur le pH du sol, sauf dans certains sols particuliers comme les podzols .

2.1.4. Par sulfoxydation . Dans les sols contenant beaucoup de soufre total (par exemple les sols formés à partir d'alluvions fluvio-marines dans les deltas où la teneur en soufre total peut atteindre 3,5 %) l'activité des microorganismes du cycle du soufre, et en particulier des bactéries sulfoxydantes, est très

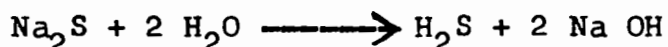
importante dans la pédogénèse (formation de sulfure à partir des sulfates du sédiment, oxydation des sulfures) . Si le sol est maintenu en conditions drainantes aérobies, ce qui est parfois réalisé dans le but d' éliminer les sels avant un aménagement rizicole, l'abaissement du pH par production d'acide sulfurique peut être très important et empêcher finalement toute utilisation agronomique . On a observé dans des polders du delta de la Casamance des pH de 2,8 , entraînant une destruction de la structure et la stérilisation du sol .

Dans les conditions naturelles de la mangrove (formation végétale spécialisée de ces vases fluviomarines) le pH peut varier d'une unité entre la saison sèche et la saison des pluies par oxydation d'une partie du stock de sulfures .

2.2. Alcalinisation.

2.2.1. Par ammonification . La décomposition des composés organiques produit des ions NH_4^+ , c'est-à-dire une augmentation du pH plus ou moins importante dans le sol suivant la richesse en azote de la matière organique fraîche qui se décompose .

2.2.2. Par sulfatoréduction . La réduction des sulfates ou du soufre élémentaire , dans des sols riches en soufre total, peut aboutir à la formation de sulfure de sodium ou de calcium si la teneur en fer est faible . Ces sulfures hydrolysés donnent des bases :



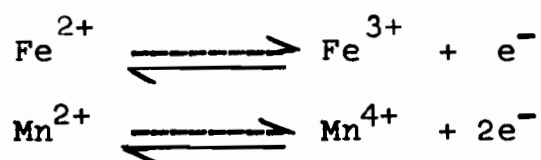
qui se combinent avec le gaz carbonique d'origine microbienne pour former des carbonates . Cette augmentation du pH par sulfatoréduction dans des sols inondés riches en matière organique est à l'origine de la formation de sols à alcalis, où le pH peut atteindre 9,5 .

3. ACTION SUR LE POTENTIEL D'OXYDORÉDUCTION .

Le potentiel d'oxydo-réduction exprime le pouvoir oxydant ou réducteur du sol, il est mesuré par la différence de potentiel qui s'établit entre le sol et une électrode de référence .

Dans le sol, le potentiel d'oxydo-réduction est sous la dépendance de la teneur en oxygène de l'atmosphère et de la concentration de l'oxygène dissous dans l'eau . La respiration des microorganismes aérobie a donc pour effet d'abaisser le potentiel, d'autant plus que le sol est engorgé . Par exemple, le potentiel d'un sol de rizière passe de + 300 mV avant la submersion à -100 mV après 15 jours d'inondation . Cet abaissement est plus rapide si le sol est riche en matière organique . .

Le potentiel du sol est également sous l'influence de l'état d'équilibre de certains systèmes redox, en particulier des oxydes de fer et de manganèse :



ces équilibres peuvent être modifiés par certains microorganismes, par exemple des bactéries chimiotrophes qui tirent leur énergie de l'oxydation de composés minéraux réduits , comme Thiobacillus ferrooxydans . Le développement de ces microorganismes influence alors le potentiel d'oxydo-réduction dans le sol .

Comme nous l'avons vu plus haut , le dégagement d'oxygène par photosynthèse crée au contraire des conditions oxydantes dans les eaux de rizière pendant la journée, mais la respiration nocturne abaisse la teneur en oxygène qui peut parfois descendre à zéro en quelques heures d'obscurité .

CHAPITRE VII

INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES ET PLANTES

Après l'étude des interactions entre microorganismes du sol et entre les microorganismes et leur environnement, nous étudierons les interactions entre les microorganismes et les plantes .

L'influence de la végétation s'exerce soit directement par les apports de substances énergétiques, stimulantes ou inhibitrices, soit indirectement par modification du microenvironnement . Inversement , la microflore agit directement ou indirectement sur la nutrition de la plante, et sur son environnement . La figure 18 schématise les interactions entre microorganismes et plantes au niveau énergétique : dans les échanges énergétiques à l'intérieur de l'écosystème sol- plante, en tant qu'agents principaux du retour dans l'espace de l'énergie captée par la photosynthèse .

1. INTERACTIONS AU NIVEAU DES LITIÈRES .

Lorsqu'ils meurent, les organes aériens des plantes tombent au sol et forment la litière . Celle-ci fournit à la microflore hétérotrophe des quantités de substrat énergétique parfois considérables : plus de 5 t de carbone $\text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ sous forêt tropicale . La composition qualitative et quantitative de la litière est évidemment très variable suivant le type de couvert végétal : pour l'azote, l'apport par la litière est estimé à 30 kg $\text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ sous hêtraie en France et 220 kg $\text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ sous forêt tropicale humide au Congo .

1.1. Redistribution des cations dans le profil .

Les litières ont des teneurs élevées en cations (par exemple 2% de calcium, soit un apport de 200 kg $\text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ sous forêt tropicale) qui s'accumulent donc en surface . Sous l'action des pluies ces cations migrent ensuite vers la profondeur avec des vitesses variables : le calcium lentement, le fer plus rapidement,

et l'aluminium encore plus vite . Une redistribution verticale des cations dans le profil peut alors modifier les conditions physico-chimiques de croissance des microorganismes dans le sol .

1.2. Décomposition de la litière par les microorganismes .

Les différents composés organiques sont dégradés à des vitesses variables . On constate que les sucres (formant environ 15 % de la matière organique de la litière) ont totalement disparu au bout d' un an, la cellulose et l'hemicellulose (35 %) en 2 ou 3 ans, la lignine (40 %) en 7 ans ,les phénols (5 %) en 15 ans . Ces vitesses sont également variables suivant le type de litière, en raison des effets inhibiteurs ou stimulants sur la croissance des microorganismes .

1.3. Inhibition ou stimulation de la croissance par la litière .

La composition chimique des différentes litières végétales étant très variable, il en est de même pour leur influence sur le développement des différents groupes de microorganismes . Par exemple, la densité bactérienne dans l'horizon de surface sous litière de bouleau est 2 fois plus forte que sous litière d'Epicea , alors que les champignons sont 2 fois moins nombreux . Une litière de chêne a un effet inhibiteur sur la croissance de Bacillus megaterium , alors que la litière de hêtre stimule la croissance de cette bactérie . Certaines bactéries fixatrices d'azote (Beijerinchia) ou nitrifiantes sont inhibées par les litières de forêts tropicales humides, mais stimulées par des litières tropicales sèches (Acacia albida).

2. INTERACTION AU NIVEAU DE LA GRAINE : SPERMOSPHERE .

On appelle spermosphère le lieu privilégié créé dans le sol par une graine en germination jusqu'à l'instant où émerge la racine . L'influence de la graine est alors due principalement à la diffusion dans le sol de certaines substances au moment de l'imbibition: substances carbonées, azotées, qui peuvent stimuler ou inhiber la croissance de certains microorganismes . Inversement, le développement des microorganismes peut favoriser ou gêner

la germination . Deux groupes de microorganismes semblent avoir une certaine importance dans cette interaction graine -microorganisme: les bactéries sulfatoréductrices et les algues .

2.1. Sulfatoréduction spermosphérique

Elle a fait l'objet d'études dans la spermosphère du maïs et du riz . La sulfatoréduction est alors importante quand deux conditions sont réunies : anaérobiose et teneur en sulfates ou soufre élémentaire suffisamment élevée .

l'anaérobiose se produit quand le sol est engorgé et que la structure étant mauvaise la densité apparente est élevée . Un seuil critique ($d = 1,5$) a été déterminé pour un sol alluvial salin de Tunisie . Une teneur en sulfate supérieure à 200 ppm est également nécessaire, le seuil pour le soufre élémentaire n'est pas connu . Le développement des bactéries sulfatoréductrices est alors possible, celles-ci utilisant les composés organiques exsudés comme substrats énergétiques (pas de développement important dans le sol témoin non planté) . La teneur en sulfures solubles peut atteindre des valeurs toxiques pour la très jeune plantule (56 ppm de sulfures solubles en rizière de Camargue) . La toxicité des ions sulfure est directe ou indirecte, par effet de barrière de diffusion pour l'oxygène ou les ions minéraux nécessaires au moment de la germination .

Si l'activité des bactéries sulfatoréductrices est compensée par l'activité des bactéries sulfoxydantes , il n'y a pas accumulation de sulfure donc pas de toxicité .

2.2. Germination du riz en présence de cyanobactéries .

Ces microorganismes photosynthétiques se développent rapidement lors de la mise en eau des rizières inondées, et leur présence peut influencer la germination du riz par le jeu de deux actions :

-par l'oxygénation du milieu . Les cyanobactéries peuvent alors contribuer à limiter le développement des bactéries anaérobies au contact de la graine , donc de la sulfatoréduction . Cette interaction a été étudiée dans les rizières du Sénégal (effet Cobra-Lapin) .

-par production d'auxines, favorisant la croissance de la plantule de riz . Le riz inoculé par des cultures de cyanobactéries se développe alors plus rapidement que le riz témoin non inoculé .

3. INTERACTION AU NIVEAU DE LA RACINE : RHIZOSPHERE

On appelle rhizosphère la zone du sol influencée par la présence de la racine . Dans cette zone, la microflore est profondément modifiée sous l'effet des exsudats de la racine, des résidus cellulaires, ainsi que des actions de la racine sur l'environnement (modification des conditions d'oxygénation, de concentration saline , etc) . En retour l'activité des micro-organismes est importante pour la plante : mise à disposition ou compétition pour les éléments nutritifs, action sur la morphologie de la racine . C'est l'ensemble de ces interactions qui est appelé "effet rhizosphère" .

3.1. Anatomie de la racine .

D'une façon schématique, la racine est constituée par un méristème apical produisant des cellules dans deux directions :
 - vers l'apex, c'est-à-dire vers l'extrémité de la racine, les cellules de la coiffe qui se détachent continuellement et sont remplacées par le méristème
 - vers l'arrière, des cellules qui formeront la racine proprement dite, différenciées en cylindre central, cortex et épiderme .

Les cellules du cylindre central sont organisées en réseau vasculaire, bordé par un endoderme compact de cellules parfois lignifiées . Le cortex est au contraire formé de grandes cellules en tissu lâche, les espaces intercellulaires pouvant être assez vastes et résulter de la lyse de certaines cellules . La logévitité du cortex est variable suivant les plantes, pour les monocotylédones le cortex est entièrement d'origine primaire (c'est-à-dire qu'il provient du méristème apical) alors que pour les autres plantes des divisions ultérieures donnent naissance à un cortex secondaire . Les cellules de l'épiderme forment la surface qui est tortueuse et crevassée, à tel point qu'il est parfois difficile de suivre sur des coupes microscopiques le tracé de la surface externe de la racine . Enfin la surface est recouverte par

le mucilage, polysaccharide hydraté d'un fort poids moléculaire (environ 10^8) formé par différenciation de la paroi de certaines cellules de l'épiderme ou par excrétion . Le mucilage est particulièrement épais (plusieurs mm) au niveau de la coiffe .

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

3.2. Influence de la racine sur le développement des microorganismes.

3.2.1. nombre de microorganismes . On distingue en général deux zones dans la rhizosphère : la mince couche de sol qui adhère fortement à la racine mais qui peut en être détachée par lavage et agitation modérée dans l'eau (rhizosphère sensu stricto) et le rhizoplan, dont la microflore est extraite par agitation vigoureuse des racines déjà traitées comme indiqué . Des travaux récents en microscopie électronique ont montré que les espaces intercellulaires du cortex sont colonisés par les microorganismes, l'étude de cette endorhizosphère étant encore à ses débuts . On mesure l'effet rhizosphère sur le nombre de microorganismes par le rapport R/S entre la densité microbienne dans la rhizosphère (en général sensu lato , rhizosphère et rhizoplan) et dans le sol témoin éloigné des racines . Ce rapport a des valeurs très différentes suivant les espèces ou groupes de microorganismes :

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

Parmi les bactéries, l'effet rhizosphère est particulièrement important pour les dénitrifiants, les sulfatoréducteurs, les ammonifiants . La proportion de bactéries halointolérantes est plus forte dans la rhizosphère que dans le sol témoin, ce qui peut s'expliquer par le fait qu'il existe un gradient de concentration saline au voisinage de la racine où cette concentration est minimale . L'effet rhizosphère est aussi plus marqué pour les espèces bactériennes externes que pour les espèces internes aux agrégats.

3.2.2. Modifications du microenvironnement par la racine . La plus importante est probablement l'apport de substrats énergétiques favorisant le développement microbien .

-Exsudats racinaires . Ce sont principalement des sucres, acides organiques, acides aminés, qui sont normalement excrétés par la racine , cette exsudation étant plus importante suivant les espèces végétales, l'âge de la plante, l'état physiologique de la plante ou de la racine , le rythme nycthéral, etc. Ces composés organiques peuvent assurer la croissance de certaines espèces, comme on le vérifie en associant une culture bactérienne avec une racine en milieu minéral minimum : la croissance des hétérotrophes est alors dépendante des exsudats organiques .

De nombreuses observations montrent que l'activité des microorganismes de la rhizosphère est influencée par les exsudats . Par exemple l'exsudation augmentant quand la plante est en mauvais état physiologique (sécheresse, attaque parasitaire, coupe des parties aériennes) l'activité microbienne augmente alors dans la rhizosphère . L'activité fixatrice des bactéries libres associées à la racine, que nous étudierons plus en détail au chapitre traitant du cycle de l'azote, augmente avec la photosynthèse , c'est-à-dire avec l'éclairement .

Il est probable que dans l'endorhizosphère des relations trophiques encore plus étroites existent entre les bactéries et la racine .

-mucigel . Des travaux récents ou actuels montrent l'importance de ce composé particulier dans la production de polysaccharides dans le sol, sans qu'il soit possible actuellement de déterminer cette importance dans le bilan carboné de l'association plante-microorganismes . On a montré que le mucigel était utilisé par la microflore rhizosphérique pour la synthèse de polysaccharides de poids moléculaire inférieur intervenant dans la génèse de la structure du sol .

- potentiel d'oxydoréduction . Nous avons vu que la respiration des racines et des microorganismes de la rhizosphère peut-être estimée à 19 % de la respiration totale du sol de prairie . La respiration de la racine crée cependant un gradient de potentiel d'oxydoréduction dans le sol, qui est mis en évidence par un effet rhizosphérique diff rent, à chaque distance de prélèvement par rapport à la racine, pour les groupes physiologiques microbiens (aérobie,

anaérobies, microaérophiles) .

Le système racinaire peut également permettre la diffusion des gaz de l'atmosphère au contact des microorganismes rhizosphériques (Figure 19) . Ce phénomène est particulièrement net dans le cas du riz inondé, l'oxygène et l'azote étant transportés vers les racines . Ce transport inactif permet aux bactéries fixatrices d'être alimentées en azote atmosphérique, il est utilisé pour la mesure de l'activité fixatrice par mesure de la réduction de l'acétylène . Dans les conditions optimales d'expérimentation, l'acétylène mis au contact des parties aériennes est transporté dans la rhizosphère où il est réduit en éthylène par la nitrogénase. L'éthylène produit est alors transporté vers les parties aériennes et dosé par chromatographie en phase gazeuse . La diffusion des gaz par la plante permet une mesure rapide et sensible de l'activité fixatrice de la microflore rhizosphérique .

3.2.3. Un exemple d'effet rhizosphère: la sulfatoréduction rhizosphérique .

Nous avons décrit plus haut les conséquences dans un sol à forte teneur en soufre total d'un déséquilibre entre la réduction et l'oxydation des composés minéraux du soufre au contact de la graine en germination . Le même phénomène affecte la rhizosphère de la jeune plantule :le développement des bactéries sulfatoréductrices est étroitement lié à la racine, s'il est excessif les sulfures produits peuvent provoquer des carences ou des toxicités . La sulfatoréduction a été mise en évidence dans la rhizosphère du maïs, du haricot et du riz . En plus des conditions physicochimiques nécessaires (voir sulfatoréduction spermosphérique) , le développement des bactéries sulfatoréductrices est étroitement dépendant de l'exsudation racinaire . Il est plus important quand cette exsudation est stimulée (par la lumière, par la coupe des parties aériennes , par une attaque parasitaire, par la dessiccation , etc...) . L'analyse des exsudats montre d'autre part que certains composés excrétés (acides organiques) sont des substrats utilisables par des cultures pures de bactéries sulfatoréductrices .

3.3. Effet des microorganismes de la rhizosphère sur la croissance de la plante .

Les microorganismes de la rhizosphère agissent sur la plante en mettant à sa disposition des molécules organiques absorbables par la racine (acides aminés, auxines, vitamines, antibiotiques) ou en améliorant sa nutrition minérale par solubilisation ou minéralisation d'éléments . Enfin la microflore de la racine modifie le développement du système racinaire, même si des structures spécialisées (nodules, mycorrhizes) ne sont pas visibles .

3.3.1. Influence directe des métabolites microbiens. Les plantes absorbent par leurs racines de nombreuses substances organiques, provenant de l'activité de la microflore, des résidus végétaux (éléments solubles de la litière) ou des apports extérieurs (pesticides) . Ces composés , bien qu'absorbés en faible quantité , jouent un rôle important en inhibant ou stimulant des activités métaboliques de la plante .

Les principales substances produites par les microorganismes et susceptibles d'influer sur le développement des plantes sont :

- des auxines, en particulier l'acide indol-acétique, synthétisé par de nombreuses espèces bactériennes .
- des acides aminés qui peuvent être excrétés soit après synthèse à partir de composés minéraux soit après décomposition des protéines
- des vitamines ou des cofacteurs
- des antibiotiques qui agissent directement en influant sur le développement ou indirectement en protégeant la racine contre l'invasion par des microorganismes pathogènes .

3.3.2. Influence indirecte sur la nutrition . Par biodégradation de substances biologiquement actives vis-à-vis des plantes, les microorganismes ont un rôle détoxifiant très important . Par exemple la coumarine , qui est libérée lors de la dégradation des litières est décomposée par de nombreuses espèces bactériennes. La toxicité de nombreux acides aminés ne peut en général pas s'exprimer dans le sol car ces composés sont très rapidement dégradés par les microorganismes . Les bactéries méthanigènes

en utilisant en fin de chaîne les acides organiques produits par d'autres groupes dans les sols inondés contribuent à la détoxification de ces sols, certains acides organiques étant inhibiteurs de la croissance des plantes .

Enfin le rôle des microorganismes dans la minéralisation, la solubilisation ou l'immobilisation des éléments nutritifs minéraux sera étudié avec les autres activités microbiennes dans les cycles de l'azote, du carbone, du phosphore , etc ...

3.3.3. Influence des microorganismes sur le développement des racines . Mis à part les modifications structurales étudiées plus loin (nodules, mycorrhizes) , les microorganismes ont parfois une action sur le développement racinaire mesuré en poids de racine par rapport au poids des parties aériennes . Cette influence est observée par exemple dans le sol inondé en rizière, où l'on note une corrélation entre la densité des bactéries sulfatoréductrices dans la rizosphère et le poids des racines . L'augmentation du système racinaire est alors probablement une réponse de la plante à la colonisation des racines par les bactéries sulfatoréductrices , les sulfures produits limitant la diffusion des éléments nutritifs au niveau de la racine . Si les conditions permettent ensuite à un équilibre entre sulfatoréductrices et sulfoxydantes de s'installer, les plantes ayant un système racinaire plus important auront un meilleur développement .

3.4. Les associations plantes- microorganismes à caractère symbiotique.

Les lésions locales, l'hypertrophie, la production de gommes et de tannins sont des réactions habituelles des plantes à l'invasion par des microorganismes pathogènes . Une croissance racinaire ralentie ou accélérée, des poils absorbants nombreux et plus courts sont des réactions moins brutales . Enfin la formation d'organes spécialisés comme les nodules et les mycorrhizes est la conséquence d'associations de type symbiotique entre racines et microorganismes .

3.4.1. Nodules . Ces structures particulières que l'on observe sur les racines de certaines plantes sont très variées dans leur taille (de quelques mm à plusieurs cm) leur forme , leur implantation sur la racine et le type de microorganisme responsable . Nous ne parlerons ici que des nodules fixateurs d'azote, très étudiés, bien que les nodules non fixateurs aient probablement aussi une importance dans le développement de la plante hôte . Les nodules fixateurs sont induits par deux types de microorganismes : les Rhizobium sur les légumineuses , un autre symbiote (probablement un actinomycète) sur des racines de certains arbres .

3.4.1.1. Nodules des légumineuses . La plupart des espèces de légumineuses possèdent sur leurs racines des nodules contenant des bactéries fixatrices d'azote, les Rhizobium . Dans ces structures, les bactéries et la plante forment une association symbiotique , la plante fournissant les substrats carbonés et la bactéries l'azote combiné . Le parasitisme peut s'établir quand l'alimentation carbonée fournie par la plante diminue . La part de l'azote fixé par les nodules dans l'alimentation de la plante est très variable suivant les plantes, les conditions culturales et la souche de Rhizobium symbiotique .

Les Rhizobium dans le sol . Ces bactéries hétérotrophes ne sont pas des parasites obligatoires des légumineuses, ils peuvent donc se multiplier dans le sol ou s'y maintenir , un sol moyen contenant de nombreuses variétés de Rhizobium formant des nodules peu ou non fixateurs sur des plantes sauvages .

Formation du nodule . On distingue trois étapes dans la formation du nodule induit par la bactérie :

- Une première interaction intervient quand une bactérie se trouve placée à proximité d'une racine : celle-ci excrète du tryptophane qui est transformé en acide indol-acétique par la bactérie . Ce composé induit une déformation caractéristique de la racine et la synthèse par la plante d'une enzyme solubilisant la membrane de la cellule végétale au contact de la bactérie .
- A ce point faible plusieurs bactéries pénètrent dans la racine par un tube à parois cellulosique produit par la plante .

Le cordon d'infection pénètre ainsi jusqu'à la partie centrale du poil absorbant, où il induit la formation d'une cellule polyplôïde, qui se divise alors en cellules de type indifférencié : la petite masse de cellules constitue le jeune nodule .
 - le cordon d'infection se lyse en libérant les bactéries dans les cellules indifférenciées, les bactéries s'y divisent puis subissent des modifications structurales aboutissant au stade "bactéroïde" .

Le nombre de nodules formés varie en fonction du nombre de rhizobium contenu dans le sol (pour un même système plante-rhizobium).
Fixation par les nodules . Les plantes non nodulées sont incapables de fixer l'azote, de même que les rhizobium isolés en milieu artificiel (à de rares exceptions près) . La fixation n'intervient donc qu'en symbiose, la quantité d'azote fixé par rapport au poids sec du nodule (efficacité du nodule) étant fonction pour une plante de la souche de rhizobium infestante . Un des objectifs des chercheurs est d'augmenter cette efficacité .
 Ce sont les nodules jeunes qui fixent l'azote, dans les nodules âgés les bactéroïdes sont lysés et leurs constituants absorbés par la cellule végétale .

Transfert de l'azote fixé par le nodule dans la plante . L'azote fixé dans le nodule migre rapidement dans le reste de la plante : il suffit de quelques heures pour que l'azote marqué se retrouve dans les tissus aériens . On admet que le site de fixation est situé à la surface du bactéroïde et que l'azote migre sous forme d'acides aminés .

Inoculation des légumineuses, compétition . La pratique de l'inoculation artificielle par des souches de rhizobium choisies pour leur efficacité est déjà ancienne, et les augmentations de rendement réels, bien que l'on utilise également des engrais azotés pour une culture intensive de légumineuses (soja) . Il faut alors tenir compte de la compétitivité des souches sélectionnées pour l'inoculation face aux souches sauvages se trouvant déjà dans le sol, compétitivité et efficacité étant deux caractères distincts . La différence de compétitivité entre souches traduit en fait une différence dans l'adsorption de la bactéries à la surface de la racine, l'étude de la compétition nécessite donc une meilleure connaissance des isothermes d'adsorption entre le rhizobium et la surface racinaire .

L'inoculation présente surtout un intérêt dans des sols carencés en azote recevant pour la première fois une légumineuse. Dans des sols carencés mais cultivés depuis de nombreuses années en arachide par exemple, l'inoculation se heurte au problème de la compétitivité des souches améliorées face aux souches sauvages préexistantes .

3.4.1.2. Autre nodules fixateurs . Ce sont des racines modifiées se formant à partir du péricycle d'une racine mère . Le symbiote envahit le cortex qui est anormalement développé . Le méristème apical se divise parfois dichotomiquement , donnant une forme corallienne au nodule . L'exemple le plus étudié est le nodule de l'aune, qui contient un actinomycète .

3.4.2. Mycorrhizes . La plupart des racines de végétaux sont infectées par des champignons . L'association est mutuellement bénéfique pour les deux partenaires , elle se manifeste dans une structure particulière , la mycorrhize .

3.4.2.1. Morphologie de la mycorrhize . En général, seules les mycorrhizes ectotrophiques (externes) induisent une transformation morphologique et anatomique de la racine . L'infection par des endophytes cause simplement un épaississement du cortex et un développement irrégulier de la racine .

Au contraire les mycorrhizes ectotrophiques produisent des structures variées : un seul hôte peut porter plus de 100 types différents d'ectomycorrhizes . La morphologie de la radicelle mycorrhizienne est entièrement modifiée, un tissu parenchymateux recouvrant alors totalement la surface y compris l'apex . Les cellules du cortex sont orientées radialement (au lieu de l'orientation longitudinale dans une racine saine) et colonisées par le champignon . L'infection intracellulaire est visible sous forme d'hyphes enchevêtrées dans le tissu parenchymateux, le cortex n'est jamais atteint . Ces transformations morphologiques peuvent être induites par des extraits acellulaires du champignon mycorrhizien .

3.4.2.2. Fonctionnement de la mycorrhize . Contrairement aux nodules bactériens, l'association mycorrhizienne est peu ou pas spécifique . Dans cette symbiose, le champignon est en général

incapable d'utiliser les polysaccharides complexes qui sont les principales sources de carbone dans le sol , il utilise au contraire les glucides excrétés ou produits par les cellules végétales, cette production étant d'ailleurs fortement stimulée par les auxines que libère le champignon .

La plante mycorrhizée profite de l'association par l'augmentation de son système racinaire , cette fonction d'organe d'absorption de la mycorrhize a été montrée en particulier pour le phosphore . Des travaux récents ou actuels montrent l'importance de ce type d'association pour la nutrition de nombreuses plantes cultivées .

3.4.3. Associations multiples .

Une plante hôte peut réagir avec plusieurs microorganismes, fournissant à chacun son habitat spécifique . Ainsi plusieurs types d'infections peuvent se produire sur la même racine, mais elles ne sont jamais mélangées . Par exemple, les légumineuses peuvent être infectées par des champignons mycorrhiziens, mais ceux-ci ne colonisent pas les nodules à Rhizobium . Cependant des nodules à Rhizobium et à actinomycètes ne peuvent pas se trouver en même temps sur la même plante hôte .

3.4.4. Associations symbiotiques non racinaires .

Les associations entre plantes et microorganismes ne sont pas limitées aux racines, mais peuvent parfois se manifester au niveau des parties aériennes , par exemple entre Arsidia et Bacillus foliicola , la plante ne se développant correctement qu'en présence de la bactérie . Un autre exemple est celui d'une fougère aquatique, Azola , colonisée par une cyanobactérie fixatrice d'azote . L'association est alors capable de se développer à la surface d'eaux pauvres en azote, comme par exemple les eaux de rizière . L'Azola est utilisée en engrais vert par les riziculteurs dans certains pays d'extrême Orient, la fougère étant cultivée sur une petite surface , récoltée et enfouie avant semis ou repiquage .

CHAPITRE VIII

CYCLE DU CARBONE ET FLUX D'ENERGIE

1. GENERALITES

L'existence d'organismes au sein d'un écosystème suppose un apport d'énergie nécessaire à l'absorption des éléments nutritifs, à l'entretien, à la croissance et à la reproduction. Dans l'écosystème sol-végétation, l'énergie est principalement fournie par le rayonnement solaire et convertie en énergie chimique par la composante phototrophe de l'écosystème. Au cours de la photosynthèse, l'énergie lumineuse est utilisée pour réduire la molécule de CO_2 en " unités carbonées réduites ", avec oxydation de la molécule d'eau en oxygène. L'énergie stockée sous forme de liaisons chimiques dans les composés carbonés est transférée sous cette forme dans tous les constituants de l'écosystème (voir Figure 18), le carbone qui est à la base de l'élaboration de la matière organique dans les êtres vivants est donc aussi le véhicule de l'énergie. Les activités d'entretien, de croissance et de reproduction entraînent une dissipation d'énergie sous forme de chaleur (voir chapitre I) la perte d'un certain nombre d'unités carbonées par respiration sous forme de CO_2 , et la réduction de l'oxygène en molécule d'eau. Cycle du carbone, de l'oxygène et flux d'énergie sont donc intimement liés dans l'écosystème sol-végétation (Figure 20). L'importance des microorganismes est évidente : par exemple, la totalité du carbone utilisable par les plantes, c'est-à-dire du gaz carbonique de l'atmosphère, serait épuisé en 20 ans sans leur intervention dans la minéralisation de la matière organique. La figure 21 schématise, selon WAREMBOURG (1977) la circulation du carbone dans un écosystème prairial.

2. SOLUBILISATION DES CARBONATES

Le carbone immobilisé sous forme minérale dans les roches

ou dans le sol (carbonates) est solubilisé sous l'action des microorganismes, soit par l'acide carbonique provenant de la respiration, soit par certains métabolites produits par différents groupes bactériens : nitrifiants, sulfooxydants, fermenteurs . Par exemple, les coquilles de mollusques (Arca) qui se déposent à la surface des sols de mangrove sont "digérées" au cours de leur migration en profondeur par l'acide sulfurique produit par les bactéries sulfooxydantes aérobies Thiobacillus thiooxydans à partir des sulfures contenus dans ces sols . Le carbone est ainsi recyclé sous forme de gaz carbonique utilisable pour les organismes photosynthétiques .

3. FIXATION DU GAZ CARBONIQUE PAR LES MICROORGANISMES AUTOTROPHES .

Dans l'écosystème sol-végétation qui nous intéresse ici, les plantes supérieures sont les principaux agents de la fixation du gaz carbonique de l'atmosphère, seule une petite contribution étant due aux microorganismes (algues, bactéries photosynthétiques vertes ou rouges, bactéries chemoautotrophes) . Dans les océans au contraire ce sont les microorganismes planctoniques qui jouent le rôle le plus important .

4. UTILISATION DES EXSUDATS RACINAIRES PAR LES MICROORGANISMES .

Nous avons vu au chapitre VII que l'effet rhizosphère d'une plante pouvait être attribué à l'exsudation par la racine de composés organiques utilisables par la microflore hétérotrophe . Des travaux récents ont confirmé cette hypothèse .

Lors du marquage court par du carbone radioactif C^{14} , on observe un 2^{ème} pic de production de CO_2 marqué qui se produit toujours et uniquement en présence d'une microflore rhizosphérique (WAREMBOURG , 1977) , ce qui conduit à penser que ce pic est provoqué par la dégradation d'exsudats eux-mêmes marqués . Dans cette hypothèse, il ne devrait pas y avoir de nécessité d'adaptation à l'apparition des produits marqués, puisque le substrat disponible ne change ni qualitativement ni quantitativement . On remarque cependant un décalage de temps assez long entre le premier pic de CO_2 marqué (respiration racinaire) et ce 2^{ème} pic de respiration microbienne qui ne peut alors pas provenir de l'oxydation de composés carbonés simples . Ces composés sont en effet

utilisés très rapidement par les microorganismes .

Le mucigel, polysaccharide à haute valeur énergétique, est synthétisé par la racine principalement au niveau de la coiffe, mais à cet endroit les microorganismes sont pratiquement absents. Par contre à mesure que l'on s'éloigne de l'apex le mucigel est moins abondant mais fortement colonisé par les microorganismes . Ces observations suggèrent que le mucigel est en fait le principal exsudat utilisé par la microflore rhizosphérique, son attaque au niveau de la coiffe étant différée par une " protection " attribuée soit à des substances toxiques soit à sa constitution fibrillaire .

5. MINÉRALISATION DES RÉSIDUS ORGANIQUES .

L'oxydation des composés carbonés contenus dans les résidus végétaux ou animaux est réalisée par la combinaison des activités métaboliques de nombreux groupes microbiens . Ces constituants organiques doivent être digérés et les produits de cette digestion oxydés par des organismes capables d'utiliser ces produits . De nombreux aérobies mènent à bien cette oxydation jusqu'au stade final (CO_2 et H_2O) , le gaz carbonique retournant à l'atmosphère . La concentration actuelle du CO_2 dans l'atmosphère (0,03 %) est le résultat de l'équilibre entre la photosynthèse, la minéralisation et le piégeage du CO_2 sous forme de carbonates dans les océans, qui constituent un réservoir de gaz carbonique très important . Nous examinerons deux exemples de minéralisation :

- celle de la cellulose
- celle de la lignine .

5.1. Cellulolyse .

La cellulose est un polyside végétal très commun , qui représente environ 40% des résidus végétaux . Elle est formée d'unités glucopyranose réunies en chaînes elles-mêmes groupées en fibrilles . La cellulose est dégradée en glucose suivant un ensemble de réactions enzymatiques que l'on peut schématiser ainsi :

cellulose insoluble $\xrightarrow{1}$ cellulose soluble $\xrightarrow{2}$ cellobiose $\xrightarrow{3}$ glucose

- 1 = enzymes " C_1 ", coupant les chaînes en morceaux plus courts
- 2 = enzymes " C_x " réalisant la rupture de nouvelles liaisons
- 3 = cellobiase, transformant le cellobiose en glucose

Certains microorganismes (cellulolytiques vrais) possèdent l'ensemble de ces enzymes et peuvent donc transformer la cellulose en glucose, d'autres n'effectuent qu'une partie de ces transformations, mais leurs associations permettent également d'aboutir au glucose .

5.1.1. Cellulolyse aérobie . Dans le sol, le groupe le plus actif étudié par WINOGRADSKY est Cytophaga . Ces bactéries filamenteuses s'attachent parallèlement aux fibrilles de la cellulose qui est attaquée par des enzymes exocellulaires . La cellulose est le seul substrat utilisable comme source de carbone et d'énergie . Les Cytophaga sont des germes mésophiles (optimum 30°) et acidotolérants . La cellulolyse aérobie est aussi le fait d'actinomycètes et de champignons (Trichoderma) .

5.1.2. Cellulolyse anaérobie par les bactéries libres . La décomposition anaérobie de la cellulose est moins active dans le sol que la décomposition aérobie , elle est cependant réalisée par certaines bactéries (Clostridium, Plectridium) associés dans les sols réducteurs à des bactéries méthanigènes ou fixatrices d'azote . Ces associations revêtent aujourd'hui un grand intérêt pour la production de méthane à partir de matière verte cellulosique : l'énergie solaire captée par photosynthèse peut alors être transformée en énergie chimique plus directement utilisable .

5.1.3. Cellulolyse par les associations symbiotiques .

Protozoaires ciliés des termites . Pouvant constituer 1/3 du poids de l'insecte, les protozoaires ciliés vivant dans l'intestin du termite sont responsables de la digestion de la cellulose par le termite, l'insecte non infecté en étant incapable . Ces protozoaires ciliés sont eux-mêmes les hôtes de bactéries intracellulaires produisant les cellulases .

Bactéries du rumen . Contenant une très forte densité de microorganismes, le rumen est le siège d'un grand nombre d'activités biochimiques ayant pour effet la décomposition de la cellulose en acides organiques (acétique, propionique, butyrique) et gaz (méthane, gaz carbonique) . Comme dans le cas des termites, cette microflore symbiotique est responsable de la décomposition de la cellulose dans le tractus intestinal des ruminants , donc de la minéralisation du carbone ingéré sous forme organique .

5.2. Ligninolyse .

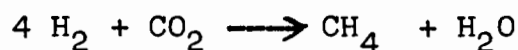
Moins abondante que la cellulose, la lignine est un polymère de composés phénoliques en C₆ avec des chaînes en C₃ . Les monomères sont des unités diversement substituées de composition proche des "noyaux" humiques .

La dépolymérisation est catalysée principalement par des champignons (basidiomycètes) , les bactéries jouant un rôle moins important . Les monomères peuvent ensuite être dégradés en CO₂ et H₂O (décomposition totale de la lignine) ou constituer les blocs précurseurs de l'humus (décomposition partielle) .

La décomposition de la lignine étant un processus lent dans le sol, on utilise la lignine comme matrice d'inclusion d'engrais azotés (N-lignine) , l'azote étant libéré progressivement au rythme de la ligninolyse (engrais retard) .

5.3. Méthanogénèse .

Un petit groupe de bactéries anaérobies non sporulantes peut utiliser le CO₂ comme accepteur final d'électrons pour une respiration anaérobie . Toutes peuvent utiliser l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie :



mais certaines peuvent également oxyder des composés organiques en produisant du méthane et de l'eau . Nous avons évoqué les travaux portant sur l'association cellulolyse-méthanogénèse sous l'angle de la transformation de l'énergie solaire (photosynthèse et production de cellulose) en énergie chimique (méthane) .

L'action détoxifiante des bactéries méthanigènes a été étudiée dans les sols de rizière . En inhibant l'activité des méthanigènes dans le sol par l'acétylène, on observe une accumulation d'acides organiques toxiques : les bactéries méthanigènes participent donc à leur élimination dans les zones les plus réductrices où ils ne peuvent pas être oxydés par la microflore hétérotrophe aérobie ou dénitrifiante .

6. IMMOBILISATION DU CARBONE SOUS FORME ORGANIQUE : HUMIFICATION .

La matière organique du sol est principalement formée de substances résistantes , appelées globalement humus , qui constituent donc un réservoir de carbone organique .

6.1. Différentes formes de la matière organique du sol .

On peut classer la matière organique du sol en trois catégories, les limites entre les différentes classes étant assez arbitraires : il existe de nombreux intermédiaires entre les classes .

6.1.1. Matière organique fraîche , non décomposée . Ce sont les feuilles mortes, tiges, racines mortes, les exsudats racinaires, les cellules microbiennes mortes, les cadavres d'animaux .

6.1.2. Matière organique non humifiée = Matière organique labile . Fraction légère à rapport C/N élevé, facilement biodégradable, pouvant être séparée des argiles .

6.1.3. Matière organique humifiée = Humus sensu stricto . Fraction dense, à rapport C/N voisin de 10 , plus ou moins résistante à la biodégradation, liée aux argiles . Ce sont les acides fulviques, les acides humiques, les humines . En plus de l'humus proprement dit, cette fraction comprend des composés chimiquement définis : protides, glucides, cires, tannins , résultant d'une transformation de la matière organique fraîche ou des synthèses microbiennes.

6.2. Formation de l'humus à partir de la lignine .

Nous avons vu que les monomères de la lignine sont des noyaux phénoliques substitués . Ces noyaux peuvent être oxydés par certains microorganismes (basidiomycètes) avant de former par polymérisation chimique les polyphénols de l'humus . Les processus d'humification sont donc influencés par la teneur en lignine des résidus végétaux .

6.3. Humification à partir de composés carbonés non aromatiques .

Certains champignons (Aspergillus) ou bactéries (Azotobacter) peuvent synthétiser des précurseurs de l'humus à partir de composés carbonés simples , comme par exemple le glucose :

glucose + asparagine \longrightarrow acides humiques

Les précurseurs néoformés subissent ensuite une polymérisation chimique comme les précurseurs provenant de la lignine .

6.4. Humification directe .

Les composés phénoliques de la matière organique fraîche peuvent aussi former des substances humiques par condensation catalysée par des enzymes végétales : cette voie non microbienne est quantitativement moins importante .

6.5. Maturation de l'humus .

La formation de l'humus est donc surtout un processus biochimique faisant intervenir des oxydases microbiennes et végétales, et des réactions chimiques aboutissant :

- dans un premier stade à l'oxydation de composés phénoliques , suivie d'une condensation .
- dans un second stade à la réaction de ces phénols oxydés avec des groupements NH_2 ou SH , où interviennent des acides aminés d'origine microbienne .

Mais cet humus frais subit une lente maturation dans le sol, le datage au carbone radioactif permet d'attribuer aux fraction "jeunes" un âge moyen de 50 à 250 ans, à l'humine quelque 2000 ans. La figure 22 schématise la formation des composés humiques à partir des résidus végétaux .

6.6. Deshumification.

Le carbone (et l'azote) immobilisé sous forme de composés humiques est recyclé sous une forme utilisable par l'ensemble de la microflore et par les plantes sous l'action d'associations microbiennes complexes qui sont seules capables de catalyser l'attaque des nombreux types de liaisons figurant dans l'humus . La résistance à la biodégradation est très variable suivant les formes d'humus, la nature du complexe argileux, le pH , l'aération . Par exemple, le broyage des macroagrégats (qui entraîne une augmentation de l'oxygénation et la mise au contact de la microflore avec la matière déposée dans les pores les plus fins) est suivi d'une intense décomposition de la matière organique correspondant à un dégagement de CO_2 . La minéralisation de l'humus est ralentie par certains types d'argile (allophane) ou par des substances végétales (tannins) .

CHAPITRE IX

CYCLE DE L'AZOTE

1. GENERALITES.

L'azote est l'élément constitutif de la plante le plus important après le carbone , la réserve principale étant la lithosphère (98% de l'azote total) et non l'atmosphère . Cependant la concentration des formes assimilables (ammonium, nitrate, composés organiques simples) est souvent limitante pour la croissance de la très grande majorité des êtres vivants car l'azote moléculaire, constituant majeur de l'atmosphère mais chimiquement inerte , n'est utilisable que par certains microorganismes . Dans l'écosystème sol- plante , les transformations cycliques des composés azotés par la microflore ont une très grande importance :

- dans l'équilibre entre formes assimilables et formes non assimilables par la plante
- dans les apports d'azote (fixation d'azote moléculaire, minéralisation de l'azote organique)
- dans les exportations (nitrification, dénitrification) .

La figure 23 schématise le cycle de l'azote dans cet écosystème et l'intervention des microorganismes .

2. APPORTS D'ORIGINE MICROBIENNE : FIXATION D'AZOTE MOLECULAIRE.

2.1. Fixation symbiotique .

Nous avons décrit au Chapitre VII la morphologie et le fonctionnement des nodules de légumineuses, association symbiotique spécifique entre une plante et un Rhizobium , ainsi que les mycorrhizes .

Rappelons que la fixation par les nodules n'intervient que lorsque la symbiose est établie : les légumineuses non infectées sont incapables de fixer l'azote, de même que les bactéries isolées (sauf quelques souches mutées) . Cependant, en fractionnant le nodule (sous atmosphère exempte d'oxygène) en bactéroïdes, membranes et fraction soluble, on constate que les extraits acellulaires de bactéroïdes peuvent fixer l'azote en présence

d'un donateur d'électrons et d'un système producteur d'ATP , le produit final étant l'ammoniaque . Cependant la plante intervient à la fois en participant à la synthèse des enzymes de la fixation et en créant dans le nodule les conditions nécessaires à l'activité de la nitrogénase , qui est fortement inhibée par l'oxygène .

La fixation par les nodules de légumineuses est un processus très efficace, l'apport pouvant atteindre $200 \text{ kg d'azote ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$. La mesure de l'activité nitrogénasique par la méthode de réduction de l'acétylène a permis de comparer l'efficacité de différents nodules , par exemple des nodules de trèfle ou de soja qui sont deux fois plus efficaces que les nodules du pois . L'influence de l'éclairement est également importante , l'activité nitrogénasique variant suivant le rythme nycthéral . De même, la teneur en azote du soja cultivé sous un éclairement réduit est 2 fois inférieure à celle d'une plante témoin bien éclairée .

Le rôle des mycorrhizes dans l'alimentation en azote de la plante a été mis en évidence , par exemple chez Pinus strobus on constate un accroissement de 86 % de la teneur en azote des plants inoculés par rapport aux plants témoins non infectés . L'activité nitrogénasique (réductrice d'acétylène) des mycorrhizes de l'aune est comparable à celle des nodules de légumineuses .

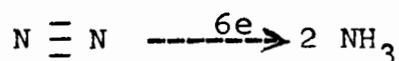
2.2. Fixation par les microorganismes non symbiotiques .

Il y a plus de 150 ans que l'on a constaté que le sol contient plus d'azote que la roche mère et qu'il existait une importante source d'azote inexploitée . Le rôle des microorganismes était reconnu en constatant que des plantes stériles sont incapables d'incorporer l'azote moléculaire . La découverte de la fixation de l'azote par les bactéries libres est due en 1901 à BEIJERINCK , depuis lors d'autres genres bactériens ont été reconnus comme fixateurs .

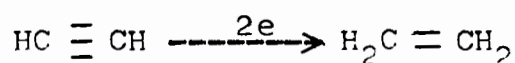
2.2.1. Mesure de l'activité fixatrice par la réduction de l'acétylène

Cette méthode a permis un grand nombre de travaux sur la fixation libre (rhizosphérique ou non rhizosphérique) . Nous en décrivons le principe et l'application .

La nitrogénase qui réduit l'azote moléculaire en ammoniaque



peut également réduire d'autres substrats, parmi lesquels l'acétylène



le taux de réduction de l'acétylène n'étant pas affecté par la présence de l'azote de l'atmosphère du sol si l'acétylène est en quantité saturante pour l'enzyme. Dans ces conditions, la valeur mesurée du rapport acétylène réduit / azote fixé est très proche de la valeur théorique de 3/1. Pour la mesure, le système (sol, racines, système racinaire de plante, etc..) est mis en contact d'acétylène (10 à 15 % en volume du gaz) et l'atmosphère est échantillonnée à intervalles pour y mesurer la quantité d'éthylène produite. Plusieurs remarques doivent être faites :

- Dans la cellule, l'ammoniaque produit est rapidement converti en amides et acides aminés, cette incorporation nécessitant des squelettes carbonés. En conditions limitantes en carbohydrates ces composés carbonés sont également utilisés comme source d'énergie, et l'incorporation peut être moins rapide que la réduction de l'azote en ammoniaque. L'augmentation du pool d'ammoniaque peut alors réprimer la synthèse de la nitrogénase, dont le niveau est ainsi régulé dans la cellule. Une longue exposition à l'acétylène peut abaisser le niveau du pool d'ammoniaque, en raison de l'affinité de la nitrogénase pour l'acétylène. Il en résulte une dérépression de la nitrogénase donc une mesure par excès de l'activité fixatrice du système.

- l'éthylène est à la fois une phytohormone puissante et un inhibiteur de la croissance de certaines bactéries fixatrices libres.

- l'éthylène peut être produit dans le sol sans acétylène, à partir de la matière organique, ou oxydé par les méthanotrophes.

Toutes ces réserves étant faites, la méthode donne une bonne mesure de l'activité fixatrice, d'autant plus fiable que le système est moins perturbé par l'échantillonnage. Plusieurs techniques ont été mises au point pour la mesure de l'activité fixatrice de systèmes sol-plantes in situ, les intervalles entre analyses étant fonction de la diffusion des gaz dans les sols considérés. La méthode peut également être appliquée à des carottes de sol ou des échantillons de racines qui sont mis au contact de l'acétylène dans un flacon contenant une atmosphère inerte (argon ou hélium). On observe alors une phase de latence

assez longue (jusqu'à 20 h.) au bout de laquelle l'activité fixatrice redevient comparable à celle d'échantillons non perturbés .

2.2.2. Activité fixatrice en région tempérée .

Une expérimentation conduite depuis 1843 à la station agromique de Rothamsted a permis de mettre en évidence un gain moyen d'azote par fixation biologique de $30 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ dans une parcelle n'ayant jamais reçu d'engrais azoté . Les quelques légumineuses sauvages présentes ne peuvent pas être à l'origine de cette fixation, qui est due en grande partie à la croûte algale de la surface du sol . Durant l'été, après de fortes pluies, l'activité fixatrice peut atteindre $1 \text{ à } 2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$, elle se maintient pendant la nuit à environ 15 % de sa valeur diurne . Sous forêt de pins aux USA , la fixation non symbiotique a été évaluée à $23 \text{ kg d'azote ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ pendant 10 ans, sous prairie sans légumineuses $183 \text{ kg d'azote ha}^{-1}$ ont été fixés en 3 ans . L'activité fixatrice augmente très rapidement dans un sol de prairie par apport de sucre ou de mélasse, ce qui suggère que les substrats carbonés sont limitants pour la fixation non symbiotique . Enfin la microflore fixatrice associée à certaines plantes joue un rôle important dans les dunes .

Les deux systèmes fixateurs non symbiotiques les plus efficaces en région tempérée sont donc les bactéries de la rhizosphère des dicotylédones et de certaines monocotylédones, et les cyanobactéries de la couche d'algues à la surface du sol .

2.2.3. Activité fixatrice en région tropicale.

2.2.3.1. Associée aux graminées . De nombreux travaux ont porté sur une graminée tropicale, Paspalum notatum , qui stimule spécifiquement la croissance d'une bactérie fixatrice libre Azotobacter paspali . Les mesures sur des plantes entières ont montré que l'activité fixatrice est conservée sous une pression d'oxygène correspondant à la pression atmosphérique, indiquant que le système sol-plante maintient une tension d'oxygène compatible avec la fixation biologique . Cette fixation a été estimée à $100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$. La plupart des graminées tropicales ont une activité fixatrice notable, associée à la photosynthèse . On a montré que cette activité est fortement stimulée par addition de sucre, sans augmentation du

nombre de bactéries fixatrices, ce qui indique que la fixation non symbiotique est limitée par la concentration en substrats carbonés. L'azote N^{15} est rapidement incorporé dans la plante mais il est difficile de quantifier l'apport réel pour la plante. Des essais sur Pennisetum ont montré que la fixation fournit les 2/3 de l'azote pour cette plante.

Enfin l'activité fixatrice n'est pas distribuée uniformément sur les racines, mais concentrée dans certaines zones où les cellules corticales sont abondamment infectées par des bactéries. Cette localisation intraracinaire peut expliquer le fait que l'activité n'est pas diminuée par un simple lavage des racines.

2.2.3.2. Associée au riz inondé. Parmi les céréales cultivées, le riz est la plante ayant l'activité fixatrice la plus importante. Un bilan d'azote portant sur une saison montre que le déficit entre les gains connus (eaux, azote du sol) et les exportations (récolte) atteint 70 kg ha^{-1} , le stock d'azote du sol (2800 kg) devant alors être épuisé en 40 ans. En fait le stock se maintient grâce à la fixation biologique dans l'eau de submersion et dans la rhizosphère du riz.

Le système fixateur sol-riz a fait l'objet de nombreuses études in vitro et in situ qui ont mis en évidence l'influence de plusieurs paramètres sur la fixation non symbiotique dans la rizière. On constate par exemple que le gain d'azote est deux fois plus important en rizière inondée qu'en rizière non inondée, et que des plantes cultivées sous ombrage ont une activité fixatrice réduite par rapport aux plantes témoins cultivées sous 30000 lux. En inoculant le système racinaire de jeunes plantules avec des bactéries fixatrices isolées à partir de la rhizosphère de riz de la même variété, il est possible de maintenir une croissance pendant 4 semaines dans un milieu totalement dépourvu d'azote combiné, les plantes témoins non inoculées ne pouvant pas se développer. L'activité fixatrice varie pour une variété suivant la microflore rhizosphérique associée, et pour un sol donné suivant la variété de riz, ce qui suggère le caractère génétique de la fixation rhizosphérique potentielle.

2.2.4. Organismes responsables de l'activité fixatrice non symbiotique.

Près de 50 espèces bactériennes appartenant à 12 familles

sont fixatrices d'azote moléculaire . On les trouve dans tous les milieux (sol, eaux) , leurs caractéristiques physiologiques sont très variées : GRAM négatives ou GRAM positives, aérobies stricts, microaérophiles, anaérobies stricts ou facultatifs , photosynthétiques ou hétérotrophes . On peut isoler ces bactéries à partir de racines fixatrices mais il est souvent difficile de les maintenir en culture pure, probablement en raison d'exigences nutritionnelles particulières .

Les microorganismes les plus fréquemment isolés sont des entérobactéries (Klebsiella, Enterobacter) . Ces espèces forment des capsules de polysaccharides et des composés extracellulaires qui peuvent favoriser l'établissement des conditions d'oxydo-réduction nécessaires à la fixation d'azote . L'évaluation de la densité des bactéries fixatrices dans la rhizosphère est délicate, leur croissance étant parfois difficile après les dilutions nécessaires au comptage . Il faut de plus les extraire quantitativement de la surface de la racine .

Une espèce décrite par BEIJERINCK , Spirillum lipoferum , a été particulièrement étudiée en raison de ses exigences nutritionnelles, les sucres n'étant pas utilisés . Le malate*, intermédiaire en C_4 de la photosynthèse, est un substrat privilégié pour cette bactérie, ce qui pourrait lui conférer un avantage au cas où le malate produit en excès par photosynthèse serait transporté dans la racine . Les cultures pures de Spirillum lipoferum ont une activité fixatrice importante, pouvant atteindre 40 mg d'azote combiné par g de malate consommé . (* $COOH\ CHOH\ CH_2\ COOH$)

On peut également penser que les bactéries sulfatoréductrices ont une grande importance dans la fixation d'azote par le riz, en raison de leur abondance au niveau de la rhizosphère de cette plante dans les sols inondés . En fait on ne connaît pas actuellement l'espèce microbienne (ou le groupe microbien) le plus actif au niveau de la rhizosphère, des études microbiologiques étant encore nécessaires avant d'envisager une action sur la microflore fixatrice dans un but agronomique .

Enfin des travaux récents laissent à penser que le facteur limitant la fixation non symbiotique ne serait pas la population microbienne au niveau de la rhizosphère de la plante cultivée, mais d'autres paramètres de son environnement (température de l'air et du sol, éclaircissement, déficit de saturation de l'air, etc.).

Il serait alors vain d'espérer un accroissement de la nutrition azotée de la plante en agissant sur le seul paramètre de la population fixatrice dans la rhizosphère .

3. MINERALISATION DE L'AZOTE ORGANIQUE

La plus grande partie du stock d'azote se trouve dans le sol sous forme organique, plus ou moins labile (voir figure 23) . Sous cette forme il n'est pas , pour l'essentiel, assimilable directement par les microorganismes ou les plantes .

Les constituants azotés des débris végétaux ou animaux , ou des microorganismes morts , sont décomposés par la microflore avec libération d'acides aminés et de bases azotées . Ces composés plus simples sont à leur tour attaqués par fermentation ou oxydation . La décomposition anaérobie (putréfaction) ne produit pas en général d'ammoniaque, mais des amines , qui sont ensuite oxydées avec production de CO_2 et d'ammoniaque . L'ammonification aérobie est le processus le plus important dans le sol .

3.1. Protéolyse

Les protéines sont des chaînes d'acides aminés constituées par un nombre plus ou moins grand de " résidus" , leur poids moléculaire varie de 10^3 à 10^6 daltons environ . L'hydrolyse par des exoenzymes microbiens provoque la coupure en tronçons plus courts (peptides) puis en acides aminés libres . Ceux-ci sont pour environ 4/5 utilisés par la microflore pour la synthèse des constituants cellulaires .

3.2. Ammonification

L'ammonification est une fonction banale de la microflore bactérienne et fongique, intervenant à des conditions très variées de pH , d'humidité ou de température . Par exemple, l'optimum de pH étant la neutralité, l'ammonification reste active entre pH 3,5 et 9,5 , donc dans une gamme de pH couvrant la majorité des sols . De même l'ammonification se produit aux très basses teneurs en eau ($pF > 4,9$) : dans les sols arides il peut en résulter une accumulation d'ammoniaque, la nitrification étant plus ralentie. Aux premières pluies se produit alors une intense nitrification, et une perte importante d'azote par lessivage .

Les bactéries ammonifiantes les plus connues se trouvent dans les genres Bacillus, Proteus, Micrococcus, Pseudomonas . Les champignons (Aspergillus) semblent jouer un rôle plus important dans les sols tropicaux acides . Les germes ammonifiants sont très abondants, ils peuvent former 20 % de la microflore totale du sol .

3.3. Putréfaction .

C'est un processus anaérobie dû à des bactéries sporulantes (Clostridium) qui se produit dans une masse compacte de matière organique . La putréfaction est moins importante dans le sol que l'ammonification des résidus végétaux , même s'il y a un apport de cadavres de petits animaux ceux-ci sont dispersés et mélangés avec des résidus végétaux donc subissent une ammonification . Le rapport C/N des substances qui peuvent se putréfier est plus faible que celui des résidus végétaux . Il se forme des composés malodorants : acides gras (acide butyrique) , mercaptans , indol . Une faible production d'acide indol-acétique par putréfaction peut avoir une influence sur la croissance des plantes, ce composé étant un facteur de croissance . Le stade ultime est encore l'eau, le CO₂ et l'ammoniaque .

3.4. Devenir de l'azote ammoniacal dans le sol .

L'azote ammoniacal non fixé produit par ammonification ou putréfaction est un composé intermédiaire dans le cycle de l'azote dans le sol (voir Figure 23) . Il a plusieurs destins possibles :

3.4.1. Assimilation . Nous avons vu qu'une partie de l'azote ammoniacal est consommé par la microflore pour ses synthèses : la forme ammoniacale est en effet préférée à la forme nitrique . Il en est de même pour les racines des plantes, qui absorbent davantage l'azote ammoniacal que nitrique . Cette différence est due en particulier au caractère électronégatif des cellules jeunes de la racine . Dans les sols acides au contraire , il semble que la forme nitrique soit absorbée plus facilement , les cellules portant une charge positive .

3.4.2. Lessivage et volatilisation . Les pertes sont généralement

faibles, l'ammonium libre étant rapidement fixé ou adsorbé .

3.4.3. Fixation par les argiles . L'ammonium peut être fixé à l'intérieur du réseau cristallin, il est alors inaccessible pour l'assimilation ou la nitrification . Au contraire, nous avons vu que l'ammonium adsorbé à la surface de l'argile est nitrifié plus activement que l'ammonium de la solution du sol .

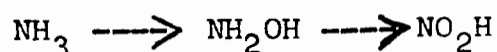
3.4.4. Immobilisation sous forme organique . L'ammonium peut être combiné sous forme organique dans les noyaux aromatiques précurseurs des substances humiques . L'azote ainsi fixé, par exemple sur la lignine, est beaucoup moins assimilable par les plantes ou les microorganismes . Cet effet est utilisé pour préparer certains types d'engrais retards (N lignine), l'azote étant progressivement libéré au rythme de la dégradation de la matière organique dans laquelle il est fixé .

4. NITRIFICATION

La nitrification, c'est-à-dire l'oxydation de l'ammonium en nitrate, est réalisée en 2 étapes par 2 groupes distincts de bactéries autotrophes . L'intervention des hétérotrophes , et en particulier des champignons, est certaine mais il est difficile d'établir leur rôle quantitatif dans le sol . Les bactéries nitrifiantes ont été étudiées depuis près d'un siècle par WINOGRADSKY , qui établit que les 2 types de bactéries nitrifiantes utilisent le CO_2 comme seule source de carbone et respectivement l'ammoniaque et le nitrite comme source d'énergie .

4.1. Oxydation de l'ammonium en nitrite .

La taxonomie des espèces oxydant l'ammonium est encore controversée, certains caractères morphologiques n'étant observables que dans des conditions particulières de culture . On distingue principalement les genres Nitrosomonas, Nitrocystis, Nitrosococcus et Nitrospira qui ont été isolés du sol comme des eaux douces et marines . De façon schématique, le premier intermédiaire de l'oxydation est l'hydroxylamine , qui est ensuite oxydée en nitrite sans qu'un composé intermédiaire avant le nitrite ait été mis en évidence de façon certaine :



4.2. Oxydation du nitrite en nitrate .

Le principal germe responsable est Nitrobacter , mais d'autres genres ont été également décrits (Nitrospira Nitrococcus) . Ces bactéries sont hétérotrophes facultatives, mais la croissance sur carbone organique est plus lente que sur CO_2 . On ne connaît donc que peu d'espèces de bactéries oxydant le nitrite dans le sol .

4.3. La nitrification dans le sol .

Les germes nitrifiants ne sont jamais très abondants dans le sol , ce qui est probablement dû à leur faible taux de croissance et à leur exigence pour des quantités importantes d'ammonium ou de nitrite comme source d'énergie . Ils sont alors peu compétitifs par rapport à la microflore hétérotrophe contingente qui bien que moins active peut jouer un certain rôle dans la nitrification dans le sol .

Les conditions optimales pour l'activité et la croissance des bactéries nitrifiantes sont aussi celles qui favorisent la croissance des plantes : bonne aération, pH voisin de la neutralité, apports d'azote : il a donc été envisagé d'utiliser comme indice de fertilité le nombre de bactéries nitrifiantes du sol . En culture pure, le pH optimum est voisin de 7 , mais la nitrification est encore active dans un sol à pH 5 , en raison de l'hétérogénéité du milieu : in situ , certaines microniches dans les agrégats peuvent avoir un pH plus élevé que le pH moyen mesuré sur la pâte . Aux pH alcalins, l'oxydation du nitrite est proportionnellement plus ralentie que l'oxydation de l'ammonium , ce qui peut entraîner une accumulation de nitrite très toxique pour les plantes .

Les bactéries nitrifiantes sont aérobies strictes, la nitrification se produit donc surtout dans les sols bien aérés . En rizière submergée, l'oxygène dégagé par photosynthèse des algues ou excrété dans la rhizosphère du riz permet une nitrification des engrais ammoniacaux, donc une perte éventuelle d'azote par lessivage ou dénitrification .

4.4. Devenir du nitrate dans le sol .

Comme pour l'ammonium, une fraction du nitrate produit par nitrification est réutilisée par la microflore pour ses synthèses

ou absorbé par les racines des plantes .

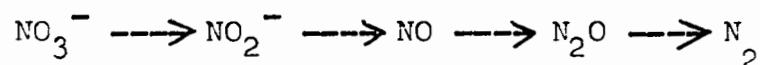
Mais l'azote sous forme nitrique est également exporté par deux autres processus . Le nitrate est facilement lessivé hors du sol, alors que l'ammonium est plus adsorbé sur les argiles donc retenu dans le sol . Egalement, si des conditions anaérobies succèdent aux conditions aérobies favorables à la nitrification, **et** dans certaines microniches anaérobies d'un sol bien aéré, la réduction du nitrate en azote gazeux par dénitrification provoque une perte d'azote nitrique . En conséquence, il a été envisagé de limiter ces pertes d'azote **en** inhibant la nitrification par des inhibiteurs spécifiques . Mais l'utilisation d'inhibiteurs dans le sol est souvent décevante, les composés efficaces étant plus ou moins rapidement dégradés par la microflore .

5. DENITRIFICATION .

Découverte à la fin du siècle dernier, la dénitrification est un processus respiratoire anaérobie . Le nitrate (ou d'autres composés oxygénés minéraux de l'azote) est utilisé comme accepteur final d'électrons pour l'oxydation de composés carbonés . Les composés oxygénés de l'azote étant réduits finalement en gaz (N_2O ou N_2), la dénitrification aboutit à une perte d'azote présent initialement sous forme nitrique ou apporté par les engrais . De très nombreux travaux ont été effectués pour mettre en évidence les étapes intermédiaires de la dénitrification et pour préciser l'influence de certains paramètres physico-chimiques sur le processus dans le sol .

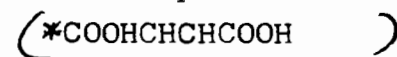
5.1. Etapes intermédiaires et germes responsables .

Les études enzymologiques sur plusieurs genres ont montré que le nitrate est réduit en azote en plusieurs étapes :



- Chez les bactéries anaérobies facultatives, la dénitrification est une voie respiratoire alternative , qui permet éventuellement en l'absence d'oxygène de transférer les électrons au nitrate (ou aux autres composés intermédiaires) . Cependant en présence d'oxygène

(et même si le nitrate est lui aussi présent) la respiration se fait uniquement au dépens de l'oxygène, les enzymes de la dénitrification étant réprimés par l'oxygène . Une dizaine de germes anaérobies strictes et fermentaires ont été décrits comme dénitrifiants facultatifs . Ces bactéries possèdent une nitrate réductase pour le transfert des électrons au nitrate si celui-ci est présent, l'accepteur principal étant le fumarate* pour la fermentation .



5.1.1. Réduction du nitrate . La réduction dissimilatrice du nitrate (par opposition à l'assimilation de ce composé) est une propriété commune à plus de 75 espèces de bactéries rencontrées dans divers groupes de la classification . La plupart de ces germes conduisent la réduction du nitrate jusqu'au stade de l'azote, mais pour d'autres on observe une accumulation de nitrite ou de N_2O , parfois en fonction des conditions de culture .

5.1.2. Réduction du nitrite, de l'oxyde nitrique ou de l'oxyde nitreux . Par la méthode des cultures d'enrichissement, on a pu isoler des espèces incapables de réduire le nitrate, mais réduisant le nitrite et/ou le NO et le N_2O en azote , ou ne réalisant que certaines de ces étapes intermédiaires . Il semble donc que certains microorganismes ne possèdent que quelques unes des enzymes de la dénitrification .

5.2 Dénitrification dans le sol .

L'ensemble des dénitrifiants présents dans le sol peut ainsi mener à son terme la réduction en azote du nitrate, certains groupes étant spécialisés dans une ou plusieurs étapes du processus . Le traitement par taxonomie numérique des résultats d'isolements de souches réduisant le nitrate dans les sols a permis de mieux se rendre compte de l'importance de certaines espèces parmi la grande variété des microorganismes susceptibles de participer au processus dans le sol .

Un groupe se rattachant à Pseudomonas fluorescens semble particulièrement abondant, mais on note également une variété de bactéries GRAM négatives mobiles . De nombreux dénitrifiants du groupe Alcaligenes autotrophes strictes ont été mis en évidence . Enfin dans la plupart des sols on trouve 4 fois plus de bactéries

réduisant le nitrate en nitrite que de dénitrifiants vrais (c'est-à-dire capables de réduire le nitrate en azote) . Une corrélation positive a été mise en évidence entre la température optimale de croissance des isolats dénitrifiants et la température moyenne de leur habitat .

L'activité dénitrifiante du sol dépend essentiellement des facteurs physico-chimiques, en particulier de la tension d'oxygène, du degré d'humidité et de la teneur en carbone organique . A pH 5,1 , la dénitrification ne se produit qu'en dessous de Eh 338 mV. Les sols submergés, tels que ceux des rizières, constituent donc un milieu particulièrement favorable . Les nitrates formés par nitrification des engrais ammoniacaux dans la zone en contact avec l'eau de submersion et qui reste oxydante par suite de la production d'oxygène par les algues diffusent en profondeur où ils peuvent être réduits par la microflore dénitrifiante . La succession submersion assèchement crée également des conditions favorables . La perte d'azote a été estimée entre 20 et 50 % de l'engrais ajouté .

La teneur en carbone organique détermine le taux maximum de dénitrification lorsque les composés oxygénés de l'azote ne sont pas limitants . Une corrélation positive entre l'activité potentielle et la teneur en matière organique a pu être mise en évidence . Le pH agit moins sur cette activité que sur l'accumulation des composés intermédiaires . Par exemple, le nitrite ne s'accumule pas en sol acide, où l'on note plutôt l'accumulation d'oxyde nitrique et d'oxyde nitreux . L'azote est le produit final majeur à la neutralité . Enfin la dénitrification est moins active dans les sols salés .

5.3. Effet rhizosphère sur la dénitrification .

Les études ont surtout porté sur le riz, dont les racines exsudent de l'oxygène et de nombreux composés carbonés . L'activité dénitrifiante est alors en relation quantitative avec l'exsudation racinaire , l'effet rhizosphère étant d'autant plus marqué que le sol est plus pauvre en matière organique . Il y aurait donc dans la rhizosphère du riz des zones anaérobies où l'activité dénitrifiante se manifesterait avec une plus grande intensité que dans le sol non planté .

On a cherché à réduire les pertes d'azote soit en inhibant la dénitrification (par des pesticides) soit en enfouissant l'engrais en profondeur : l'azote ammoniacal est alors moins nitrifié, et l'azote nitrique éventuellement produit peut être immobilisé sous forme organique sans être réduit en azote .

Cependant la microflore dénitrifiante de la rhizosphère peut avoir une action détoxifiante favorable pour le riz . Certains acides organiques toxiques produits par décomposition de la matière végétale peuvent être oxydés par respiration du nitrate même dans des conditions réductrices .

6. INTERACTIONS ENTRE NITRIFICATION, DENITRIFICATION ET FIXATION

Pour plus de clareté, nous avons séparé l'étude de ces trois processus , qui sont en fait couplés dans le sol par le jeu d'intermédiaires communs . La figure 24 A schématise les relations possibles entre nitrification, dénitrification et fixation d'azote , les lignes pointillé indiquant les passages de chaque intermédiaire d'un processus à l'autre .

Nous avons vu que, dans le cas de la nitrification et de la dénitrification les différents intermédiaires pouvaient s'accumuler suivant les conditions physico-chimiques . Le couplage est alors possible :

- soit successivement dans le temps (alternances submersion assèchement)
- soit par échange entre microniches situées de part et d'autre d'un interface aérobie-anaérobie . C'est le cas des sols de rizière, ou plus généralement des agrégats argilo-humiques . La figure 24 B représente le couplage possible dans un agrégat entre la partie externe aérobie et la partie interne anaérobie .

L'activité fixatrice d'azote ne se manifeste pas uniquement au niveau de la réduction d' N_2 en NH_3 , mais également par la réduction du N_2O en N_2 , le N_2O , intermédiaire de la dénitrification étant un substrat pour la nitrogénase .

Bien qu'il soit difficile de les mettre en évidence in situ, ces interactions jouent probablement un grand rôle dans l'équilibre entre les différents états d'oxydation de l'azote dans le sol .

CHAPITRE X

CYCLE DU PHOSPHORE DANS L'ECOSYSTEME SOL-PLANTE

1. GENERALITES .

Le phosphore est un élément majeur de la nutrition des plantes, et les microorganismes interviennent dans les processus de solubilisation, d'assimilation et d'immobilisation de cet élément . Sous un couvert végétal non exploité, et contrairement aux cycles du carbone et de l'azote, le cycle du phosphore dans l'écosystème sol-plante est un cycle fermé, les échanges avec l'atmosphère étant très réduits . L'étude de la distribution du phosphore dans un sol sous graminées a montré que les microorganismes contenaient au moins autant de phosphore que toute la végétation, et que seulement 1% du phosphore total de l'écosystème se trouvait dans la matière vivante .

2. FORMES DU PHOSPHORE DANS LE SOL .

Il est utile de distinguer le phosphore soluble, directement assimilable par les plantes ou les microorganismes, et le phosphore insoluble, non utilisable directement .

Le phosphore insoluble, qui représente entre 95 et 99 % du phosphore total, est fixé sous forme minérale principalement par le fer et l'aluminium en sol acide ou le calcium en sol alcalin . Entre 30 et 85 % du phosphore insoluble se trouve sous forme organique, à raison de 110 carbone pour 9 azote pour 1 phosphore . Les fractions plus facilement minéralisables (acides nucléiques, phospholipides) sont moins abondantes que les formes humiques .

Le pool de phosphore soluble comprend les phosphates de la solution du sol, en équilibre chimique rapide avec le phosphore échangeable, adsorbé sur l'argile . La capacité d'adsorption (ou d'échange) conditionne donc la concentration en phosphore de la solution , car l'équilibre chimique entre le phosphore échangeable et le phosphore insoluble est très lent .

Il semble acquis que l'assimilation par les plantes et les microorganismes se fasse uniquement ou principalement sous forme d'orthophosphate, et la concentration de cette forme dans la solution du sol (environ 10^{-6} M) est souvent voisine de la concentration minimale permettant l'assimilation (entre 10^{-5} M et

10^{-7} M suivant les plantes) . La concentration du phosphore dans la cellule (végétale ou microbienne) est plus de 1000 fois supérieure à la concentration dans la solution , et le phosphore exporté par une seule récolte correspond à plusieurs centaines de fois la totalité du phosphore en solution dans le sol exploré par les racines .

La croissance des plantes est donc largement conditionnée par les processus qui maintiennent une concentration suffisante au contact des racines . Enfin, la diffusion étant plus lente que l'assimilation, il se crée un gradient négatif de concentration vers la racine, dans la zone également exploitée par les microorganismes rhizosphériques qui entrent ainsi en compétition avec la plante .

3. SOLUBILISATION DU PHOSPHORE MINERAL .

3.1. Par les acides organiques .

C'est le processus de solubilisation le plus important . Les acides lactique, glycolique, oxalique ou citrique par exemple solubilisent le phosphate tricalcique, mais les acides de forme hydroxy ont un pouvoir solubilisant plus important en raison de l'effet chélateur sur le calcium qui s'ajoute à l'effet de l'acidité . Par exemple, à pH 4,4 , l'acide oxalique solubilise davantage de phosphore que l'acide gluconique .

De nombreux microorganismes du sol peuvent ainsi solubiliser les phosphates insolubles : la proportion de solubilisants est plus forte dans la rhizosphère (20 à 40 %) que dans le sol non planté (10 à 15 %) . En fait l'action des microorganismes n'est profitable pour la plante que dans le sol rhizosphérique, car la diffusion est lente . Les acides organiques produits par la microflore hétérotrophe peuvent être adsorbés sur l'argile aux mêmes sites d'adsorption que le phosphore , ce qui contribue à augmenter la proportion de phosphate en solution . Une action identique est possible pour les acides organiques excrétés par la racine .

3.2. par les acides minéraux .

Les bactéries chimiolithotrophes produisent des acides

(acide nitrique, sulfurique) qui déplacent les ions phosphates des sels insolubles . Dans le procédé LIPMAN de fertilisation, l'acide sulfurique produit par oxydation du soufre élémentaire par les thiobacilles permet la solubilisation du phosphate tricalcique . Ce procédé est cependant peu utilisé car moins économique que les engrais habituels .

3.3. Par le CO₂ .

Bien qu'acide faible, le CO₂ produit par respiration microbienne ou racinaire est parfois en forte concentration dans l'atmosphère du sol (plus de 1000 fois la concentration dans l'air) . L'abaissement de pH qui en résulte peut augmenter la solubilisation des phosphates .

3.4. Par l'hydrogène sulfuré .

En sol submergé, la réduction dissimilatrice des sulfates par les bactéries sulfato-réductrices produit des ions S⁻ qui peuvent réagir avec le fer des phosphates de fer, en libérant de l'acide phosphorique . On constate en effet que dans ces sols le % de phosphore soluble par rapport au phosphore total est important .

4. MINERALISATION DU PHOSPHORE ORGANIQUE .

De nombreuses bactéries hétérotrophes et champignons sont capables de minéraliser le phosphore sous forme de phosphate pour leurs synthèses et d'en libérer dans le sol . Près de 50 % de la microflore totale du sol produit des phosphatases (glycerophosphatase, lecithinase, phytase, ribonucléase et desoxyribonucléase) . Cependant dans le sol les composés organiques phosphorés (phytine par exemple) sont adsorbés sur les argiles et sont alors inaccessibles à ces enzymes , qui peuvent d'ailleurs elles-mêmes être inactivées par adsorption sur le complexe argileux .

Il semble que pour la nutrition de la plante l'action des phosphatases racinaires soit plus importante que celle des enzymes d'origine microbienne : l'inoculation des racines par des microorganismes actifs n'augmente pas l'activité phosphatase du système sol-plante . La minéralisation par les microorganismes intervient donc de façon générale dans le sol, mais ne profite pas ou peu à la nutrition des plantes .

5. IMMOBILISATION SOUS FORME ORGANIQUE

Nous avons vu que dans l'écosystème sol-plante la microflore totale contient au moins autant de phosphore que la végétation. Le phosphore ainsi immobilisé est évidemment libéré et minéralisé à la mort de la cellule microbienne, mais il peut être recyclé par d'autres microorganismes sans profit pour les plantes. La concentration de phosphore dans la matière organique qui se décompose influe sur l'équilibre entre le recyclage par d'autres microorganismes (immobilisation sous forme organique) et la libération sous forme minérale accessible aux plantes (minéralisation) qui ne se produit que si la concentration en phosphore dépasse 0,2 %. Dans un sol sous forêt on constate par exemple que l'activité microbienne maintient le pool de phosphore soluble à un niveau très bas .

6. OXYDATION ET REDUCTION DU PHOSPHORE

L'orthophosphate est la forme la plus oxydée du phosphore minéral . Certaines bactéries (Clostridium butyricum) peuvent réduire le phosphate (valence +5) en phosphite (valence +3) qui est lui-même assimilé et réoxydé en phosphate par d'autres hétérotrophes . Contrairement au cycle de l'azote, ces changements d'état d'oxydo-réduction dus à l'action des microorganismes ont peu d'importance dans le cycle du phosphore dans le sol .

7. ROLE DES MYCORRHIZES DANS L'ASSIMILATION DU PHOSPHORE PAR LA PLANTE .

Nous avons vu au chapitre VII que les champignons, organismes symbiotiques colonisant les racines, utilisent les substrats organiques synthétisés par la plante en étendant leurs hyphes dans le sol avoisinant . On constate que les plantes mycorrhizées ont une meilleure nutrition phosphorée que les plantes témoins non infectées.

7.1. Mycorrhizes ectotrophes des arbres .

Leur rôle dans le cycle du phosphore est vital . L'inoculation des graines par des champignons mycorrhiziens est une pratique culturale qui peut remplacer l'apport d'engrais phosphorés , par

exemple dans le cas du Citrus . Dans le cas du pin, le succès de l'introduction dans des sols sableux qui n'ont jamais été plantés peut dépendre de l'inoculation , on montre alors que c'est la nutrition phosphorée qui est le plus améliorée par la présence des mycorrhizes (+ 200 % par rapport au témoin) après le potassium (+ 120 %) et l'azote (+ 85 %) . La réponse au phosphate de plants de Pinus radiata cultivés en sol déficient en phosphore est augmentée par l'inoculation par Boletus granulatus , champignon mycorrhizien ectotrophe de l'arbre .

L'influence des mycorrhizes sur la nutrition peut être expliquée par les modifications morphologiques de la racine induites par le champignon : augmentation du diamètre de la racine et du nombre de branchements . Mais l'action directe des hyphes fongiques a été démontrée pour le phosphore : le phosphate marqué par P^{32} absorbé par l'hyphe dans une zone non colonisée par la racine est transporté vers la racine et transmis à la plante .

Enfin la mise en évidence d'une importante activité phosphatase dans les mycorrhizes indique que l'association symbiotique augmente également la minéralisation du phosphore organique dans le sol .

7.2 Endomycorrhizes .

Les endogonés , champignons mycorrhiziens, infectent les racines de la plupart des plantes, y compris les graminées et les légumineuses cultivées . Dans les sols pauvres en phosphate, l'inoculation augmente l'assimilation du phosphore par la plante . Contrairement aux premières hypothèses, cette augmentation ne provient pas de l'utilisation par la plante mycorrhizée de formes non assimilables par la plante non infectée, mais de l'augmentation du volume exploré par le système plante-champignon . On a montré que les hyphes mycorrhiziens pouvaient transporter le phosphore marqué sur plus de 15 mm jusqu'à l'intérieur de la racine . Le système racinaire a alors accès à une zone moins dépourvue en phosphore soluble que la rhizosphère proche .

Enfin on observe que les plantes dont les racines sont particulièrement pauvres en poils absorbants (oignon, citrus) ont la plus forte réponse à l'inoculation par des mycorrhizes endogonées .

CHAPITRE XI

TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU SOUFRE DANS
L'ECOSYSTEME SOL-PLANTE

1. GENERALITES .

Le soufre existe dans la biosphère sous plusieurs états d'oxydation, depuis le soufre hexavalent oxydé +6 (dans H_2SO_4 et ses dérivés) jusqu'au soufre réduit -2 (dans H_2S et ses dérivés) . On estime que la croûte terrestre en contient en moyenne 0.06 % , mais la distribution du soufre dans le sol est très variable, sa concentration pouvant varier de 0 % à 1 % dans certains sol formés sur alluvions fluviomarines (mangroves) . Le soufre est principalement présent dans les sols sous forme organique (acides aminés, polysaccharides soufrés, ester sulfates) , une faible fraction seulement étant sous forme minérale (sulfate, soufre élémentaire ou sulfure) .

Dans les organismes vivants le soufre est présent sous forme réduite dans des composés organiques essentiels tels que les protéines (cystéine, méthionine), les coenzymes (coenzyme A , acide lipoyique , biotine , thiamine) ou certains métabolites (par exemple le glutathion , $C_{10}H_{16}N_3O_6SH$, glutamylcystéinylglycine Il se trouve également sous forme oxydée (ester sulfates) dans des composés ayant un rôle structural important : polysaccharides - sulfates des parois cellulaires des algues par exemple .

L'ensemble des processus métaboliques par lesquels ces différentes formes peuvent être interconverties constitue le cycle biologique du soufre , dont nous étudierons les aspects les plus importants dans le système sol-plante . Ces transformations biologiques interviennent dans le cadre plus large du cycle global du soufre dans la biosphère .

L'importance relative des flux de l'élément soufre dans le cycle global et le cycle biologique est conditionné par

- l'état chimique des intermédiaires , c'est-à-dire la valence du soufre dans les différents composés
- l'état physique des différents composés , qui détermine leur distribution entre phase solide, liquide et gazeuse .

On remarque alors que si le cycle biologique du soufre ressemble à celui de l'azote (figure 26), une différence importante

est le caractère autooxydable de la forme réduite S^{2-} en présence d'ions métalliques, surtout en conditions acides. Du point de vue physique, tous les composés gazeux du cycle du soufre sont très solubles, ce qui limite leur concentration dans la phase gazeuse : comme dans le cas du phosphore, les organismes vivants utilisent principalement le soufre à l'état dissous. Il n'en est pas de même pour les autres éléments majeurs (oxygène, carbone, azote) pour lesquels des composés gazeux peu solubles sont disponibles dans l'atmosphère pour les synthèses des organismes vivants.

Enfin, comme pour les autres éléments, le microbiologiste du sol ne doit pas limiter son étude aux mécanismes des transformations microbiennes du soufre dans le sol, mais également considérer l'équilibre entre les différents processus. Suivant les conditions du milieu, certains intermédiaires du cycle peuvent s'accumuler, dans le cas particulier du soufre un déséquilibre peut avoir des conséquences importantes sur l'écosystème sol-plante.

2 . LE CYCLE GLOBAL DU SOUFRE DANS LA BIOSPHERE .

Une étude récente réalisée dans le cadre des projets SCOPE et UNEP (Ecological bulletins N° 22 , Ed. T. Rosswall, 1975) a permis d'évaluer l'importance des différents flux de soufre entre les roches, les sols et les eaux continentales et marines. Les transferts sont estimés dans la figure 27 en $T g an^{-1}$ (c'est-à-dire en tonnes. 10^6 par an) . Pour chaque flux est indiqué ce qui est imputable à l'activité humaine, principalement industrielle. On constate que plusieurs de ces transferts ont été largement augmentés par l'activité humaine, cette augmentation correspondant aussi à une augmentation sensible de la concentration du soufre dans l'atmosphère.

Le rapport SCOPE indique d'ailleurs que les hauts rendements agricoles obtenus dans les régions industrielles à agriculture intensive sont probablement dus aux retours au sol (qui ont augmenté de 240 % depuis l'ère industrielle) du soufre émis par l'industrie. Une diminution de ces émissions pourrait entraîner une carence en soufre dans ces systèmes d'agriculture intensive.

La balance du cycle global dans la pédosphère n'est possible que par le retour au sol de composés volatiles réduits formés dans les zones océaniques, marines ou estuariennes. En raison de la solubilité de ces composés, seule une faible partie de cette production (estimée à $840 T g an^{-1}$ pour les seules zones d'estuaires) retourne

à l'atmosphère puis au sol, mais cette production d'origine microbienne est indispensable pour équilibrer le cycle global . En zone d'estuaire où les ions sulfate sont présents (2,7 g de $\text{SO}_4^{=}$ par litre d'eau de mer) le facteur limitant la production de sulfure est l'apport de matière organique facilement décomposable . La pollution organique des zones d'estuaires due à l'activité humaine peut avoir augmenté cette production de façon sensible .

Certains mécanismes du cycle biologique qui fait l'objet de cet exposé ont par conséquent une grande importance dans la balance du cycle global de l'élément dans la biosphère .

3. ASSIMILATION DU SULFATE .

Les animaux peuvent trouver dans leur alimentation des composés réduits du soufre pour satisfaire leurs besoins en soufre hexavalent, car ils ont la possibilité d'oxyder les thiols organiques tels que la cystéine , en sulfate . Cependant ils sont incapables de réduire en thiols les sulfates, et généralement également incapables de synthétiser le squelette carboné de la méthionine . Ils dépendent donc d'un apport de soufre sous forme réduite pour leur croissance . Cet apport est obtenu par l'injection d'autres animaux et donc finalement des plantes et microorganismes qui sont seuls capables de réduire le sulfate en sulfure et d'incorporer le soufre ainsi réduit dans des composés organiques . La synthèse des thiols à partir du sulfate , c'est-à-dire l'assimilation du sulfate, est régulée dans les plantes et les microorganismes de telle sorte que ni le sulfure ni les thiols ne sont produits en excès et libérés dans le milieu .

Le soufre alors combiné sous forme organique sera ensuite libéré à la mort de la cellule avant d'être repris dans le cycle biologique .

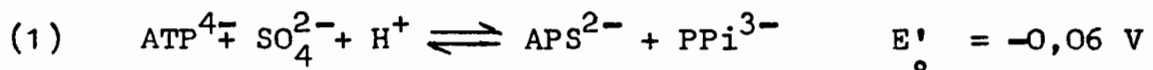
3.1. Incorporation du sulfate dans la cellule .

A en juger par les carences en soufre parfois observées chez les plantes, il semble que les formes organiques qui prédominent dans le sol ne soient pas directement utilisables par les végétaux . Le soufre présent sous ces formes organiques doit donc être préalablement converti en sulfate ou en composés simples comme la cystéine ou la méthionine .

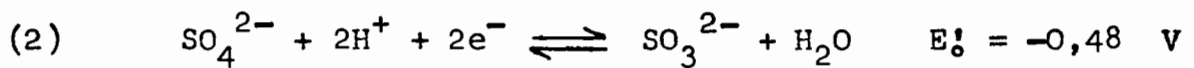
Dans le cas des microorganismes, l'absorption active du sulfate a été démontrée pour les bactéries, les algues et les champignons . Ces systèmes de transport actif du sulfate de la solution vers l'intérieur de la cellule sont sensibles à la température et fortement inhibés par le thiosulfate et le sulfite , et en général par tout composé de forme $X O_4^{2-}$ comme par exemple $Cr O_4^{2-}$. Bien qu'aucune étude n'ait été faite sur cette question, on peut donc concevoir qu'il existe dans la rhizosphère une compétition pour la nutrition en sulfate entre la plante et la microflore , responsable de certaines carences .

3.2. Mécanismes enzymatiques de l'assimilation du sulfate

3.2.1. Activation par l'ATP : l'étape initiale commune aux plantes et aux microorganismes est la réaction avec l'ATP , catalysée par l'ATP sulfurylase :



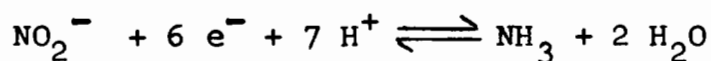
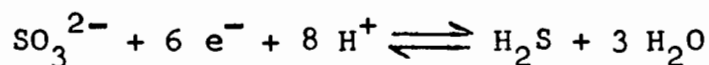
L'importance de cette première étape réside dans le fait que les agents réducteurs physiologiques (par exemple le NADPH , $E'_0 = -0,32 \text{ V}$) sont trop électropositifs pour réduire le sulfate lui-même ,



3.2.2. Réduction de l'APS : le devenir de l'APS ainsi formé est variable suivant les organismes . La partie sulfonate peut être transférée à un transporteur physiologique puis réduite en sulfite chez les algues et les végétaux . Chez les bactéries, l'APS réagit avec une autre molécule d'ATP pour former la phosphoadénosine phosphosulfate (PAPS) qui peut alors être réduite en sulfite par les réducteurs physiologiques (NADPH) . De nombreux thiols peuvent également servir de donateurs d'électrons pour la réduction du PAPS en sulfite .

3.2.3. Réduction du sulfite : chez tous les organismes assimilant le sulfate, la réduction du sulfite en sulfure qui met en jeu 6 électrons est catalysée par des sulfite réductases en présence de donateurs d'électrons convenables sans formation de composé intermédiaire .

Il est intéressant de noter que toutes ces sulfite réductase assimilatrices peuvent aussi catalyser la réduction du nitrite en ammonium, ce qui correspond également à un transfert de 6 électrons :



bien que ces activités soient physiologiquement distinctes in vivo .

4. INCORPORATION DU SOUFRE ORGANIQUE DANS LA FRACTION ORGANIQUE DU SOL .

Quand les résidus des plantes, des animaux ou des microorganismes morts retournent au sol et sont dégradés par la microflore, une partie seulement du soufre organique de ces résidus est minéralisée jusqu'au stade sulfure ou sulfate (voir plus loin § 5) , la plus grande partie restant sous forme organique soit en tant que fraction libre soit combinée à l'humus .

La concentration du soufre organique libre dans le sol est généralement faible : on ne trouve dans le sol non planté que très peu d'acides aminés soufrés , parfois légèrement plus dans le sol rhizosphérique . Cette différence semble due à l'excrétion par les racines : on sait en effet que les exsudats racinaires contiennent des sucres, des acides aliphatiques et des acides aminés (pour le riz, on a mesuré une excrétion de $0,1 \mu\text{g}$ de cystéine $\text{jour}^{-1} \text{plante}^{-1}$). Mais ces composés organiques soufrés simples sont rapidement minéralisés par les microorganismes du sol (voir § 5) et ne s'y accumulent pas .

On retrouve au contraire une importante fraction du soufre des résidus sous forme de sulfates organiques, tels que phénol sulfate, choline sulfate, ester sulfates de carbohydrates ou de lipides. Une autre fraction semble être directement liée au carbone : dans un sol canadien on trouve 58 % du soufre total sous forme de liaison C-S qui se forment surtout par réaction entre les quinones et les thiols . Les composés phénoliques qui sont synthétisés par les microorganismes lors de la décomposition de la lignine sont oxydés en quinones qui réagissent avec les amines pour former des complexes colorés en brun .

Les thiols réagissent également avec les sucres réducteurs en donnant les liaisons C-S .

La stabilité du soufre organique lié au carbone dans les substances humiques à haut poids moléculaire est alors beaucoup plus grande que celle des composés soufrés simples .

5. MINERALISATION DU SOUFRE ORGANIQUE .

La conversion du soufre organique en soufre minéral est réalisée par les microorganismes du sol, qui utilisent une fraction du sulfure ou du sulfate produit pour leurs synthèses (voir § 3) , le reste étant utilisable par les plantes . Les mécanismes du processus de minéralisation ne sont pas clairement élucidés, mais il semble que de nombreux microorganismes interviennent dans la chaîne des réaction . Les produits finaux diffèrent suivant les conditions du sol , en particulier les conditions d'oxydo-réduction (sol exsodé ou sol submergé) .

Par exemple en sol exsodé on a pu reconnaître à partir de la cystéine les étapes suivantes :

cystéine → cystine → cystine disulfoxide → acide cystéine sulfinique
→ acide cystéique → sulfate

En sol submergé la décomposition de la méthionine produit principalement des composés volatiles, tels que H_2S , méthylmercaptan ($CH_3 SH$) et diméthylsulfure ($(CH_3)_2 S$) .

Plusieurs facteurs influent sur la libération dans le sol des composés minéraux à partir du soufre organique . En particulier, la richesse relative en soufre de la matière organique semble être importante : si le rapport C/S est inférieur à 200 , le sulfate est libéré dans le sol , si ce rapport est supérieur à 400 il n'y a pas de libération de sulfate .

Cette rétention du soufre minéral est également mise en évidence en comparant les rapports N/S dans les résidus avant l'incubation et dans les formes minérales de l'azote et du soufre après l'action des microorganismes : ces rapports sont en général très différents .

On montre également un effet rhizosphère positif sur la minéralisation du soufre organique, mais cet effet n'est pas spécifique et résulte de l'augmentation générale de l'activité microbienne au contact des racines . Comme pour les autres activités biologiques dans le sol, la minéralisation du soufre est influencée par la température et l'humidité .

6. RESPIRATION ANAEROBIE DU SULFATE ET DU SOUFRE ELEMENTAIRE .

6.1. Réduction dissimilatrice du sulfate (sulfatoréduction)

Les bactéries sulfatoréductrices se distinguent de tous les autres organismes vivants par leur capacité à utiliser les composés minéraux du soufre comme accepteurs d'électrons pour l'oxydation des composés carbonés .Le sulfate ou le soufre élémentaire sont alors réduits en sulfure, dont la plus grande part est excrétée dans le milieu extérieur . Cette respiration du sulfate ou du soufre élémentaire est particulièrement active dans les biotopes riches en matière organique, tels que le fond des mares, étangs, cours d'eau , dans les sédiments fluvio-marins , les zones d'estuaire . On estime qu'environ la moitié de la matière organique décomposée dans ces biotopes est oxydée anaérobiquement par sulfatoréduction, avec une forte production de sulfure .

Jusqu'au travaux très récents (1978) de l'équipe du Pr. PFENNIG , on ne connaissait que 2 genres de bactéries sulfatoréductrices, Desulfowibrio et Desulfotomaculum , qui ont fait l'objet de nombreuses études physiologiques et biochimiques (Pr. SENEZ, Dr. LE GALL) . Ce sont des bactéries en forme de virgule, le genre Desulfotomaculum étant sporulé , qui ne peuvent utiliser que quelques composés carbonés en C_3 (lactate , CH_3CH_2COOH pyruvate , $CH_3COCOOH$) ou l'hydrogène moléculaire comme donateurs d'électrons . Quelques souches peuvent également se développer sans sulfate, les électrons provenant du pyruvate ou du fumarate ($COOHCH:CHCOOH$) étant utilisés pour réduire les ions H^+ avec formation d'hydrogène moléculaire . Dans tous les cas l'oxydation de ces composés s'arrête à l'acétate (CH_3COOH) qui n'est pas dégradé .

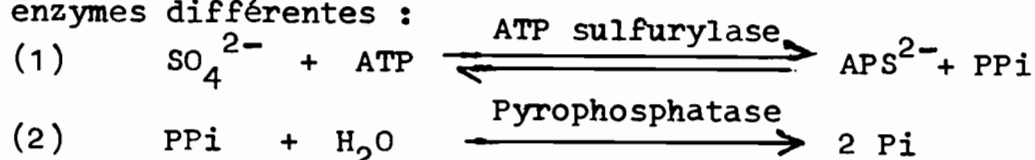
Cette limitation du nombre de substrats utilisables par les 2 genres connus de bactéries sulfatoréductrices et leur incapacité à oxyder l'acétate jusqu'au CO_2 conduisait les microbiologistes à formuler des hypothèses variées quant aux associations nécessaires entre la respiration du sulfate et d'autres processus de dégradation de la matière organique dans les biotopes réducteurs . Une des hypothèses les plus récentes associait la cellulolyse anaérobie produisant des composés en C_3 ou C_4 ; les bactéries sulfatoréductrices utilisant ces composés pour former l'acétate ; les bactéries sulforéductrices (voir § 6.2) oxydant anaérobiquement l'acétate en CO_2 , et les bactéries méthanigènes réduisant le CO_2 en CH_4 .

La découverte toute récente de plusieurs nouveaux genres de bactéries sulfatoréductrices par WIDDEL (équipe du Pr. PFENNIG) bouleverse les connaissances établies : il existe en fait une grande variété de bactéries respirant le sulfate, qui peuvent oxyder anaérobiquement tous les acides organiques depuis C_1 (acide formique) jusqu'à C_{14} (acide myristique) inclus . Certains genres peuvent également oxyder des composés cycliques (benzoate) . Bien que l'étude de ces nouveaux genres commence à peine, il est maintenant évident que la respiration du sulfate et un processus métabolique permettant la dégradation d'un grand nombre de composés carbonés jusqu'au stade final du CO_2 .

De plus, la diversité des formes (cocci, batonnets plus ou moins allongés , bactéries filamenteuses) indique que ces bactéries sulfatoréductrices n'ont pas de parenté phylogénique étroite, la réduction dissimilatrice du sulfate étant, comme la réduction des composés oxygénés de l'azote, partagée par des genres bactériens très éloignés les uns des autres .

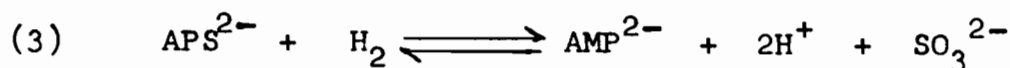
Les mécanismes enzymatiques de la réduction dissimilatrice du sulfate ont été étudiés principalement par l'équipe du Dr. LEGALL .

6.1.1. Activation du sulfate . Cette première étape implique deux enzymes différentes :

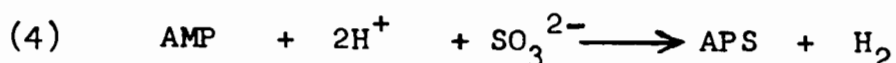


La réduction du sulfate dépend donc de l'action de la pyrophosphatase qui permet la formation d'APS dans la réaction 1 .

6.1.2. Réduction de l'APS . La réduction de l'APS en SO_3^{2-} est ensuite réalisée par l'APS réductase, l'hydrogène étant utilisé comme donateur d'électron :

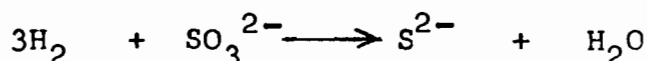


Comme le potentiel du couple redox APS/SO_3^{2-} , AMP est de $-0,06$ V, l'APS réductase peut également fonctionner in vitro en formant de l'APS à partir de sulfite et d'AMP , en présence d'un accepteur d'électrons de potentiel plus électropositif (par exemple le ferricyanure ou l'oxygène) :

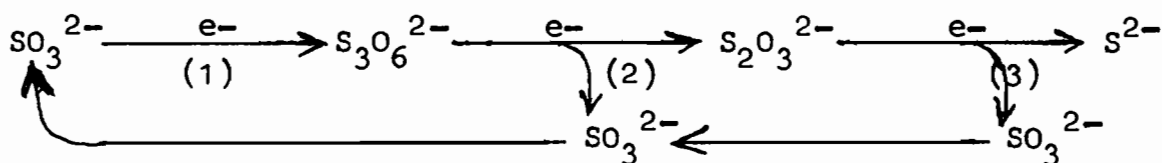


c'est le rôle physiologique de l'APS réductase dans les bactéries sulfoxydantes que nous étudierons plus loin (voir § 7) .

6.1.3. Réduction du sulfite en sulfure . Si la réduction dissimilatrice était identique à la réduction assimilatrice (§ 3) :



on devrait toujours trouver un rapport de 3 entre l'hydrogène oxydé et le sulfite réduit . En fait il n'en est rien, ce rapport varie au cours des étapes de la purification enzymatique . On se trouve en fait en présence d'un processus complexe comportant plusieurs étapes . Les études récentes ont montré que la réduction dissimilatrice du sulfite en sulfure se fait suivant la chaîne de réactions :



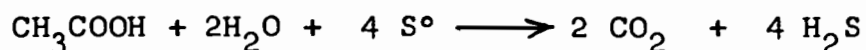
Il faut donc 3 protéines différentes pour parvenir à l'hydrogène sulfuré : - une sulfite réductase (ou trithionate synthase)
- une trithionate réductase
- une thiosulfate réductase

La respiration du sulfate nécessite donc un minimum de 6 protéines , alors que chez les eucaryotes par exemple la respiration de l'oxygène se fait à l'aide d'une seule, la cytochrome oxydase . L'explication de cette complexité se trouve dans le système énergétique particulière à ces microorganismes: l'activation du sulfate en APS consommant un ATP , ils ne peuvent se développer sur le lactate (qui ne fournit qu'un seul ATP lors de son oxydation) qu'à la condition que de l'ATP soit aussi formé au cours du transfert des électrons par la chaîne respiratoire. Seule l'étape de réduction du trithionate en thiosulfate est susceptible de fournir un saut énergétique suffisant pour former de l'ATP .

6.2. Réduction dissimilatrice du soufre élémentaire .

Au cours d'un travail récent (PFENNIG , 1976) , l'existence d'un nouveau genre bactérien , Desulfuromonas , capable de respirer le soufre élémentaire, a été mise en évidence à partir d'échan-

tillons de boues riches en sulfures . Ces bactéries en forme de petit bâtonnet à flagelle latéral sont capables d'utiliser l'acétate comme seule source de carbone et d'énergie, les électrons étant transférés au soufre élémentaire avec formation de sulfure :



Les voies métaboliques de cette respiration d'un nouveau genre ne sont pas encore élucidées, mais cette découverte vient confirmer l'hypothèse de VAN NIEL (1932) qui postulait l'équivalence de H_2O et H_2S en tant que donateurs d'électrons dans la photoassimilation du CO_2 par les algues et les bactéries vertes du soufre (voir plus loin § 7) . Cette équivalence entre l'eau et le sulfure, l'oxygène et le soufre s'applique également aux systèmes transporteurs d'électrons générateurs d'énergie : respiration aérobie de l'oxygène produisant de l'eau, respiration anaérobie du soufre produisant du sulfure (voir figure 28) . Dans le grand cycle de matière de la biosphère aérobie, la respiration utilisant l'oxygène est associée à la formation d'oxygène par la photosynthèse utilisant l'énergie solaire ; de la même façon dans le petit cycle de la matière intervenant dans les niches écologiques anaérobies exposées à la lumière, la respiration du soufre élémentaire est associée à sa formation par la photosynthèse des bactéries vertes sulfureuses .

Suivant l'hypothèse de PECK (1967) , ce cycle anaérobie associant les bactéries sulfo et sulfato réductrices et les bactéries vertes du soufre est l'image des formes primitives de la respiration et de la photosynthèse qui existait sous l'atmosphère primitive réductrice, avant l'émergence de la photodissociation de l'eau qui entraîna l'augmentation de la concentration de l'oxygène atmosphérique . La datation des dépôts de soufre par le rapport des isotopes $\text{S}^{32} / \text{S}^{34}$ (un enrichissement en S^{34} est dû à l'activité microbienne, cet enrichissement progressif est proportionnel à l'âge du dépôt) indique que le processus de sulfatoréduction est vieux de plus de 3,5 milliards d'années, ce qui est très proche de l'apparition des premiers êtres vivants et en tout cas bien antérieur à l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère (qui date de 2 milliards d'années) . La comparaison de la séquence des acides aminés dans certains pigments bactériens (cytochromes, ferredoxines) permet en fait de supposer que les bactéries vertes sulfureuses sont encore plus anciennes que les bactéries sulfatoréductrices .

7. OXYDATION DES COMPOSES INORGANIQUES DU SOUFRE

La plus grande partie du sulfure produit dans la biosphère est rapidement oxydée en sulfate, mais une certaine quantité peut également être bloquée sous forme de sulfures insolubles ou de soufre élémentaire pendant de longues périodes. Le soufre élémentaire se forme soit par oxydation chimique spontanée de H_2S à l'air soit par oxydation microbienne. L'oxydation microbienne est principalement due, dans les biotopes banaux pauvres en soufre, à l'action contingente de la microflore hétérotrophe. On sait en effet que de nombreuses bactéries peuvent oxyder les composés inorganiques du soufre sans en tirer de l'énergie, cette oxydation contingente correspondant probablement à un processus de détoxification. Les processus métaboliques mis en jeu demeurent inconnus, de même que l'importance quantitative du phénomène dans les sols.

Par contre dans les biotopes riches en soufre (que nous avons énumérés au § 6 pour les bactéries sulfato réductrices) l'oxydation des composés du soufre est principalement due à une microflore spécialisée, les bactéries du soufre, dont on distingue 2 grands groupes tous deux généralement autotrophes (c'est-à-dire utilisant le CO_2 comme source de carbone) .

- les bactéries chimiotrophes incolores, aérobies strictes ou dénitrifiantes facultatives. Elles utilisent le transfert des électrons depuis les composés soufrés jusqu'à l'oxygène (ou le nitrate pour les espèces dénitrifiantes) comme source d'énergie.

- les bactéries photosynthétiques rouges ou vertes, utilisant la lumière pour oxyder les composés du soufre uniquement en anaérobiose.

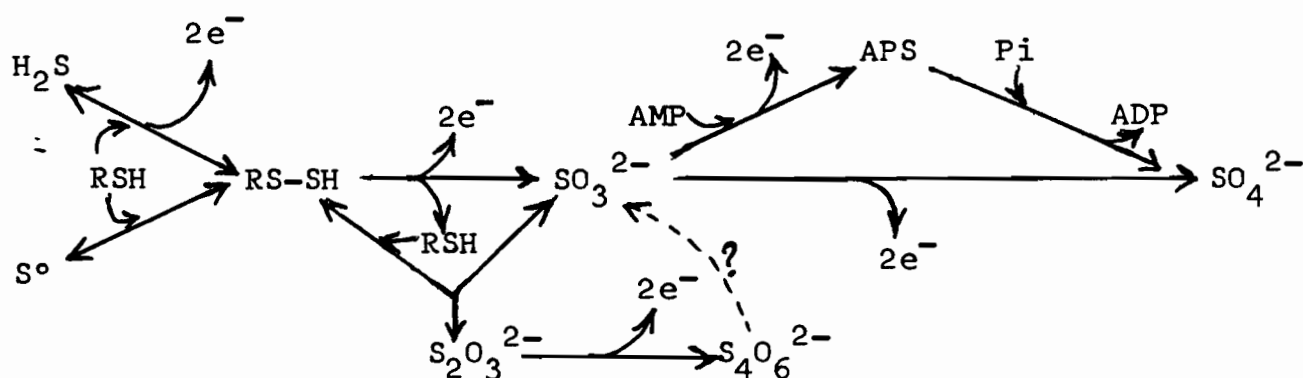
Ces deux groupes sont présents dans une grande variété d'habitats terrestres et aquatiques, mais ils sont surtout abondants dans les biotopes riches en soufre où le flux des composés réduits est plus important.

7.1. Oxydation par les bactéries chimiotrophes incolores.

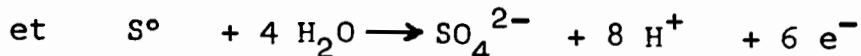
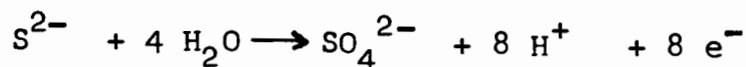
7.1.1. Thiobactéries. A une seule exception près, toutes les espèces décrites sont chimiotrophes strictes, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent tirer leur énergie que de l'oxydation des formes minérales du soufre. La plupart sont également autotrophes strictes, mais certaines espèces peuvent utiliser des composés organiques comme

source de carbone (mais pas d'énergie) .

Le métabolisme du soufre par les thiobacilles a fait l'objet de très nombreuses études mais n'est pas clairement élucidé. La chimie du soufre est en effet complexe, et de nombreux composés intermédiaires peuvent réagir chimiquement entre eux . Par exemple, l'oxydation du thiosulfate peut s'accompagner de la formation de soufre élémentaire dans le milieu, mais le soufre élémentaire n'est pas obligatoirement un intermédiaire physiologique normal dans cette oxydation . Il n'est d'ailleurs jamais accumulé à l'intérieur des cellules, contrairement aux bactéries filamenteuses du soufre (voir plus loin § 7.1.2.) . Le schéma proposé par SIEGEL (1975) résume les connaissances récentes sur le métabolisme du soufre par les thiobacilles :



dans ce schéma RSH représente un thiol lié à une particule qui peut être remplacé in vitro par le glutathion ($C_{10}H_{16}N_3O_6SH$) . Le bilan de l'oxydation du sulfure ou du soufre s'établit ainsi :



on voit donc que l'oxydation des composés du soufre s'accompagne d'une production d'ions H^+ , donc d'une acidification du milieu dont les conséquences peuvent être importantes dans le biotope (voir plus loin § 8) .

Le pH optimum de croissance varie suivant les souches aérobies de pH 6.8 à pH 5, mais certaines espèces (Thiobacillus thiooxidans) peuvent encore se développer à un pH très acide (environ une solution normale d'acide sulfurique, soit pH 0,85). L'oxydation anaérobie par l'espèce dénitrifiante facultative Thiobacillus denitrificans ne s'accompagne pas de cette baisse de pH, les OH^- produits par la réduction du NO_3^{2-} en N_2 compensant l'acidification due à la sulfoxydation .

7.1.2. Oxydation par les bactéries filamenteuses . Ce sont des bactéries aérobies strictes que l'on trouve dans les cours d'eau, lacs ou eaux marines proches d'une source continue de sulfure (soit d'origine géologique, soit d'origine biologique) . Elles forment alors un revêtement caractéristique sur les surfaces immergées . Les filaments contiennent des réserves de soufre sous forme de granules de soufre élémentaire, ces granules disparaissent si les cellules sont maintenues dans un milieu dépourvu de sulfure . Ces bactéries ont été étudiées en détail par WINOGRADSKY , elles ont conduit cet auteur à énoncer le concept de chimiotrophie, c'est-à-dire de la possibilité pour certains organismes d'utiliser l'oxydation de composés minéraux comme source d'énergie . Nos connaissances n'ont pratiquement pas progressé depuis . Il semble que H_2S soit le seul composé soufré utilisable, comme il est autooxydable en présence d'air qui est également nécessaire à la bactérie, il est très difficile de reproduire in vitro un milieu de culture convenable . Les études ont donc surtout porté sur l'écologie de Thiothrix et Beggiatoa .

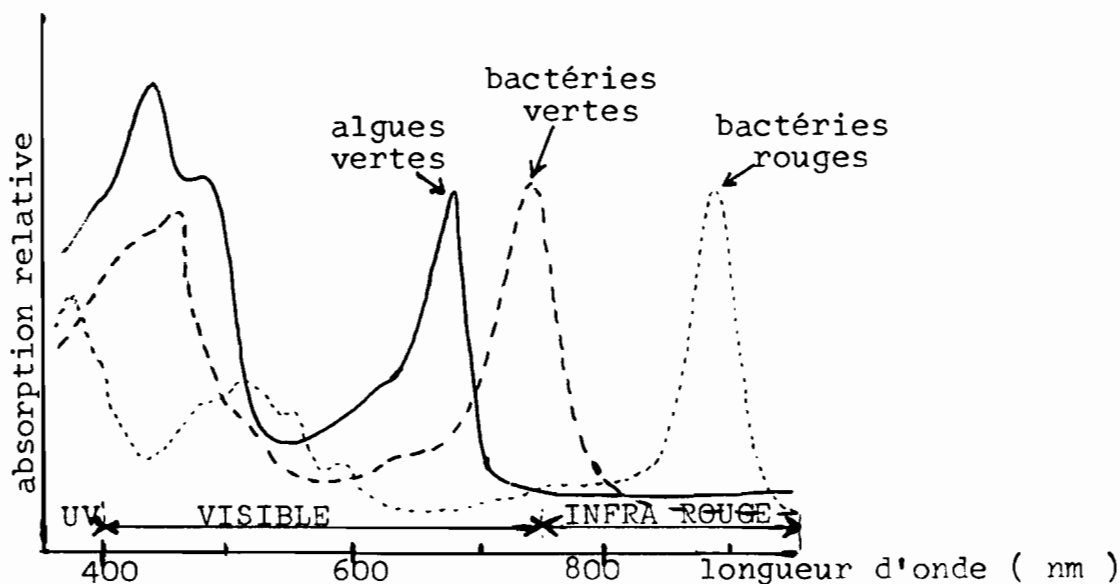
7.2 . Oxydation par les bactéries photosynthétiques .

Ces organismes possèdent un ensemble de caractères ne leur permettant de se multiplier que dans des biotopes bien définis, qui doivent être aquatiques, anaérobies, riches en H_2S et éclairés . Malgré leur confluence écologique, les bactéries rouges et vertes sont en fait très différentes .

Les bactéries rouges (Chromatiaceae) sont mobiles, et de morphologie variée . A la lumière elles oxydent plusieurs composés minéraux réduits (H_2S , mais aussi S^0 , $S_2O_3^{=}$ et H_2) en anaérobiose, mais elles peuvent aussi se développer hétérotrophiquement à l'obscurité (sans composés soufrés , les composés carbonés étant alors utilisés comme source d'énergie) . La croissance à la lumière est autotrophe, le CO_2 étant assimilé suivant le cycle de Calvin (comme pour la plupart des procaryotes et les eucaryotes) . Les systèmes photosynthétiques (contenant des bactériochlorophylles) sont situés dans des membranes intracytoplasmiques de formes très diverses pour chaque espèce , et l'oxydation de H_2S aboutit à l'accumulation de soufre élémentaire à l'intérieur de la cellule . Le soufre élémentaire ainsi mis en réserve peut être à son tour oxydé par les

bactéries rouges si le milieu extérieur s'appauvrit en sulfure .
Les bactéries vertes (Chlorobiaceae) sont immobiles , de morphologie homogène .Elles sont incapables de se développer à l'obscurité sans composés minéraux oxydables et sont autotrophes strictes le CO_2 étant assimilé suivant une voie métabolique différente du cycle de Calvin . Les pigments photosynthétiques sont disposés au contact de la paroi extérieure, l'oxydation du sulfure aboutissant à la formation de granules de soufre élémentaire à l'extérieur de la cellule . Le soufre ainsi excrété n'est plus utilisable par les bactéries vertes . Elles possèdent des vacuoles de gaz qui permettent aux cellules de flotter entre deux eaux ou en surface .

Dans certaines conditions, les bactéries rouges ou vertes peuvent se développer massivement, colorant les eaux en rouge ou vert (avec dans ce dernier cas une opalescence due au soufre élémentaire excrété par les bactéries vertes) . L'optimum de concentration en sulfure est différent pour les deux groupes qui préfèrent des eaux à pH neutre . Le maximum d'absorption de la lumière par les pigments photosynthétiques est également différent, ce qui explique les associations en strates horizontales que l'on observe parfois dans des eaux calmes . Ce pic maximum est situé à 670 nm (rouge visible) pour les algues vertes , vers 730 nm (rouge sombre) pour les bactéries vertes sulfureuses et vers 880 nm (infra rouge) pour les bactéries rouges sulfureuses (figure ci-dessous) .



Absorption de la lumière par les algues vertes et les bactéries sulfureuses (d'après PFENNIG , 1978)

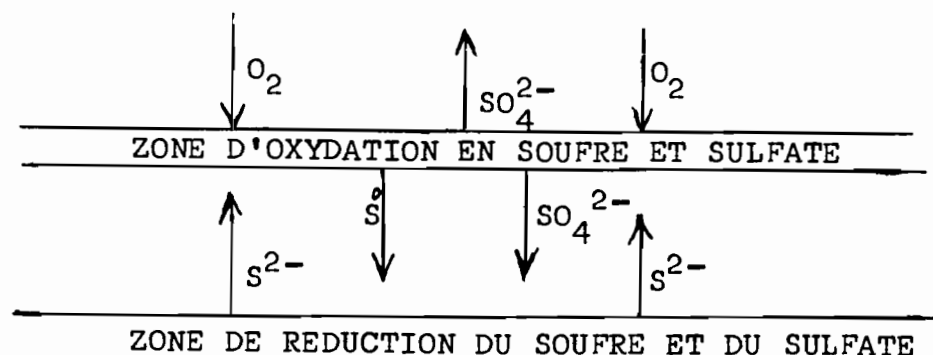
7.3 Oxydation chimique .

Suivant les caractéristiques physicochimiques du biotope, l'oxydation chimique du sulfure ou du soufre élémentaire peut y être rapide ou lente . Aux pH acides par exemple, les ions de métaux lourds catalysent ces oxydations . Etant donné le nombre des études portant sur la physiologie des thiobacilles et l'intérêt provoqué par la morphologie particulière des bactéries rouges ou vertes, il est possible que la contribution réelle des microorganismes dans l'oxydation des composés du soufre soit en fait surestimée dans de nombreuses études écologiques . Il est en effet très difficile d'évaluer in situ la part relative des deux processus. Nous verrons au § suivant que l'oxydation biologique est cependant très active dans certains biotopes .

8. QUELQUES PROBLEMES PARTICULIERS LIES AU CYCLE DU SOUFRE

8.1. Le biotope d'estuaire : eaux ,vases, sols de mangrove .

cet environnement est particulièrement favorable pour le développement des microorganismes du cycle du soufre, en raison de la disponibilité conjointe de matière organique apportée par les eaux continentales et du sulfate contenu dans l'eau de mer . Le diagramme ci-dessous illustre bien le rôle de transporteur de pouvoir oxydant joué par le sulfate dans le système eau-vase : cette fonction est essentielle, le sulfate contenu dans l'eau de mer (environ $2,7 \text{ g SO}_4^{2-}$ par litre) représentant environ 200 fois plus de pouvoir oxydant que l'oxygène dissous dans la même quantité d'eau de mer saturée .



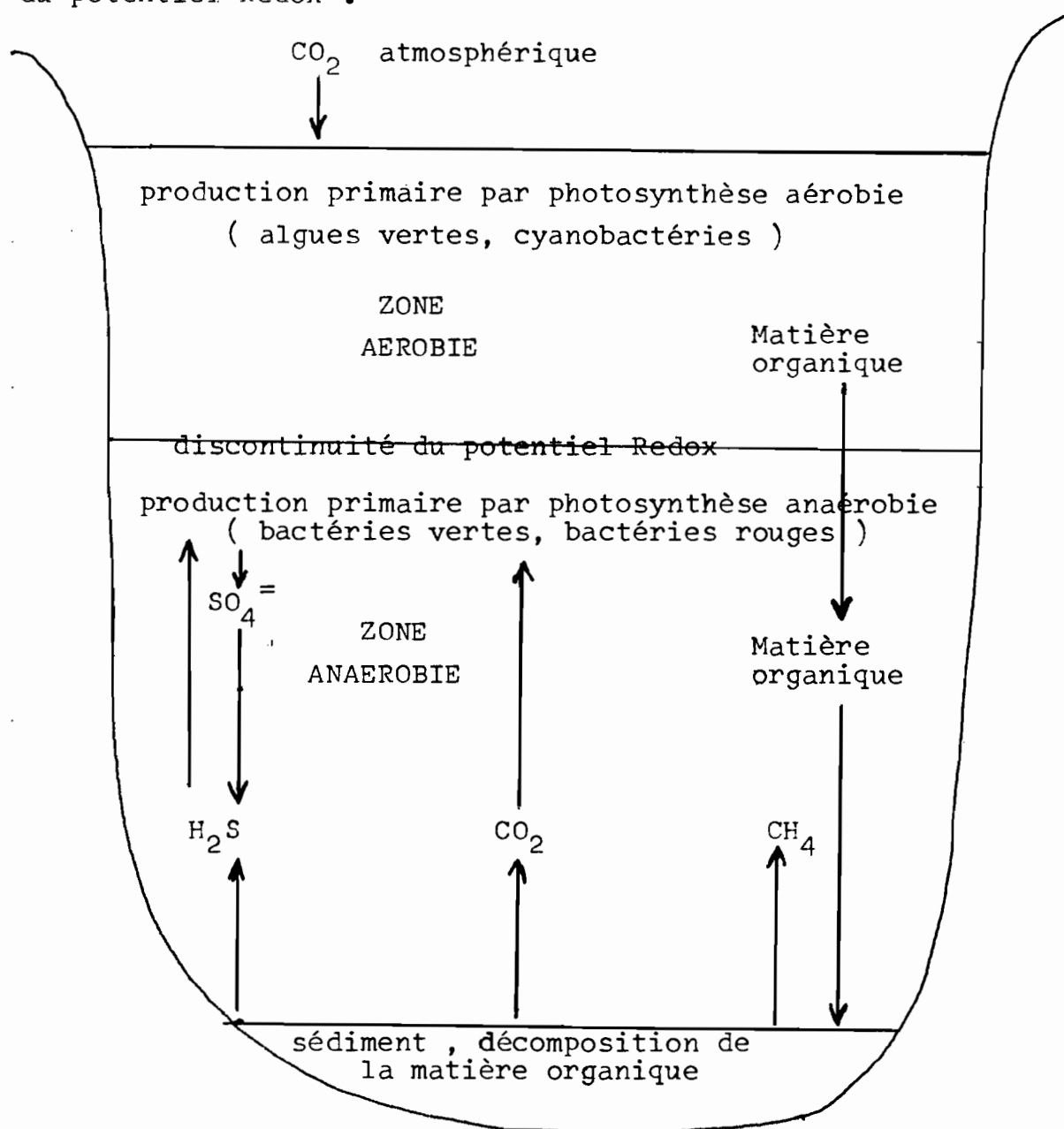
Suivant les conditions de température, de profondeur, etc., le turnover du soufre dans le système eau-vase est plus ou moins rapide. Cette notion de turnover est d'une grande importance, la numération des organismes impliqués et la mesure des concentrations des différents métabolismes ne suffisant pas à apprécier la dynamique du système. En effet, il est possible qu'un métabolite soit consommé aussi vite qu'il est produit : sa concentration dans le milieu est alors voisine de zéro. Cependant le groupe microbien qui utilise ce composé peut être particulièrement abondant et actif. La connaissance des flux de matière, des taux de croissance et de mort des différents composants du système est donc nécessaire pour en comprendre le fonctionnement.

Un bon exemple est donné par l'étude des sols de mangrove formés à partir d'alluvions fluvio-marines dans les zones d'estuaire. Les concentrations en sulfure et soufre élémentaire y sont importantes, mais les activités microbiennes faibles. Lors des travaux d'aménagement rizicoles par poldérisation, ces concentrations baissent significativement avec une augmentation très importante de l'activité des différentes bactéries du cycle du soufre. L'effet d'un drainage de la surface est souvent catastrophique, l'oxydation aérobie du sulfure étant alors activée par l'aération. Dans les cas les plus défavorables on aboutit à une chute de pH très importante (de pH 6,6 à pH 2,3 par exemple) qui rend le sol totalement impropre à toute culture. Cette acidification par sulfoxydation peut être atténuée en favorisant l'oxydation anaérobie des sulfures, ce qui est possible en maintenant le sol en percolation sous une couche d'eau douce avec un drainage profond. Dans une expérimentation portant sur 3 années, le lessivage d'une grande partie des sels (Cl^- , SO_4^{2-}) contenus dans un sol riche en soufre a été possible sans abaissement notable du pH. Mieux encore, le gypse qui avait été ajouté dans certaines parcelles pour augmenter la vitesse de percolation a accéléré le turnover du cycle, comme le montraient les numérations et les mesures d'activité des bactéries du soufre.

8.2. Les eaux douces sulfureuses .

Dans certains biotopes aquatiques (étangs, lacs, réservoirs de barrages) riches en soufre ou en matière organique

fonctionne un écosystème qui met en jeu certaines bactéries du cycle du soufre réparties dans deux zones suivant les conditions du potentiel Redox .



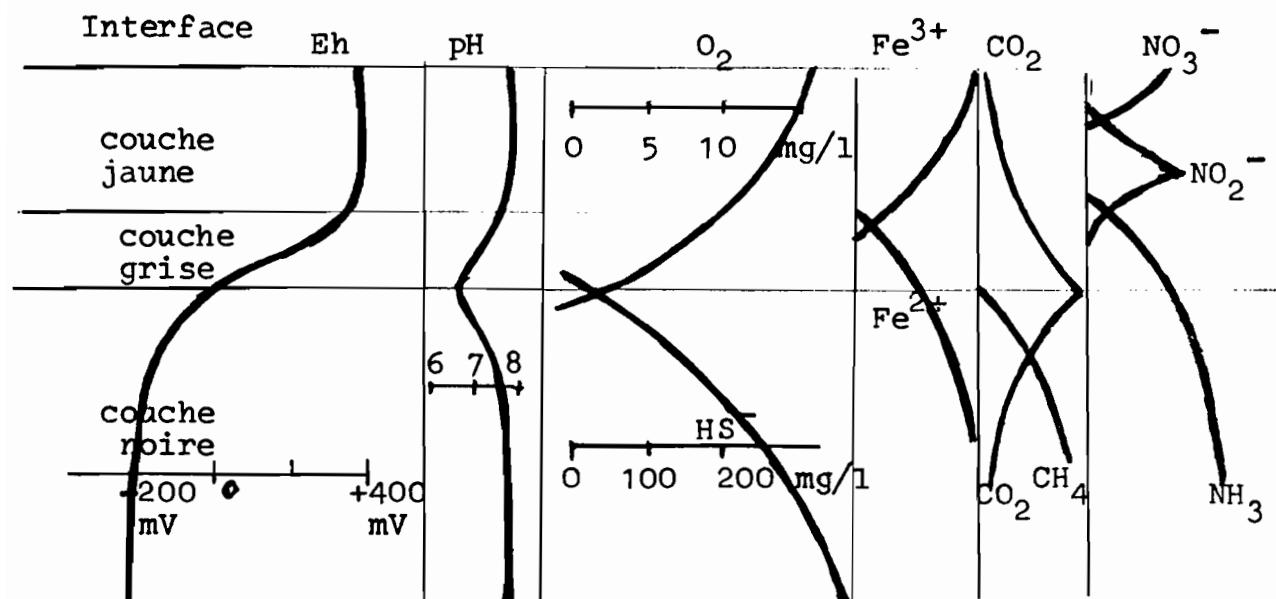
Cette stratification peut s'établir par différence de densités dans les eaux (eaux chaudes / eaux froides ; eaux douces / eaux salées). Les différents composants du système (algues vertes, bactéries vertes , bactéries rouges) utilisent alors des longueurs d'onde différents dans le spectre solaire (voir § 7.2) .

8.3. La zone réductrice sous l'interface eau-sédiment .

L'existence d'une zone réductrice noire située à quelques mm en dessous de l'interface eau-sédiment est très générale : cette couche a été décrite sous toutes les latitudes, elle se forme dans des sédiments de granulométrie variée . Elle se caractérise par une Discontinuité du Potentiel Redox (DPR) . L'individualisation, l'épaisseur de la DPR dépendent de l'équilibre entre l'apport d'oxygène et l'apport d'éléments nutritifs . Quand l'oxygène devient limitant, d'autres accepteurs finaux d'électrons peuvent être utilisés par certains microorganismes, le sulfate étant le plus important dans l'environnement marin. La DPR produit donc une importante quantité de sulfure par sulfato réduction (jusqu'à 700 mg par litre d'eau interstitielle dans un sédiment sableux) , principalement sous forme de HS^- . L'oxygène arrivant au contact de la DPR est rapidement consommé , on estime que les 2/3 de cette consommation sont dus à l'oxydation chimique du HS^- .

Dans les eaux douces ou saumâtres, la présence d'algues ou de diatomés à l'interface eau- sédiment favorise la formation de la DPR : la matière organique formée par photosynthèse est ensuite réduite par fermentation ou sulfatoréduction . On trouve donc immédiatement sous la couche verte d'algues une couche noire qui peut atteindre plusieurs cm d'épaisseur .

Le diagramme ci-dessous (d'après FENCHEL et RIEDL ,1970) schématise les variations du Eh , pH et des concentrations d'oxygène, de Fer, CO_2 , NO_3^- , NO_2^- et NH_3 dans la DPR .



8.4. Corrosions dues aux bactéries du cycle du soufre .

8.4.1. Rôle des bactéries sulfatoréductrices dans la corrosion du fer . La découverte du rôle des bactéries sulfatoréductrices dans la corrosion du fer et de l'acier est relativement récente, bien que ce phénomène revête une grande importance économique : des estimations faites en 1954 font état de 500 à 2000 millions \$ par an de dégâts aux U.S.A. Cette corrosion présente 3 caractères particuliers :

- Elle n'intervient qu'en anaérobiose, mais l'alternance de conditions aérobies et anaérobies accélère le phénomène : des objets métalliques sont attaqués plus rapidement si les conditions d'oxydo réduction alternent .

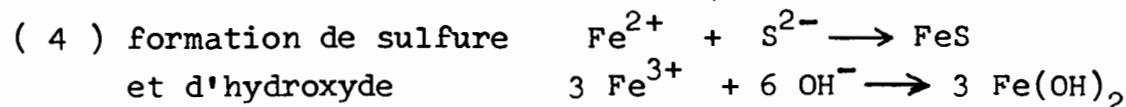
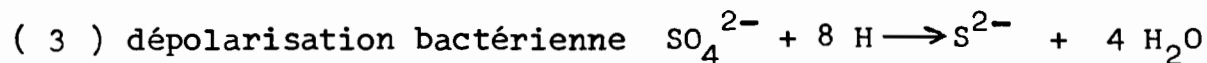
-La corrosion est ponctuelle plutôt que régulière , elle a tendance à provoquer des trous localisés plutôt que de désintégrer l'ensemble de l'objet .

-La fonte laisse un résidu de carbone (graphitisation) ; l'acier et le fer produisent du sulfure de fer .

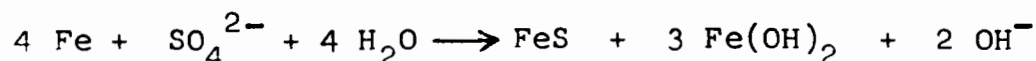
Bien que l'hydrogène sulfuré en solution (acide sulfhydrique) puisse attaquer le fer, l'action corrosive des bactéries sulfato-réductrices est due à la dépolarisation de la pile électrolytique qui se forme entre le fer et l'eau :



Un film protecteur d'hydrogène est donc formé qui stoppe l'attaque électrolytique . En présence de bactéries sulfatoréductrices, une dépolarisation de la cathode est possible, qui permet à la réaction de se poursuivre :



la réaction globale s'écrit donc :



Bien que ce mécanisme soit le principal responsable de la corrosion du fer par les bactéries sulfato réductrices, d'autres mécanismes peuvent aussi intervenir (action du sulfure de fer ou du soufre élémentaire natif produit par oxydation chimique du sulfure , dans les conditions alternées d'anaérobiose-aérobiose) .

8.4.2. Corrosion aérobie du ciment par les thiobacilles .

Les bactéries sulfoxydantes sont responsables de la corrosion aérobie du ciment, qui prend parfois des proportions spectaculaires . Nous avons vu au § 7.1.1 que certaines espèces telles que Thiobacillus thiooxidans ou Thiobacillus concretivorus peuvent produire des quantités importantes d'acide sulfurique, et restent actives à des pH très bas (correspondant à une solution normale d'acide sulfurique) . De telles concentrations en H_2SO_4 peuvent dissoudre le ciment : placés dans une culture pure de Thiobacillus thiooxidans , des échantillons de ciment sont totalement solubilisés après 100 jours d'incubation .

Ce phénomène d'attaque du ciment par les bactéries sulfoxydantes est particulièrement visible sur les fondations de certains ouvrages (piles des lignes à haute tension, barrages) placés dans des sols soumis à une alternance submersion dessiccation ou au contact d'eaux chargées en soufre . Dans une étude microbiologique des eaux du barrage d'AYAME en Côte d'Ivoire, MOURARET (1971) a mis en évidence le rôle des bactéries du soufre dans la corrosion des parties métalliques (turbines) de l'ouvrage et du barrage lui-même . Il est alors pratiquement impossible de prévoir une protection efficace contre la corrosion microbienne .

La figure 29 schématise les processus de corrosion par les bactéries du soufre .

8.5. L'alimentation en soufre de la plante .

Nous avons vu au § 3 que la source normale de soufre pour la plante était le sulfate de la solution du sol, l'équilibre entre la minéralisation et l'assimilation microbienne déterminant la concentration du sulfate dans l'eau du sol . Les besoins en soufre d'une culture intensive varient entre 9 et 39 $kg\ ha^{-1}\ an^{-1}$, ils sont donc comparables aux besoins en phosphore . Dans les zones industrialisées, ces besoins peuvent être largement couverts

par le retour au sol du soufre émis dans les fumées (combustion du pétrole et du charbon) , bien que la concentration en SO_2 dans l'air reste faible du fait de sa solubilité . Les apports de soufre dans la pluie varient en effet de $168 \text{ kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ (à 2 km d'un site industriel) à 42 kg (zone urbaine) et 16 kg (zone rurale non polluée) .

Des travaux récents ont montré que dans des sols pauvres en sulfate plus de 50 % du soufre nécessaire à la plante était absorbé sous forme de SO_2 par les parties aériennes, certaines plantes (tabac) pouvant se développer uniquement à partir de soufre dans l'atmosphère . L'activité industrielle peut donc profondément modifier la nutrition soufrée des plantes cultivées, les carences en soufre étant de moins en moins observées .

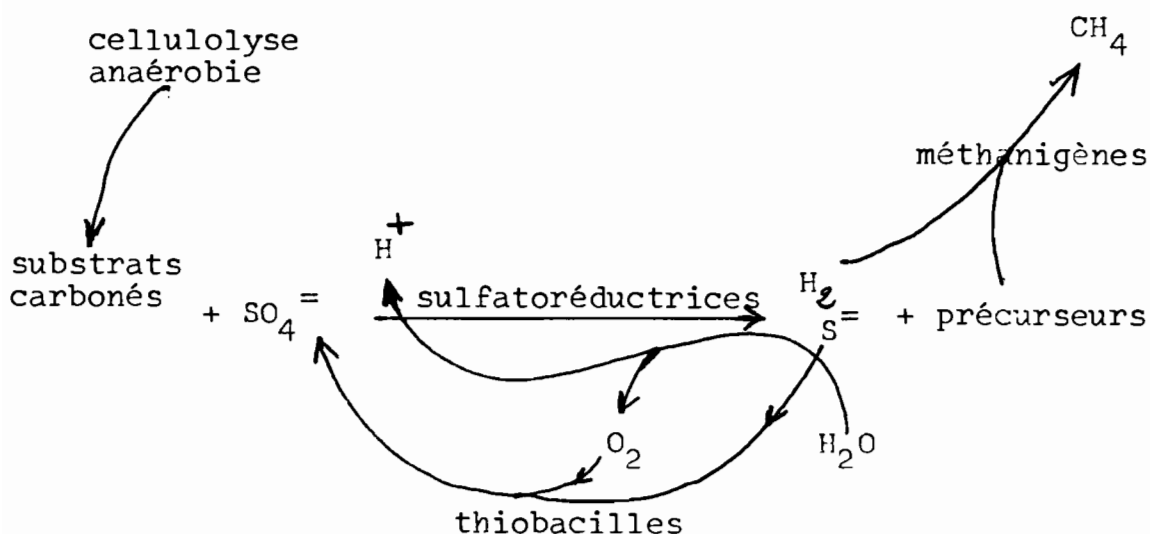
8.6. Sulfatoréduction spermosphérique et rhizosphérique .

Les bactéries sulfatoréductrices trouvent dans l'environnement proche de la graine en germination (spermosphère) ou des racines (rhizosphère) une niche écologique favorable en raison de la disponibilité de certains substrats organiques directement utilisables excrétés par le végétal . Cet effet spermosphère ou rhizosphère (mesuré par le rapport R/S des nombres de germes dans le sol influencé par la plante et dans le sol non planté) est particulièrement net dans le cas du riz inondé, mais il a été également décrit pour d'autres plantes (fève, maïs, luzerne) . Etudiée in vitro et in situ , la sulfatoréduction spermosphérique et rhizosphérique est un phénomène maintenant bien connu correspondant à un déséquilibre du cycle du soufre , l'activité des bactéries sulfatoréductrices aboutissant à une accumulation de sulfure soluble . L'intensité de la sulfatoréduction dépend de la concentration en sulfate dans le sol, des conditions d'oxydo-réduction (granulométrie, durée d'engorgement) et de la concentration en matière organique : l'effet rhizosphère est plus net dans un sol pauvre en matière organique .

Le sulfure produit est toxique pour la plante, le seuil de toxicité étant variable suivant la maturité . Pour le riz, ce seuil est d'environ 10 ppm (soit $10 \cdot 10^{-6}$ g par g de sol) . Cette concentration est atteinte dans certains sols après plusieurs jours de germination ou de développement des jeunes racines . Celles-ci s'entourent d'une gaine noire de sulfure de fer, qui limite les

échanges sol- plante . On observe alors des pertes de semis (pouvant atteindre 50%) ou des maladies physiologiques (" akagare" ou " akiochi " au Japon, " bronzing " à Ceylan , etc..) dont les origines étaient inconnues .

On trouve dans le sol submergé de la rizière un exemple de synergie entre groupes bactériens différents . Dans ce biotope anaérobie sont en effet associées les bactéries cellulolytiques anaérobies, sulfato et sulforéductrices et méthanigènes , dans des échanges de métabolites qui aboutissent à la décomposition de la matière organique végétale en CO_2 et CH_4 . Le schéma ci-dessous montre l'association de ces groupes bactériens . Au contact des ions $\text{S}^{=}$ produits par sulfatoréduction se forment de l'hydrogène et de l'oxygène par un effet de polarisation . L'hydrogène est "échangé " entre les bactéries sulfatoréductrices et les bactéries méthanigènes, l'oxygène étant utilisé par les bactéries sulfooxydantes chimiotrophes (thiobacilles) pour réoxyder le sulfure . L'ensemble de ces processus aboutit à la minéralisation de la matière organique avec formation de CO_2 et CH_4 .



8.7. La fixation d'azote par les bactéries sulfatoréductrices .

Pour le genre Desulfovibrio , le plus étudié (voir §6.1), la plupart des souches sont fixatrices d'azote , c'est-à-dire capables de réduire l'azote N_2 en ammonium pour la synthèse de leurs acides aminés . Cette propriété a probablement une importance

dans la rhizosphère des plantes cultivées en sol inondé (conditions favorables aux bactéries anaérobies en général et aux bactéries sulfatoréductrices si le sol contient des sulfates) . Dans le cas du riz inondé, la mesure de la capacité fixatrice du système sol- plante (par la mesure de la réduction d'acétylène) montre que la plante peut tirer une partie de son azote de cette fixation dite associative par des bactéries libres . Les travaux actuels cherchent à déterminer le groupe bactérien le plus actif dans cette fixation d'azote, les bactéries sulfatoréductrices pouvant dans certains sols jouer un rôle prépondérant . La microbiologie pourrait alors contribuer à améliorer le système cultural, en favorisant la fixation d'azote par les bactéries de la rhizosphère qui est réprimée par les apports d'engrais minéraux .

8.8. Toxicité des sulfures pour les nématodes phytoparasites .

Si les sulfures d'origine microbienne sont toxiques pour les plantes, ils le sont aussi pour la faune du sol, et en particulier pour les nématodes phytoparasites des racines . Des observations in situ ont montré que les niveaux des populations de certains nématodes étaient fortement diminués par une sulfatoréduction accidentelle ou provoquée . In vitro , l'action du sulfure d'origine microbienne a été démontrée . En rizière, un système de submersion en contresaison qui provoque une sulfatoréduction dans le sol pourrait être un moyen de lutte efficace contre les nématodes qui réduisent les rendements dans toutes les rizières africaines de près de 30 % . Le traitement chimique est en effet économiquement impossible (ce traitement se fait point par point à l'injecteur) . Des expérimentations en parcelle expérimentale ont montré l'intérêt de ce type de lutte biologique .

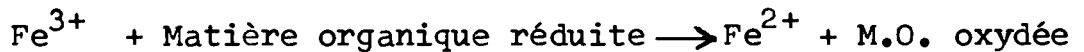
Dans le cas des bananiers, on a constaté un effet très positif d'une submersion prolongée sur les rendements , qui sont là encore diminués par les nématodes .

LES BACTERIES DU FER

1. GENERALITES .

Contrairement au cycle du soufre, les études concernant le cycle microbiologique du fer dans l'écosystème sol- plante sont très peu nombreuses , les microbiologistes hésitant à choisir ce difficile sujet . En effet, si la croissance chimiotrophe a été démontrée pour la bactéries autotrophe aérobie acidophile Thiobacillus ferrooxidans qui tire son énergie de l'oxydation du Fe^{2+} en Fe^{3+} , elle est toujours douteuse pour certaines bactéries filamenteuses (Sphaerotilus, Leptothrix, Gallionella) rencontrées dans les biotopes riches en fer ferreux et dont les filaments contiennent des dépôts de fer ferrique . Ces organismes ont en effet un optimum de pH situé entre 6 et 8 , dans ces conditions Fe^{2+} est facilement oxydable chimiquement et il est souvent impossible de savoir si ces bactéries contribuent effectivement à l'oxydation du fer , encore plus de déterminer si elles peuvent en tirer de l'énergie .

Quant à la réduction biologique de Fe^{3+} en Fe^{2+} , elle a été démontrée chez trois espèces sulfooxydantes, utilisant le fer ferrique comme accepteur final d'électrons dans l'oxydation du soufre élémentaire en sulfate . Dans le sol, la réduction du fer ferrique se produit en conditions de submersion, probablement par l'action combinée d'une microflore hétérotrophe :



Une relation entre la vitesse de la réduction du fer ferrique et le rapport des concentrations N organique/ Fe^{3+} montre que les composés riches en azote jouent un rôle essentiel .

Dans les sols riches en matière organique, le fer ferreux se trouve sous forme de complexe organique , en particulier avec certains acides (acide gallique, acide tannique) . Ces composés sont également capables de réduire chimiquement le fer ferrique, il est donc très difficile d'évaluer l'importance de la réduction d'origine microbienne .

2. LES BACTERIES A GAINÉ .

Ces organismes filamenteux sont fréquemment rencontrés dans les eaux riches en Fe^{2+} . Les études physiologiques récentes

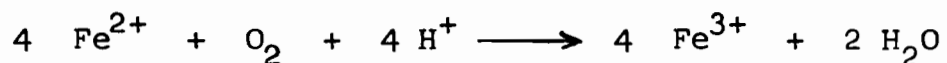
semblent indiquer que parmi les genres formant le groupe des " bactéries du fer ", seul Gallionella mérite cette dénomination . Les autres genres (Sphaerotilus, Leptothrix) sont en fait incapables d'utiliser l'énergie d'oxydation du fer ferreux en fer ferrique, il est même douteux que ces organismes participent effectivement à l'oxydation .

Ces "bactéries du fer" ont cependant une grande importance économique , par les floculats qu'elles produisent dans certaines conditions . Le fer ferreux formé dans un sol mal aéré riche en fer et en matière organique peut être entraîné par l'eau de pluie vers les systèmes de drainage . L'augmentation de l'aération au niveau du drain provoque une réoxydation qui s'accompagne d'un développement des bactéries filamenteuses . Un dépôt floconneux d'hydroxydes de fer, de filamenteux bactériens et de matière organique peut obstruer partiellement ou boucher totalement les drains. Le colmatage du aux bactéries du fer peut également affecter les canalisations d'eau (exemples au Gabon , en Australie) . Si la teneur en acides organiques est importante (par exemple sous filao ou eucalyptus) dans le sol de la zone de captage, une assez grande quantité de fer ferreux peut être complexée . Lors de la décomposition du gallate de fer par la microflore normale de l'eau de canalisation, le fer est libéré puis oxydé en Fe^{3+} , avec précipitations d'hydroxydes et dépôts de bactéries filamenteuses .

3. OXYDATION DU FER FERREUX PAR THIOBACILLUS FERROXYDANS .

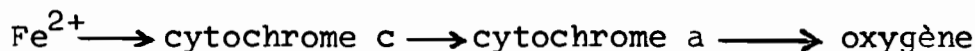
3.1. Mécanisme enzymatique .

Thiobacillus ferroxydans est une bactéries chimioautotrophe acidophile qui utilise l'énergie dérivée de l'oxydation de Fe^{2+} avec l'oxygène comme accepteur final d'électrons :



Toutes les souches oxydant le fer ferreux étant également capables d'oxyder le thiosulfate, le genre Ferrobacillus qui avait été décrit comme bactérie du fer sensu stricto n'a pas de signification réelle, l'ensemble des bactéries de ce type étant maintenant groupé dans la seuls espèce Thiobacillus ferroxydans .

La réaction d'oxydation du fer débute par la réduction du cytochrome C (cytochrome réductase) les électrons étant ensuite transportés par la chaîne cytochromique :

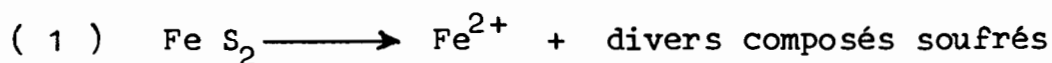


Bien que le couple $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ soit un agent réducteur particulièrement faible ($E'_0 = + 780 \text{ mV}$), la réduction du cytochrome c est possible probablement par chélation du fer : le potentiel d'oxydo-réduction est en effet fortement diminué quand le fer est chélaté .

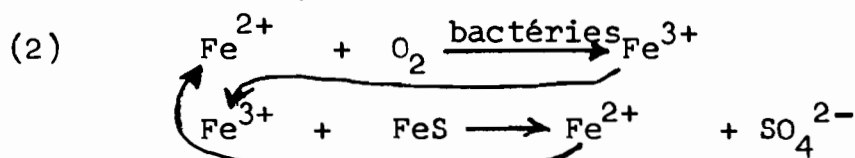
Le pH optimum de l'oxydation du Fe^{2+} par les cellules entières est compris entre 2,5 et 2 , l'activité oxydante se maintenant dans une solution 0,25 N d'acide sulfurique . Cependant les cellules sont tuées dans une solution 0,44 N d'acide sulfurique, Thiobacillus ferrooxydans est donc moins acidophile que Thiobacillus thiooxydans . Un des caractères particuliers de la bactérie est sa résistance à des concentrations élevées d'ions de métaux lourds: Cu , Zn , Cd , Cr , Pb , n'ont pas d'effet à 10^{-3} M , Hg et Ag étant inhibiteurs . Nous verrons plus loin que cette propriété permet l'utilisation de Thiobacillus ferrooxydans dans l'industrie minière .

3.2. Pollution acide des eaux de drainage des résidus miniers .

Ce problème écologique pose de graves problèmes , aux U.S.A. par exemple où les cours d'eaux souterrains peuvent être fortement pollués par l'acide sulfurique provenant de l'oxydation des résidus pyritiques des mines de charbon . Les études microbiologiques déjà anciennes ont mis en évidence le rôle de la bactéries ferrooxydante , l'attaque de la pyrite mettant en jeu deux types de réactions:



c'est-à-dire une dissociation chimique de la pyrite avec formation de Fer ferreux , et



une oxydation cyclique de la pyrite par Fe^{3+} produit par oxydation du fer ferreux . En l'absence de bactéries l'oxydation chimique

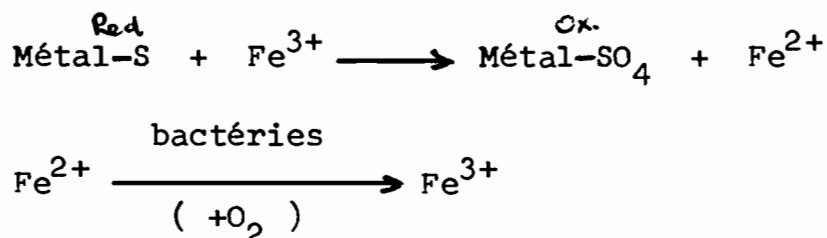
du fer ferreux par l'oxygène est le facteur limitant la vitesse de la réaction, celle-ci étant fortement accélérée par la présence de Thiobacillus ferrooxydans . Cette oxydation acidifiante se poursuit tant que l'oxygène est accessible dans le tas de résidus mais en présence de la bactérie l'acidification peut se passer en anaérobiose , le soufre élémentaire étant alors utilisé comme accepteur final d'électrons (voir § 1) . En effet au cours de l'oxydation chimique de la pyrite, une certaine quantité de soufre est libéré du cristal sous forme de soufre élémentaire qui peut être réduit par Thiobacillus ferrooxydans :



3.3. Lixiviation des minerais de métaux par Thiobacillus ferrooxydans

Plusieurs procédés industriels ont été décrits pour extraire certains métaux de leurs minerais sulfurés insolubles . Les travaux les plus complets ont été réalisés au Canada par TORMA sur les sulfures de nombreux métaux : Cu , Zn , Ni , Co , Cd , Ur, Pb , et le procédé industriel est actuellement utilisé pour le cuivre, l'uranium et le cobalt .

Le principe en est simple : les bactéries sont utilisées pour pomper les électrons fixés par le fer ferreux qui percole le minerai sulfuré :



le schéma d'une installation est donné en figure 30 . Le fer est utilisé comme piège à électrons, la bactérie comme pompe de transfert entre le Fe^{2+} et l'oxygène (ou le soufre élémentaire en anaérobiose) .

Un fractionnement du minerai est nécessaire pour augmenter la surface de contact entre la suspension bactérienne et le sulfure métallique, des déchets de fer (boîtes de conserve , etc.) servent de réservoir de fer . L'augmentation du prix de certains métaux (uranium, cuivre) a donné un grand intérêt pour ce procédé d'extraction qui s'applique à des minerais à faible teneur : 5 % du cuivre mondial ont été extraits par lixiviation bactérienne .

CHAPITRE XIII

DEGRADATION MICROBIENNE DES PESTICIDES DANS LE SOL

1. GENERALITES .

Le développement de l'emploi de produits organiques synthétiques pour combattre les insectes, champignons ou nématodes phytoparasites ainsi que les mauvaises herbes date seulement d'une trentaine d'années, après la découverte en 1939 de l'action insecticide du dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT) et de l'action herbicide sélective contre les dicotylédones de l'acide 2-4-dichlorophénoxyacétique (2-4-D) . Dès cette époque , on remarquait que le 2-4-D persistait davantage dans un sol stérilisé que dans le témoin, ce qui suggère une intervention microbienne dans son élimination du sol . Cet herbicide puissant est en effet dégradé par de nombreux microorganismes, et les travaux portant sur la biodégradation des pesticides par la microflore ont montré la grande variété des potentialités cataboliques des microorganismes .

Au contraire le DDT s'est révélé être particulièrement stable et résistant à la biodégradation, et son usage intensif a mis en évidence de graves problèmes de pollution de l'environnement et de concentration dans les chaînes trophiques . De nombreuses recherches portent donc sur le devenir des résidus de pesticides dans les plantes et les animaux .

Nous n'étudions dans ce chapitre que l'action des microorganismes dans la décomposition des agents chimiques de protection des cultures, mais on ne doit pas oublier que ces substances peuvent également être éliminées et dégradées par d'autres mécanismes, comme le lessivage, la volatilisation, les oxydations chimiques ou photochimiques, les plantes ou les animaux . Enfin, malgré la diversité des activités microbiennes dans le sol, de nombreuses molécules organiques sont totalement résistantes à la biodégradation. On estime parfois la persistance d'une substance par sa durée de demi-vie, c'est-à-dire par le temps nécessaire pour que sa concentration diminue de moitié : certains insecticides ont des demi-vies de plusieurs années dans le sol .

2. METABOLISME DES COMPOSES AROMATIQUES PAR LES MICROORGANISMES .

De nombreux pesticides sont des composés aromatiques, c'est-à-dire dérivés du benzène ou de cycles hydrocarbonés voisins . L'ouverture du noyau benzénique est une réaction chimiquement difficile qui demande des réactifs puissants, il est frappant de constater qu'à l'inverse elle est facilement réalisée par les bactéries .

La décomposition des substances aromatiques par les microorganismes est un processus en général aérobie, qui procède par hydroxylation avant l'ouverture du noyau . Le catéchol est un intermédiaire dans la décomposition du phénol et de l'acide benzoïque, il est ensuite dégradé suivant deux voies métaboliques distinctes suivant les espèces microbiennes . La décomposition anaérobie du benzoate a également été étudiée chez Rhodopseudomonas et les bactéries méthanigènes .

D'autres composés cycliques (naphthalène, phénanthrène) sont également oxydés , et leur décomposition a été étudiée . On constate par exemple que les composés portant des substituants " donateurs d'électrons " (OH, NH₂) sont plus facilement oxydés que les composés portant des substituants " accepteurs d'électrons " (NO₂ , SO₃H₂) .

3. DECOMPOSITION DES PESTICIDES PAR LES MICROORGANISMES .

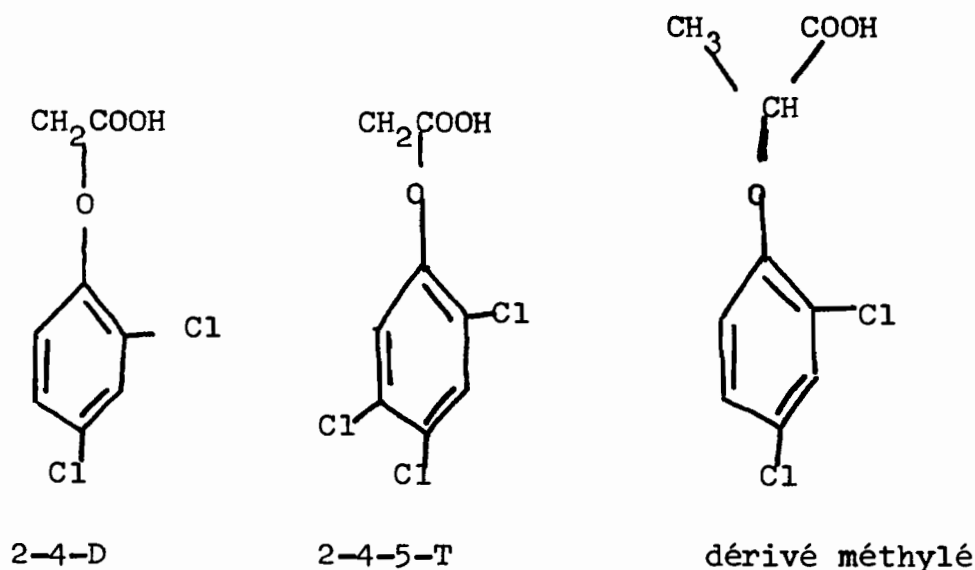
Les travaux d'AUDUS sur la décomposition du 2-4-D sont un bon exemple des techniques et méthodes utilisées en microbiologie du sol . En percolant une colonne de sol par une solution non renouvelée de 2-4-D (voir chapitre IV et Figure 13) , on observe 3 phases dans la concentration du 2-4-D dans la solution . Tout d'abord une légère diminution qui est due à la rétention du produit par le sol, puis une longue phase stationnaire pendant laquelle la concentration ne change que très faiblement, enfin une phase exponentielle de disparition du 2-4-D qui correspond à la croissance d'une microflore adaptée , et qui se termine par la disparition du produit .

La vitesse de la consommation du 2-4-D par la microflore spécialisée dépend alors des paramètres habituels de la croissance microbienne : aération, température, pH , substrat , etc ...

Le mécanisme permettant l'adaptation de la microflore pendant la phase de latence n'est pas encore bien compris . Cette adaptation peut se faire soit par mutation de certains individus soit par sélection d'organismes possédant l'équipement enzymatique nécessaire et induction de ces enzymes .

La dégradation du 2-4-D ajouté dans un sol ayant déjà reçu ce composé est plus rapide , ce qui indique que la microflore adaptée peut se maintenir pendant un certain temps .

Il est fréquent que la nombre d'atomes de chlore substitués ait une grande influence sur la résistance à la dégradation microbienne . Par exemple, si le 2-4-D est rapidement décomposé, le 2-4-5-T (acide trichlorophenoxyacétique) est extrêmement résistant . Il en est de même pour la nature de la chaîne en position 1 : le dérivé méthylé est décomposé 10 fois plus lentement que le 2-4-D .



Le parathion, insecticide organophosphoré, est décomposé par de nombreux microorganismes du sol . En anaérobiose (sols submergés, rizières) il peut être hydrolysé en p.nitrophénol et phosphate ou réduit en p.aminoparathion . Le malathion (autre organophosphoré) est également dégradé par des bactéries (Rhizobium) ou des champignons (Trichoderma).

Les phénylcarbammates , phénylurée et autres composés dérivés de l'aniline sont utilisés comme fongicides, herbicides ou insecticides. Ils sont dégradés par les microorganismes du sol avec libération de l'aniline et du chlore . Ces produits (Monuron, Linuron, Chloroxuron, Propham, Propanil, Solan , etc..) sont décomposés par une

microflore spécialisée (Achromobacter, Aspergillus, Penicillium, Pseudomonas , etc....) .

La décomposition microbienne des herbicides de contact (Paraquat, Diquat) est également assez rapide, en particulier par une levure (Lipomyces Starkeyi) qui utilise ces composés comme source d'azote , ou par un Pseudomonas .

3 INFLUENCE DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL .

La plupart des travaux ayant porté sur des sols exondés en climat tempéré, on a longtemps considéré comme récalcitrants ou très résistants à la biodégradation certains composés organochlorés ayant une période de demi-vie très longue dans cet environnement . Il semble en fait que dans d'autres conditions (sol submergé, climat tropical) ces mêmes pesticides puissent être rapidement dégradés .

Par exemple, le lindane qui est résistant en conditions aérobies est dégradé rapidement en anaérobiose par plusieurs bactéries qui utilisent ce composé comme seule source de carbone . La vitesse de la dégradation est alors fonction de la température, et de l'apport de matière organique fraîche . L'effet stimulant de la matière organique est plus marqué dans les sols initialement pauvres en matière organique . On montre enfin que l'oxygène, le nitrate ou l'oxyde de manganèse qui empêchent la baisse du potentiel d'oxydoréduction dans le sol submergé retardent la biodégradation du lindane .

Le cas du DDT est un peu différent : cet organochloré persiste pendant plusieurs années en sol exondé , mais en conditions anaérobies il est déchloruré en DDD (dichloro-diphényl-dichloroéthane) qui s'accumule car ce composé est lui-même résistant à la dégradation . L'accumulation de DDD dans les sols inondés pose également de graves problèmes de pollution , le DDD étant toxique comme le DDT .

4 ROLE DU COMETABOLISME DANS LA DEGRADATION DES PESTICIDES

Une dégradation, au moins partielle, de certains pesticides peut également intervenir par le mécanisme du cométabolisme, c'est-à-dire par oxydation de ces composés s'ils sont des analogues structuraux de métabolites normaux .

Le terme de cométabolisme a été employé en premier par FOSTER

qui étudiait l'oxydation des hydrocarbures par Nocardia . Ce protoactinomycète utilise l'héxadécane comme seule source de carbone et d'énergie, mais ne peut pas utiliser le méthylnaphtalène . Ce composé est pourtant oxydé par une culture sur héxadécane .

De la même façon, certains pesticides dont le 2-4-5-T ou l'acide 2,3,6 trichlorobenzofique peuvent être dégradés par cométabolisme par les bactéries utilisant le benzoate .

FIGURE 1 : SYNTHÈSE ET UTILISATION DE L'ATP

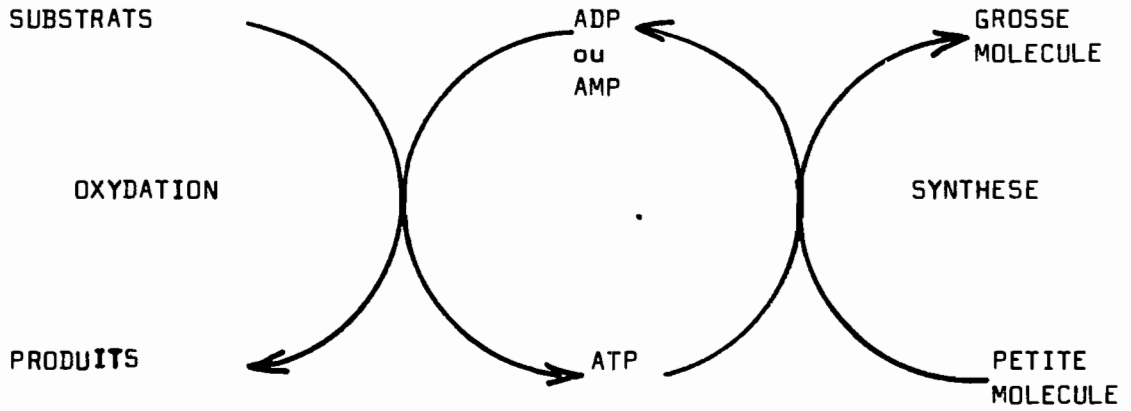


FIGURE 2 : SCHEMA D'ECOSYSTEME PRIMITIF : 1 ère ETAPE

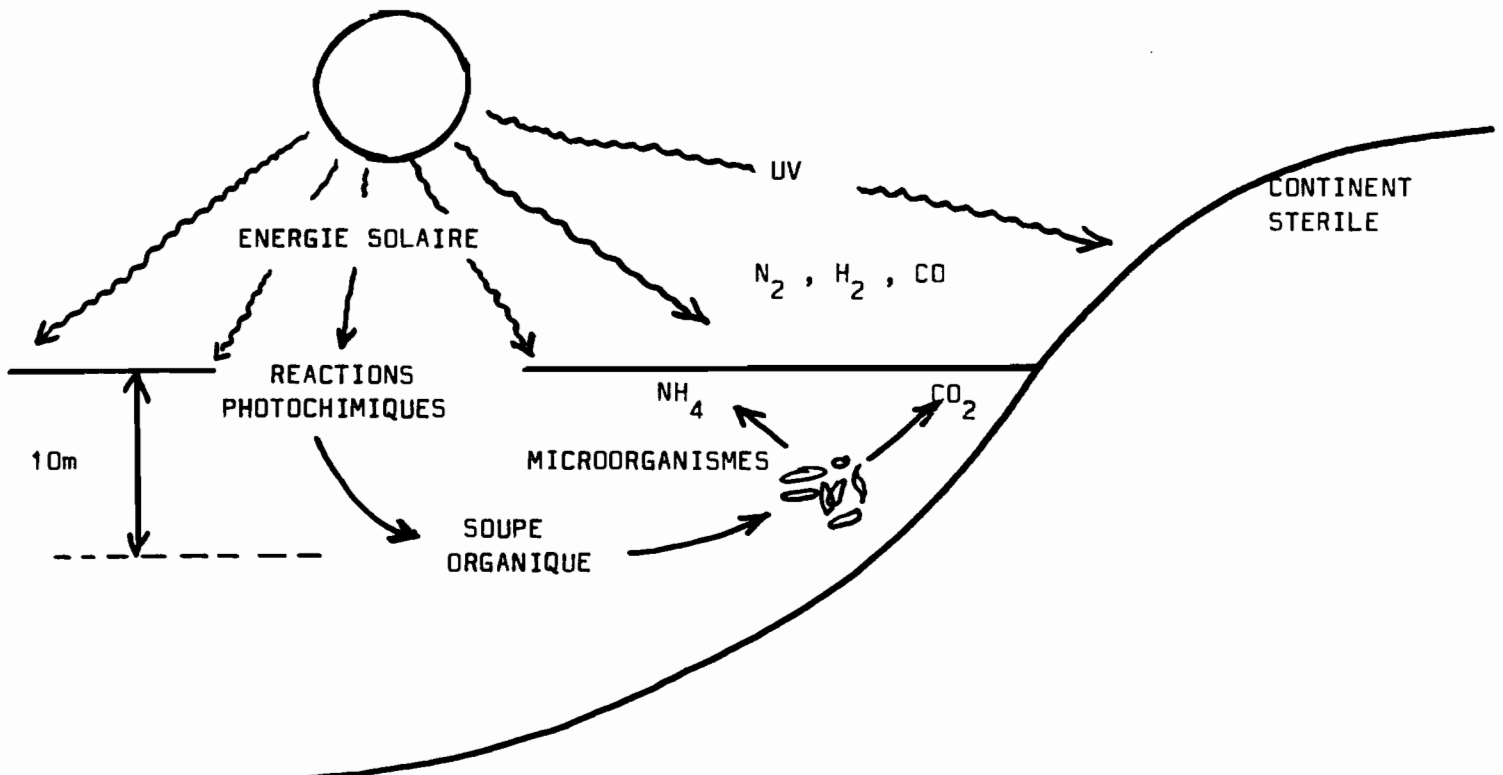


FIGURE 3 : SCHEMA D'ECOSYSTEME PRIMITIF : 2 ème ETAPE

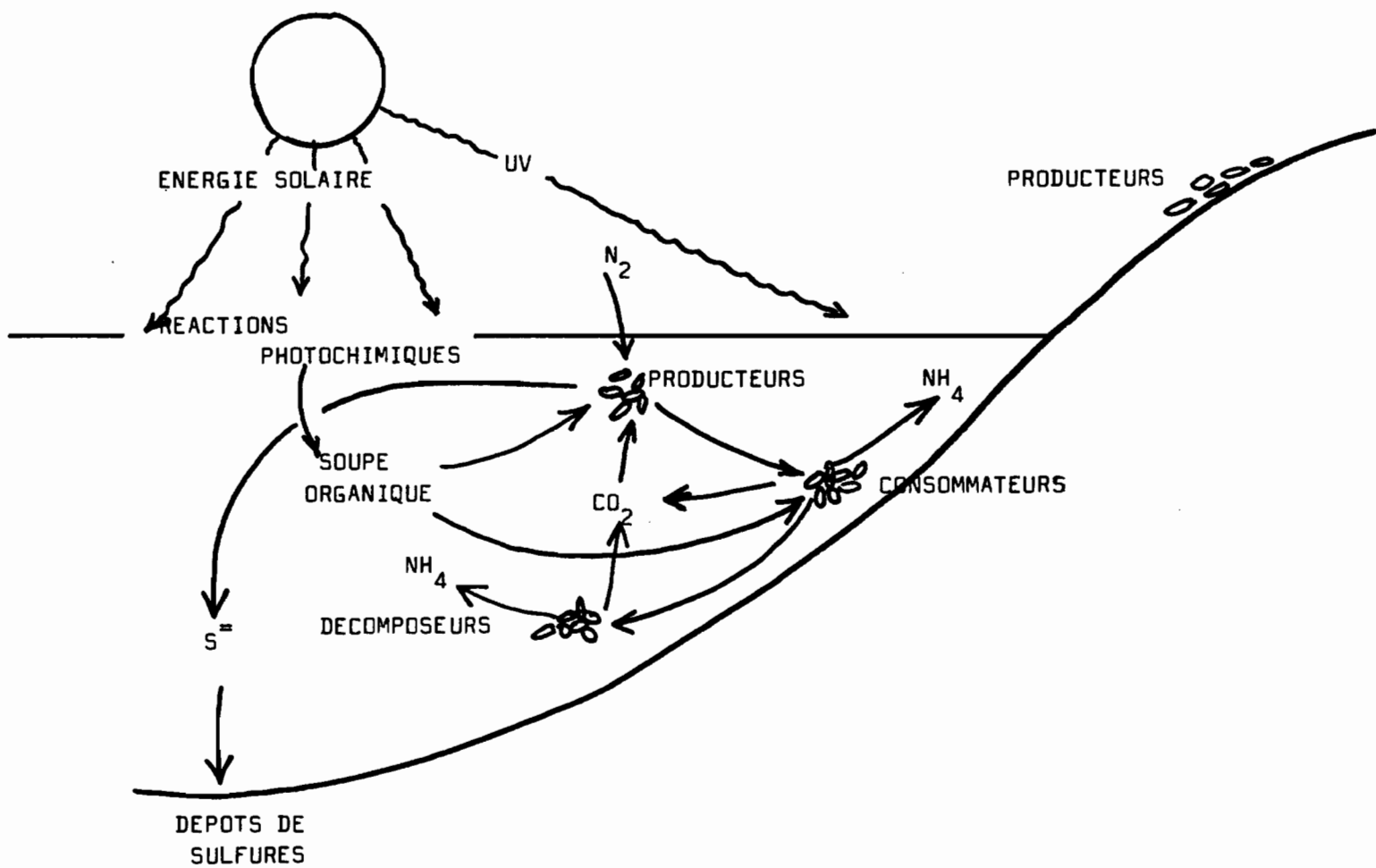


FIGURE 4 : EVOLUTION DES SYSTEMES D'OXYDO-REDUCTION

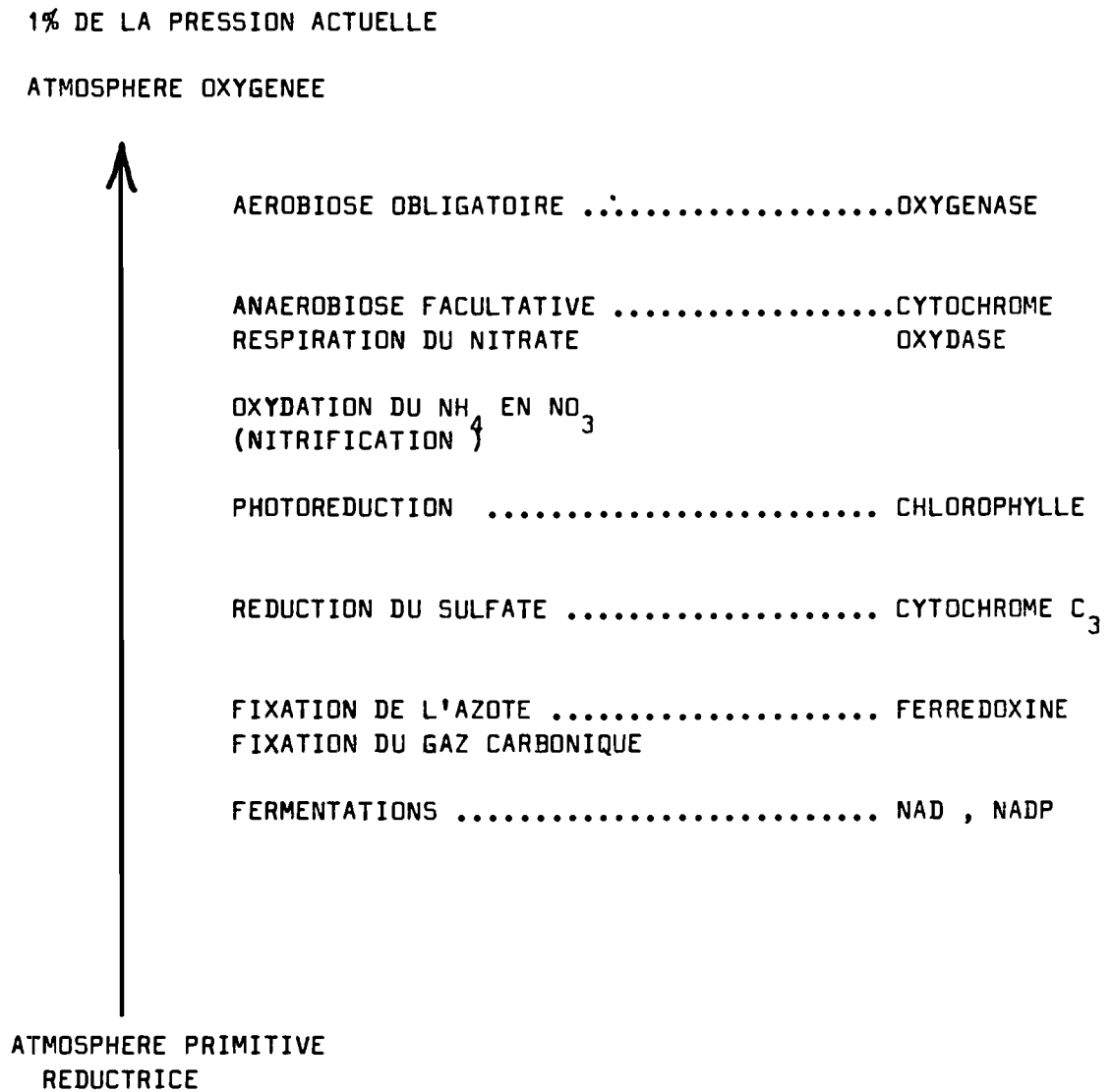


FIGURE 5 : VOIES D'OXYDATIONS BIOLOGIQUES

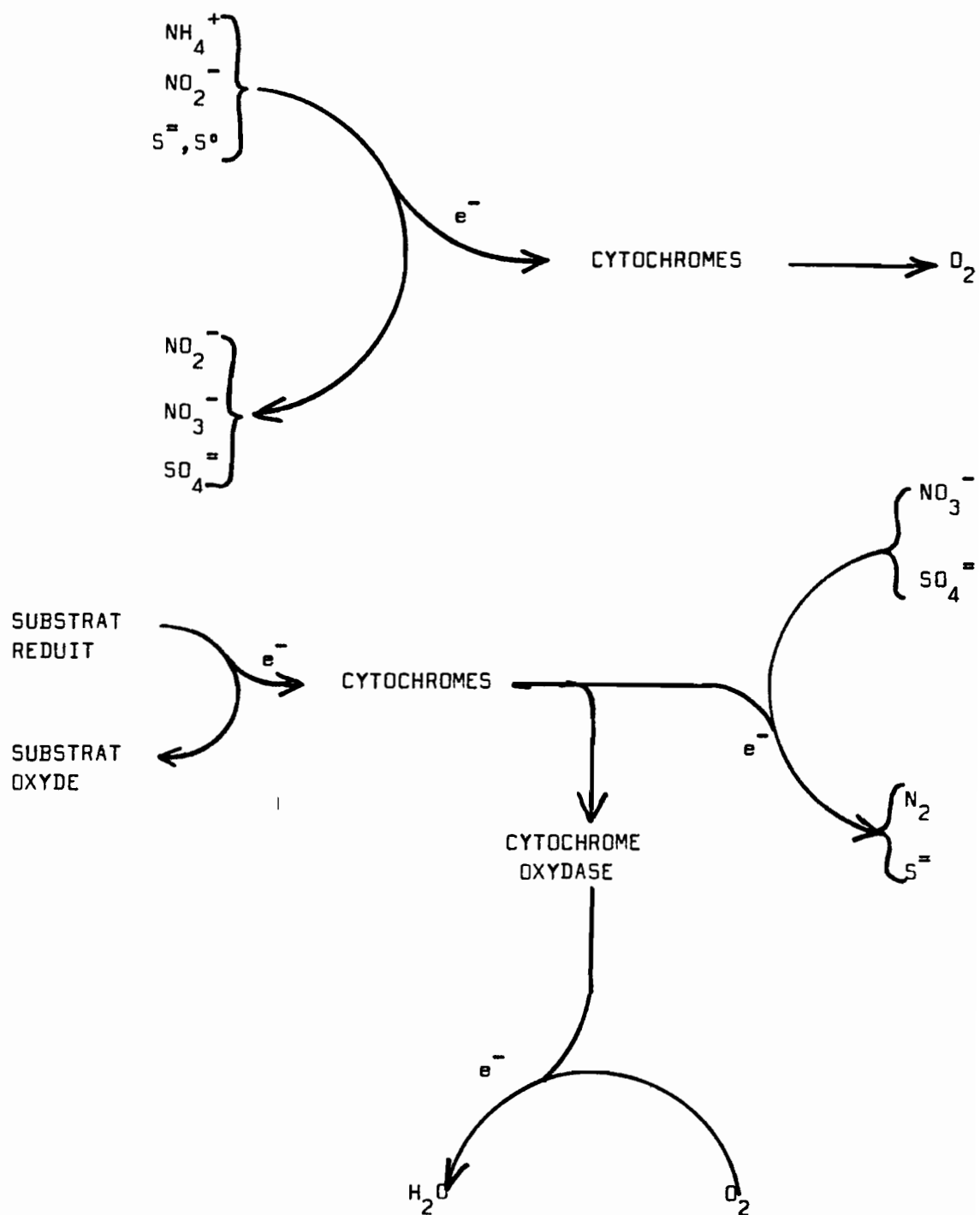


FIGURE 6 : NOMBRE DE MICROORGANISMES PAR GRAMME DE SOL

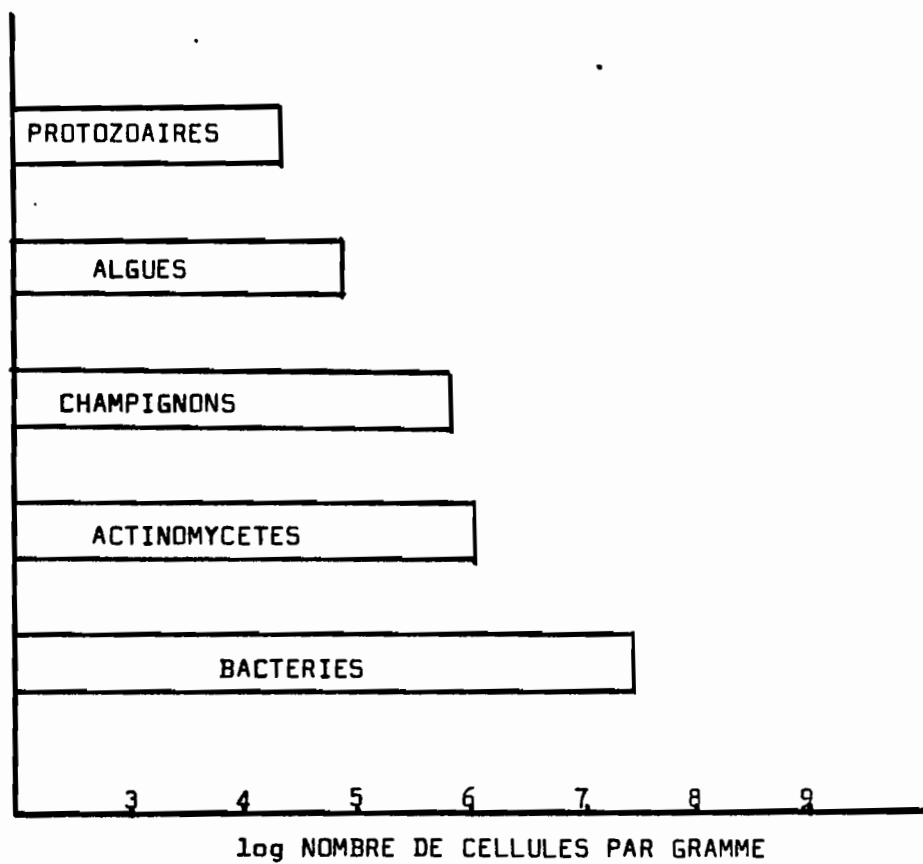


FIGURE 7 : HISTOGRAMME DE LA POPULATION D'ALGUES DANS UNE RIZIERE

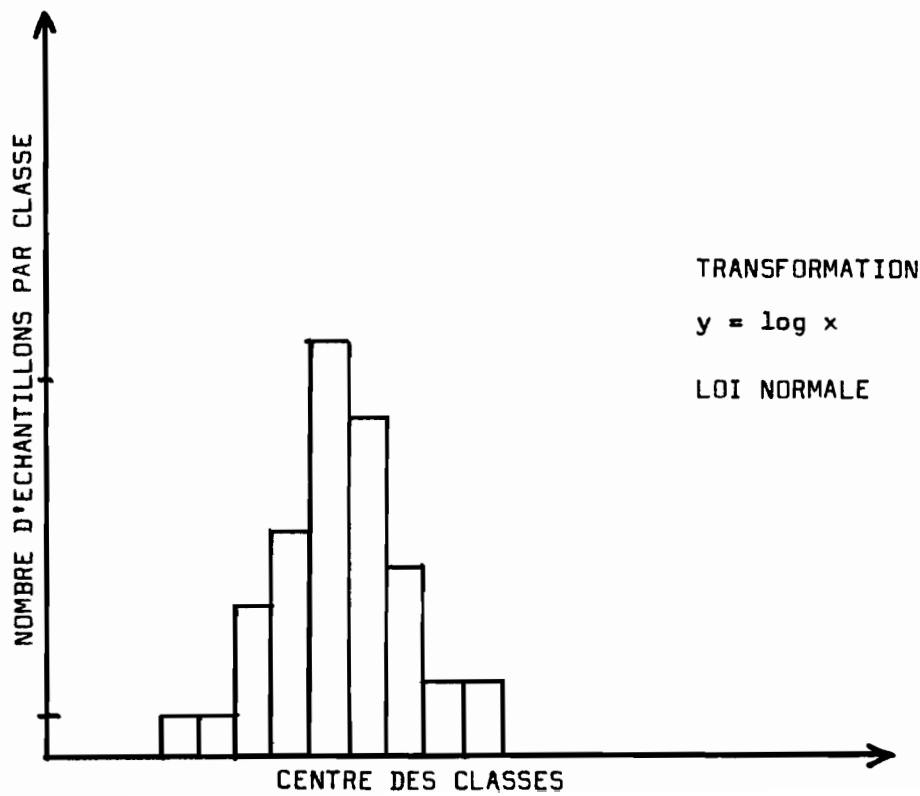
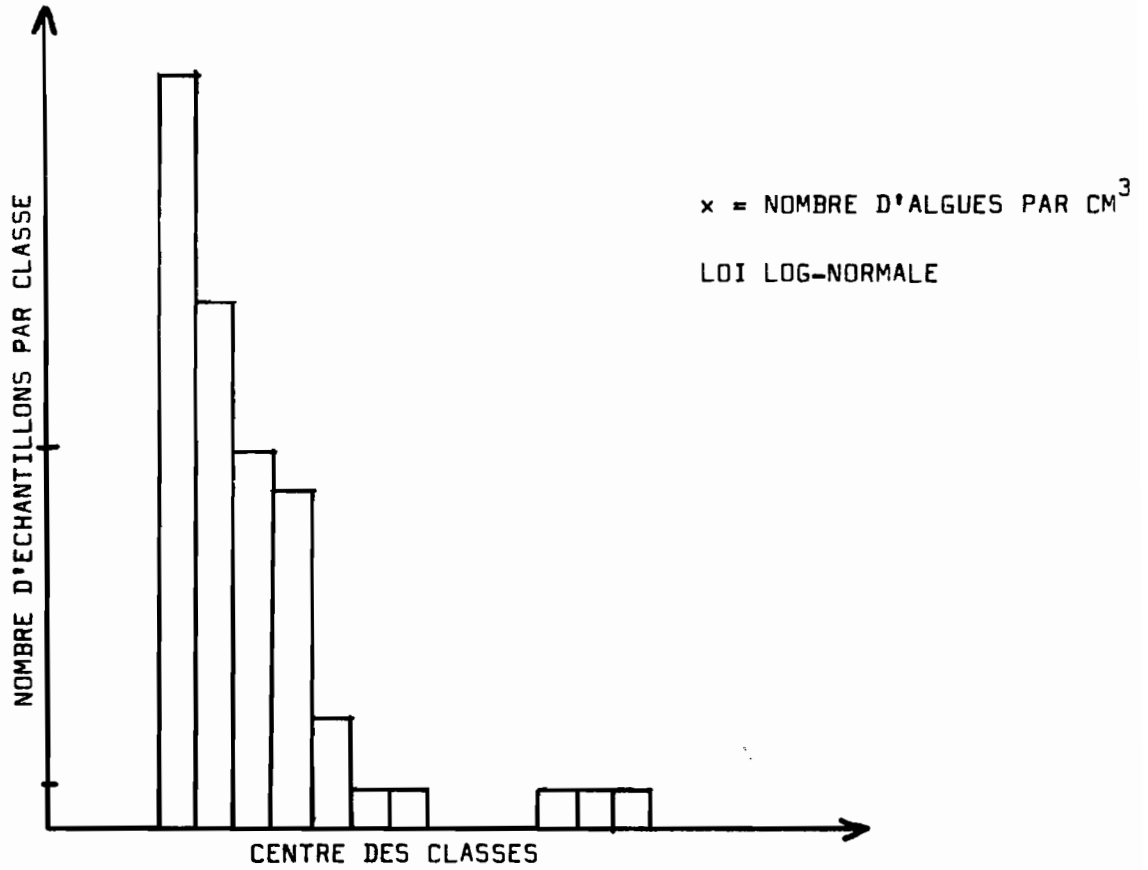
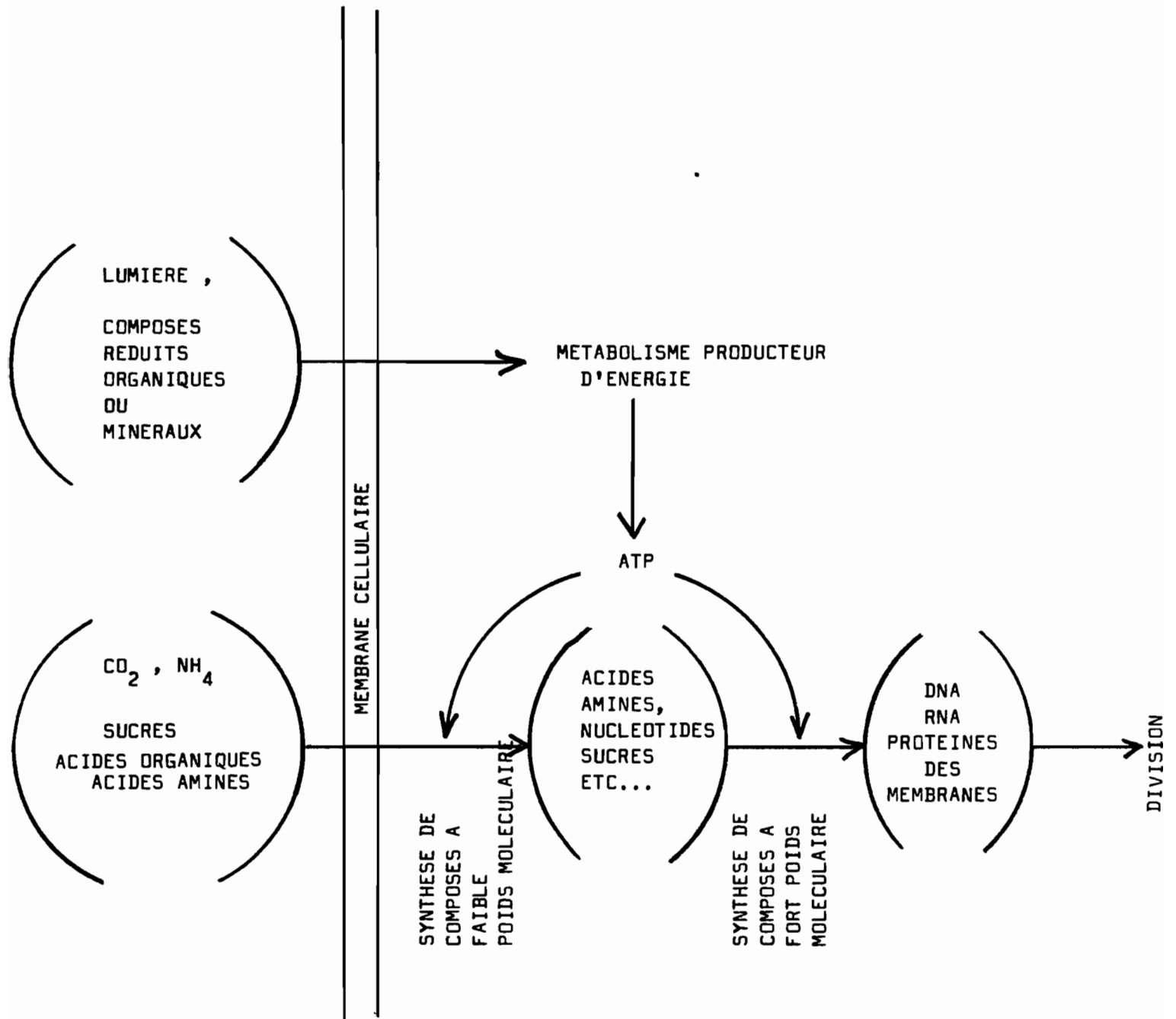


FIGURE 8 : CROISSANCE ET DIVISION DES MICROORGANISMES

MILIEU
EXTERIEUR

INTERIEUR DE LA CELLULE



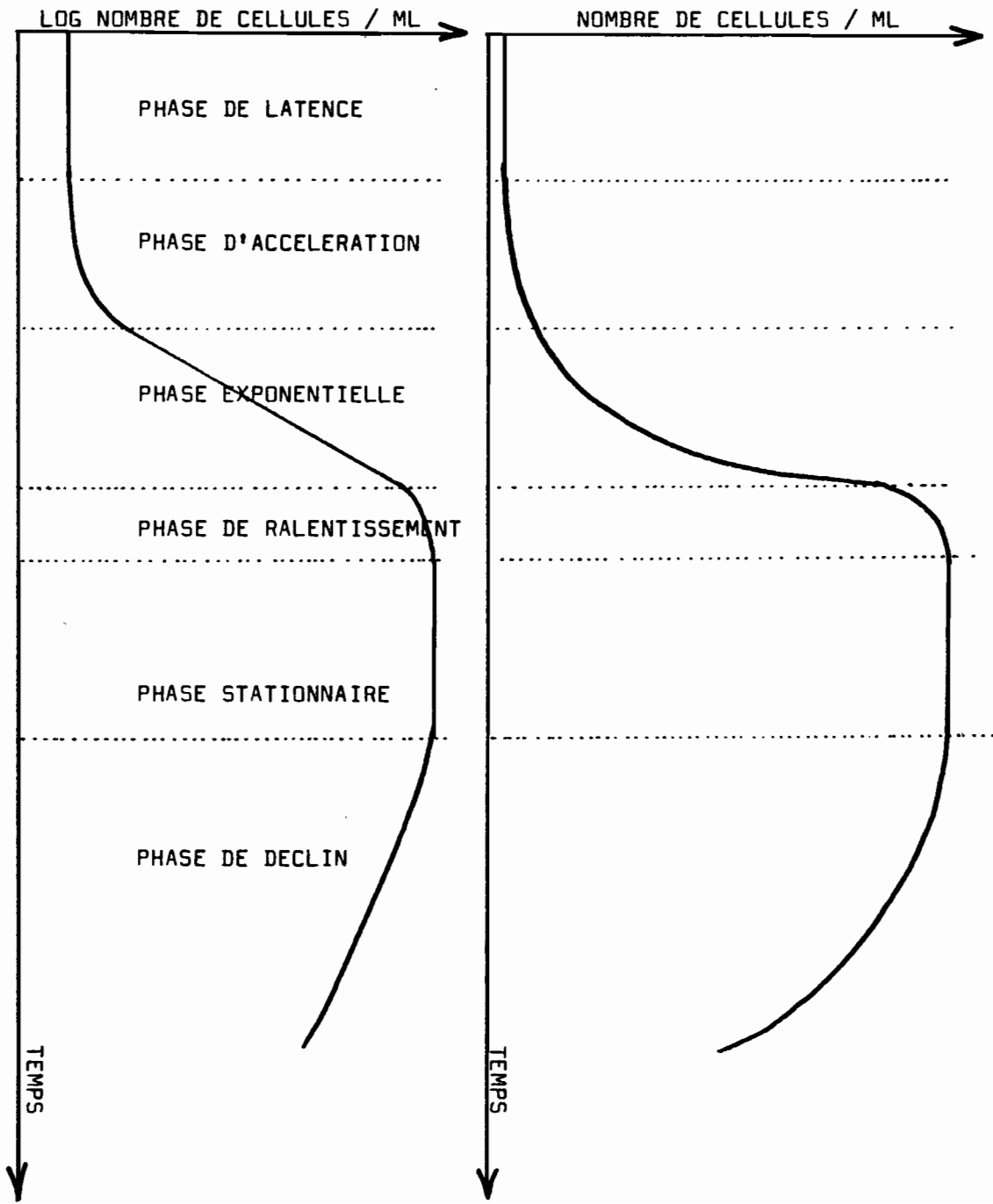
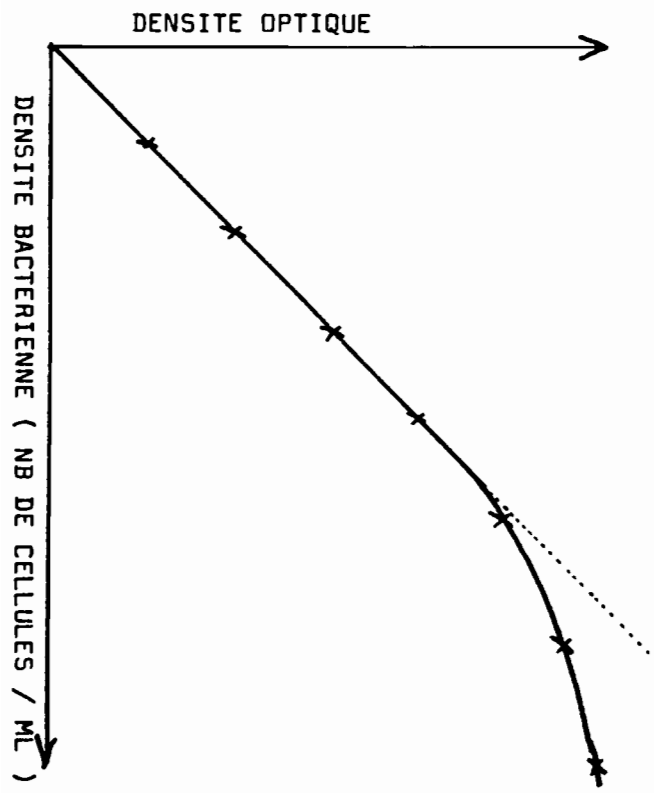


FIGURE 9 : EXPRESSION GRAPHIQUE DE LA CROISSANCE

FIGURE 10 A : MODELE DE COLONIE DUR MILIEU SOLIDE

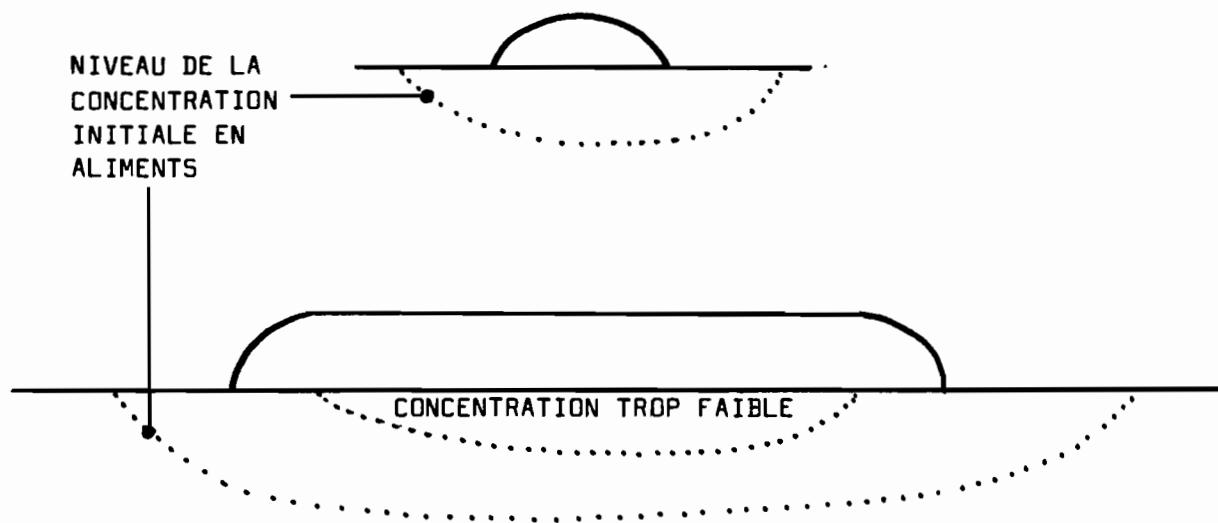


FIGURE 10 B : REPRESENTATIONS SCHEMATIQUES DE CULTURES LIQUIDES

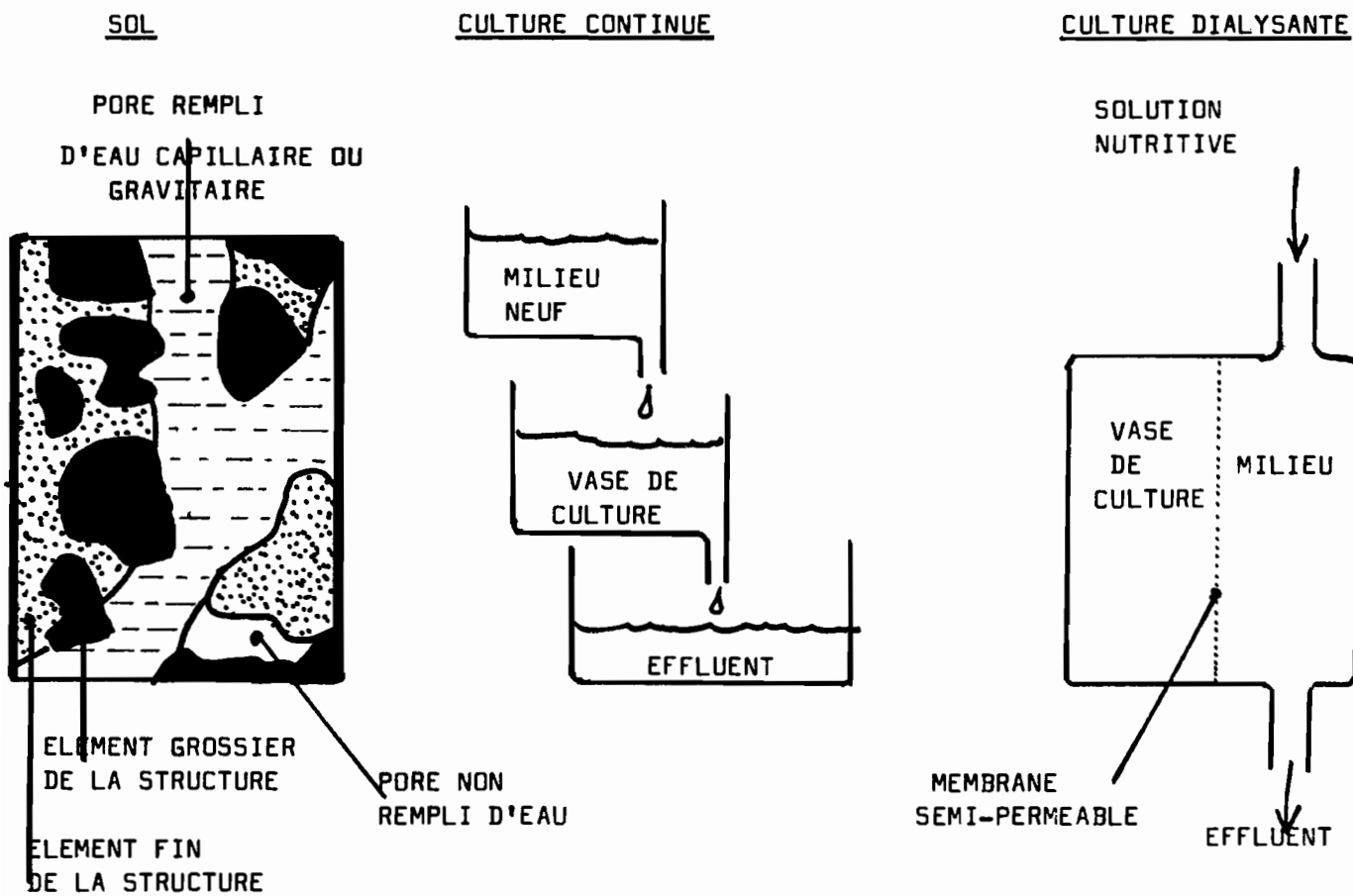
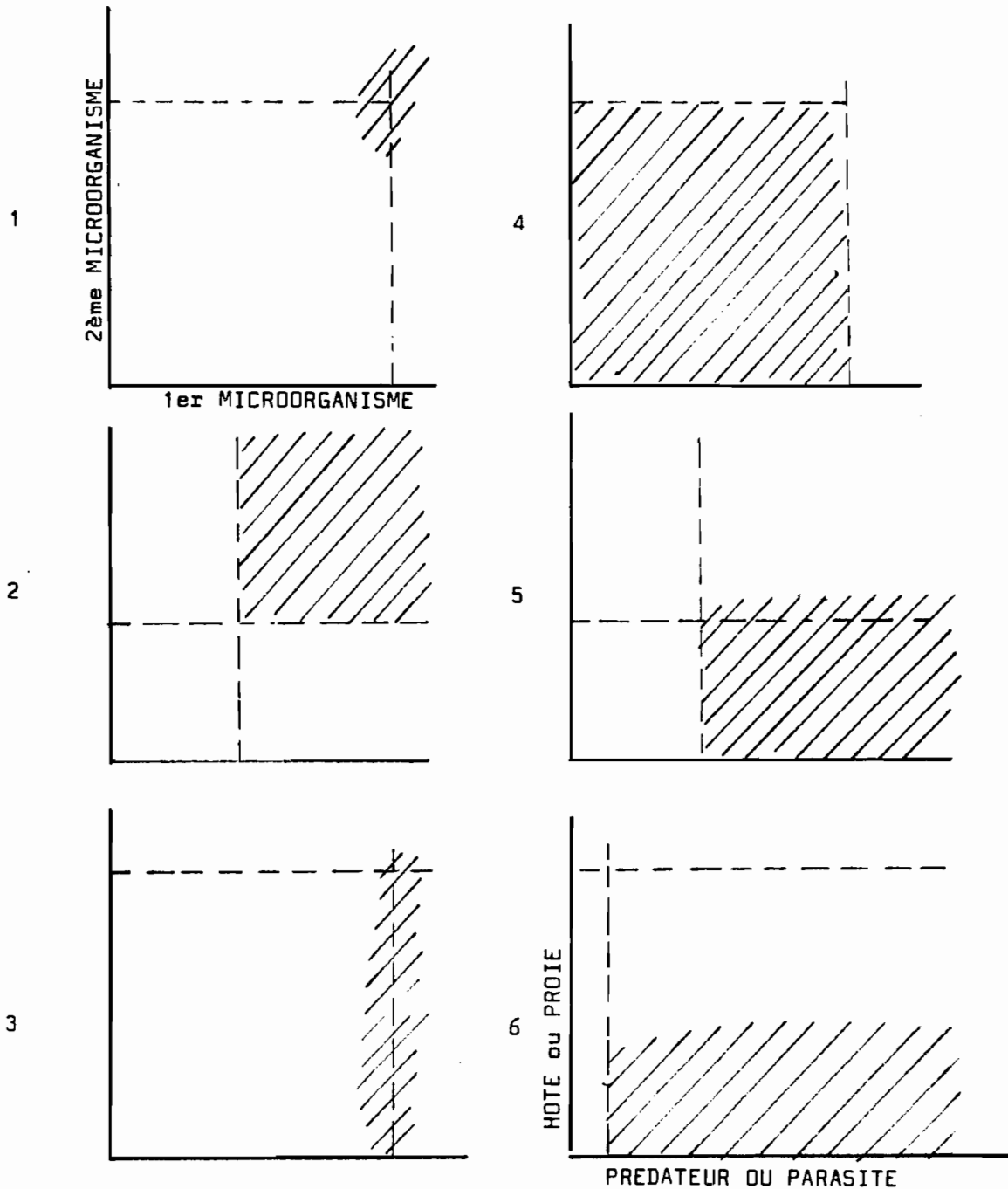


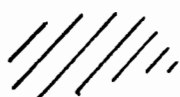
FIGURE 11 : TYPES D'ASSOCIATIONS MICROBIENNES



1= NEUTRALISME
 2= MUTUALISME
 3= AMMENSALISME

4 = COMPETITION
 5 = COMMENSALISME
 6 = PARASITISME OU PREDATION

----- DENSITES DES MICROORGANISMES EN CULTURE PURE



DENSITES POSSIBLES EN CULTURE MIXTE SUIVANT LE TYPE D'ASSOCIATION

FIGURE 12 A :

COLONNE DE
WINOGRADSKY

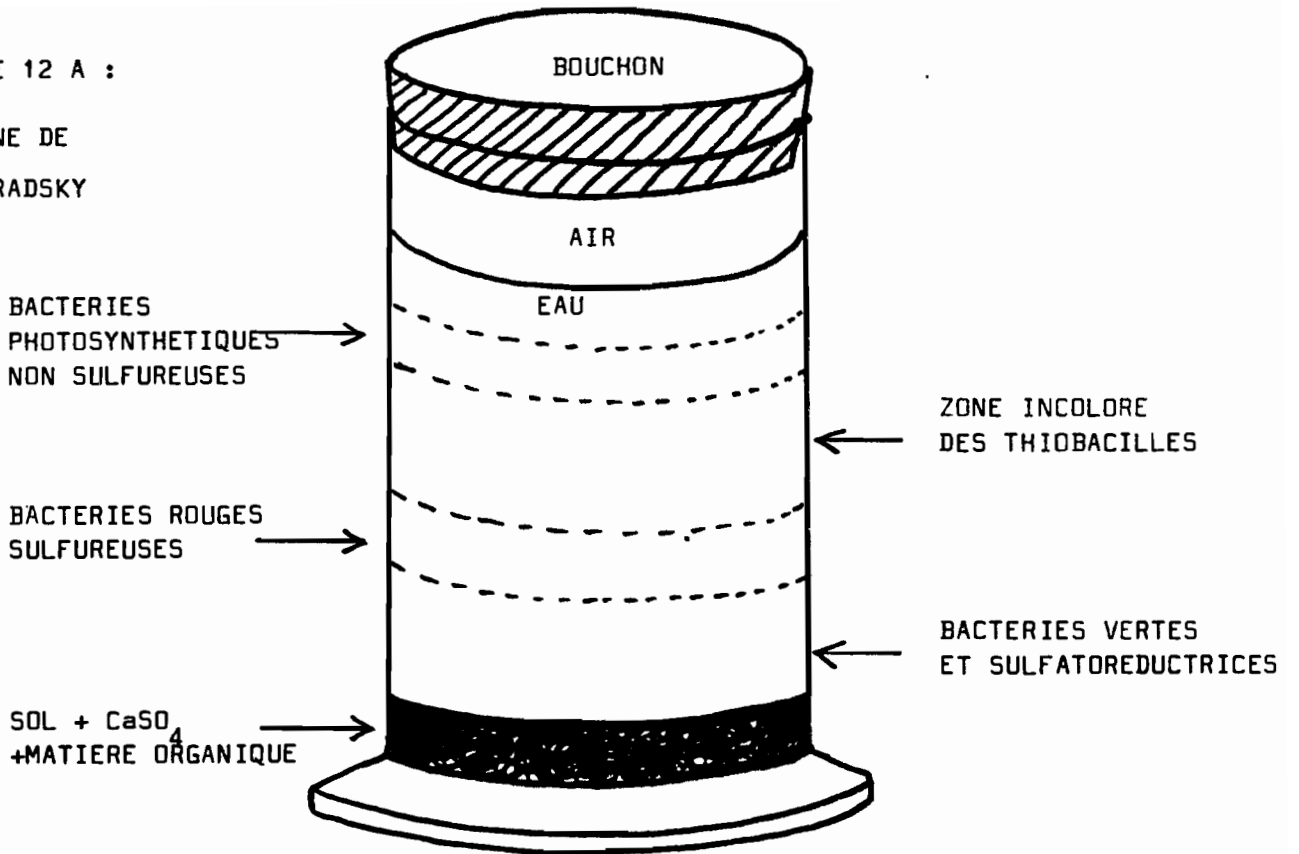


FIGURE 12 B :

MODELE DE
KOBAYASHI-OKUDA

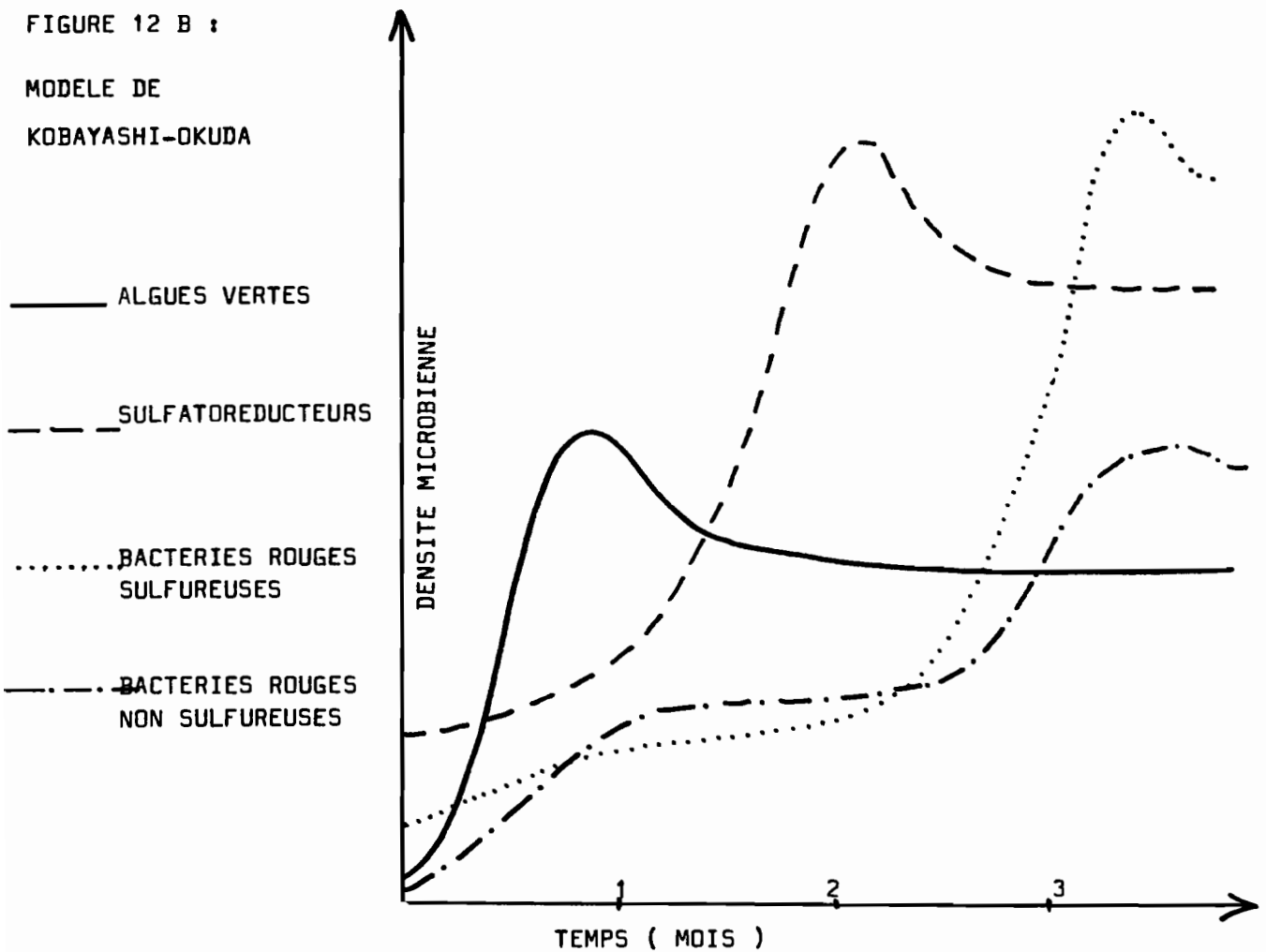


FIGURE 13 : PERCOLATION DU SOL (MILIEU NON RENOUVELE)

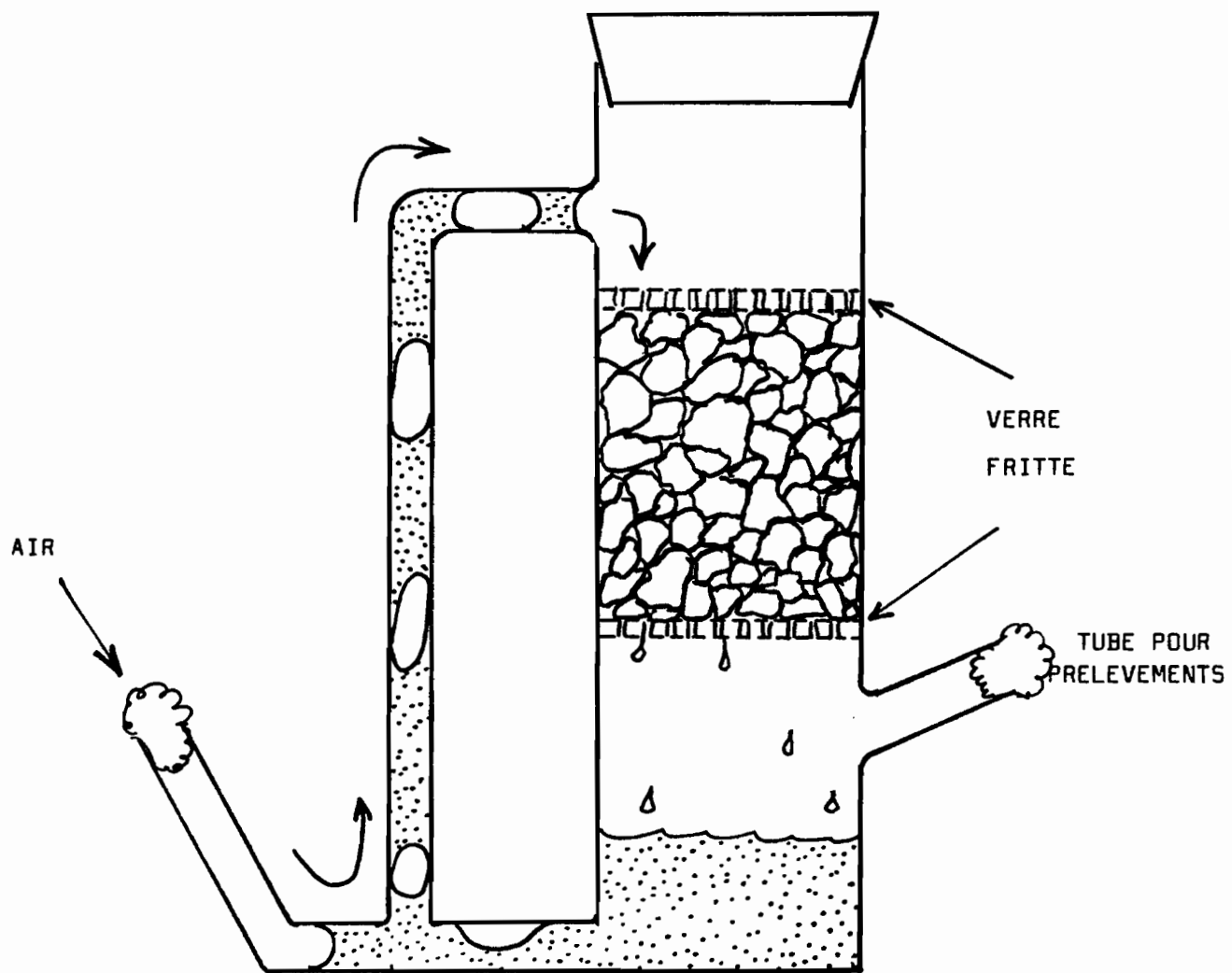


FIGURE 14 : DEGRADATION AEROBIE DU GLUCOSE EN PERCOLATION CONTINUE PAR
UNE SOLUTION RENOUVELEE

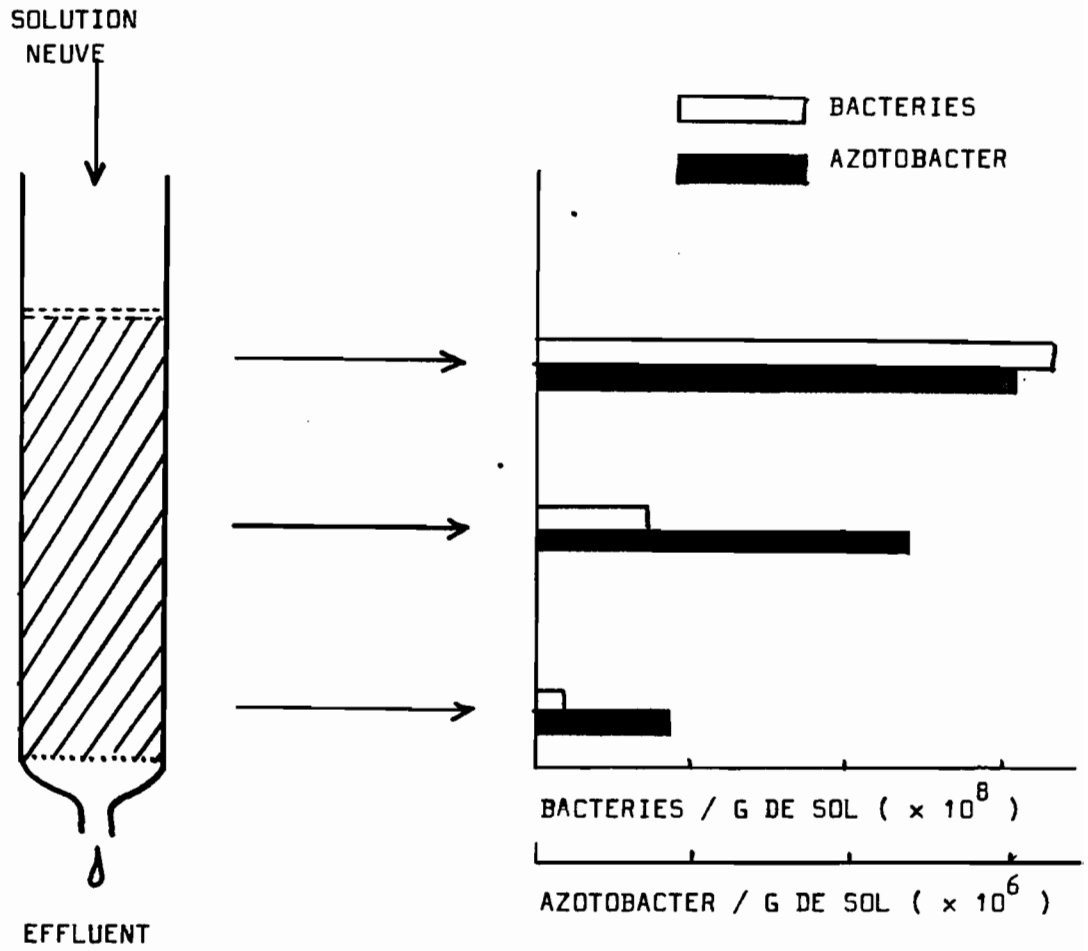
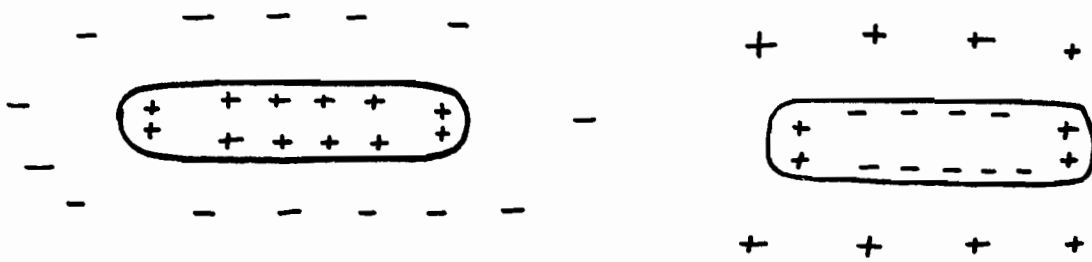
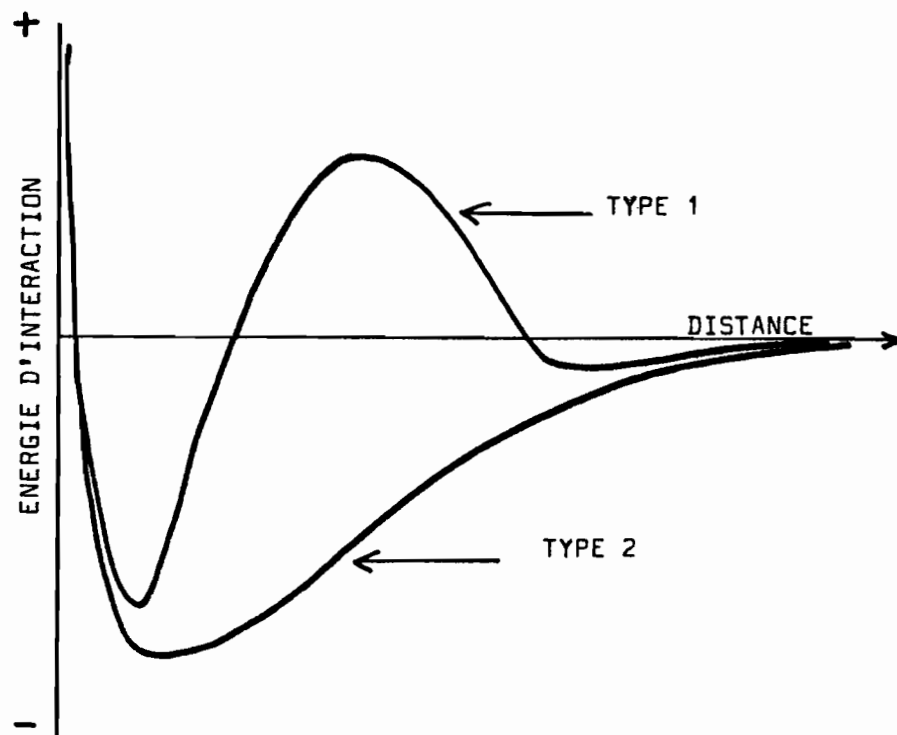


FIGURE 15

DOUBLE COUCHE DE CHARGES ELECTROSTATIQUES



ENERGIE D'INTERACTION EN FONCTION DE LA DISTANCE



COUCHE ELECTROSTATIQUE AUTOUR D'UNE BACTERIE ADSORBEE SUR RESINE

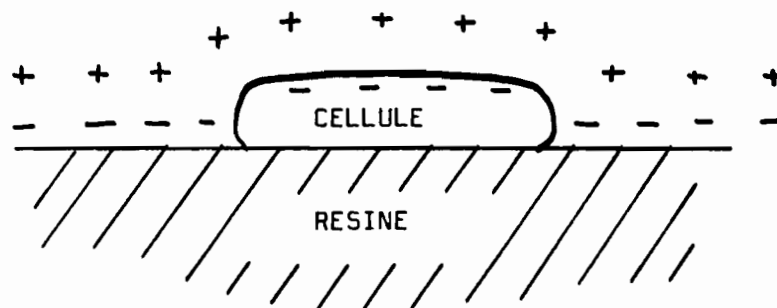


FIGURE 16 : DIVERS TYPES D'ASSOCIATIONS ARGILES-MICROORGANISMES

N_1 = NOMBRE DE PARTICULES D'ARGILE

N_2 = NOMBRE DE MICROORGANISMES

$N_1 > 1$
 $N_2 = 1$

COMPLEXE



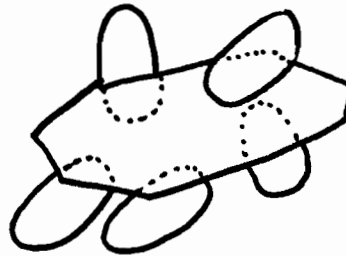
$N_1 = 1$
 $N_2 = 1$

COMPLEXE



$N_1 = 1$
 $N_2 > 1$

COMPLEXE



$N_1 > 1$
 $N_2 > 1$

AGREGAT

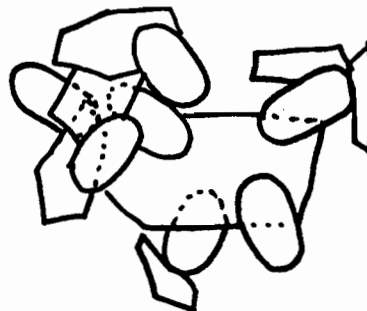
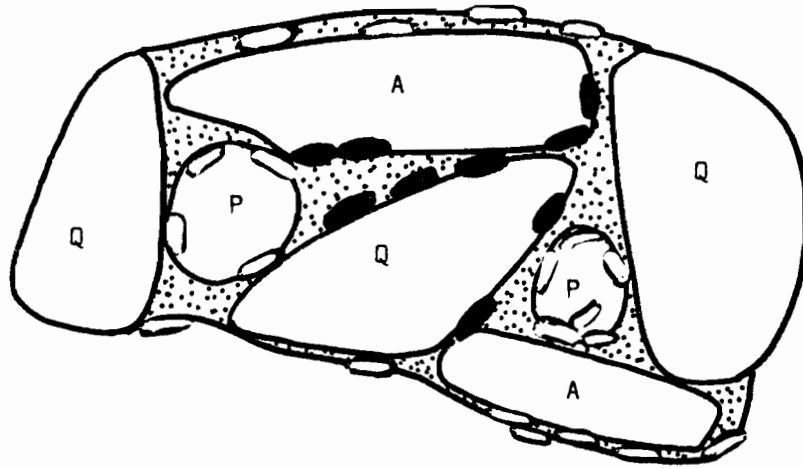


FIGURE 17 : MODELES D'AGREGATS DE SOL



SUIVANT GREENWOOD

● MATIERE ORGANIQUE

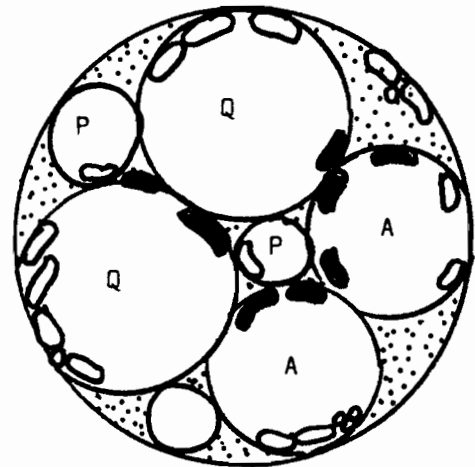
○ BACTERIES EXTERNES

● BACTERIES INTERNES

A = ARGILE

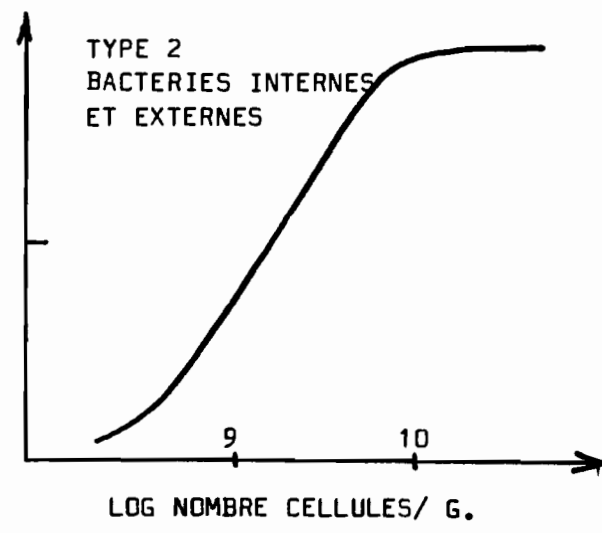
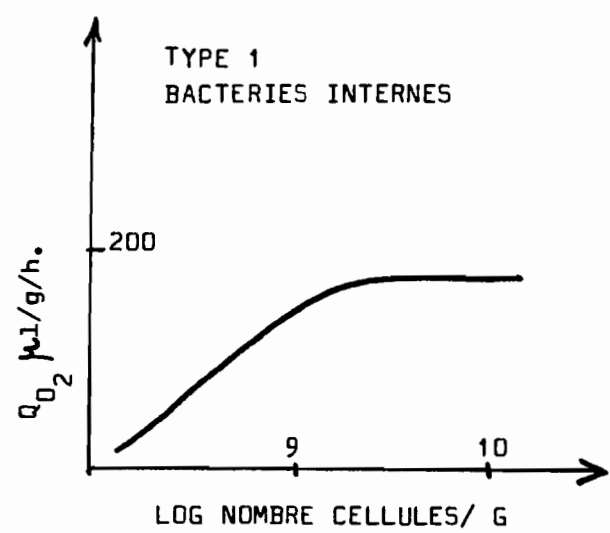
Q = QUARTZ

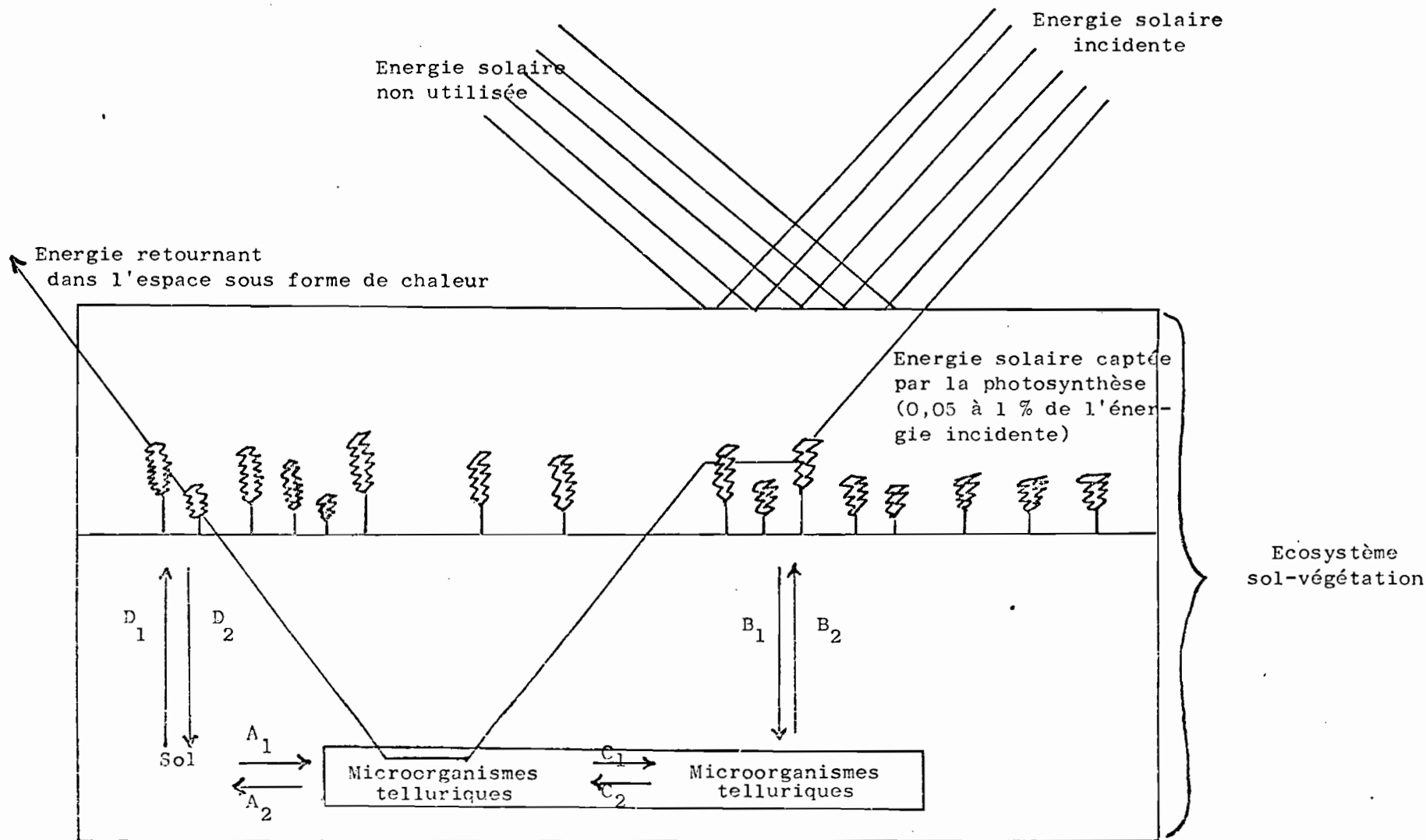
P = PORE



SUIVANT HATTORI

RESPIRATION DES AGREGATS

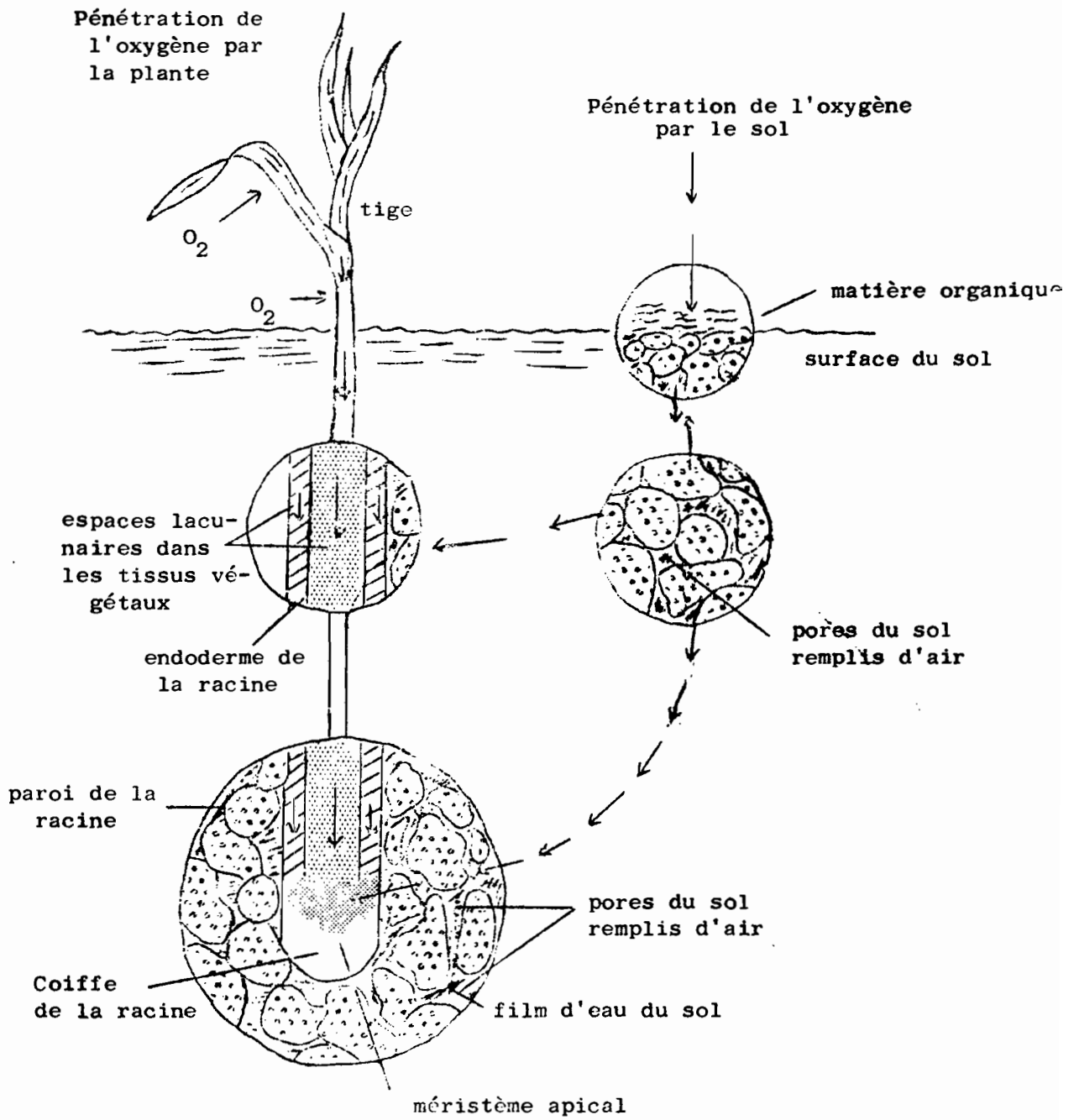




Rôle des microorganismes dans l'écosystème sol-végétation

Les microorganismes telluriques interviennent (1) à l'intérieur de l'écosystème sol-végétation en tant qu'agents actifs ou passifs dans les systèmes d'interactions qui se manifestent entre le sol (considéré comme milieu physico-chimique), la végétation et eux-mêmes (interactions A₁ A₂ ; B₁ B₂ ; C₁ C₂), (2) en tant qu'agents principaux du retour dans l'espace de l'énergie captée par la photosynthèse. Les interactions D correspondent aux interactions entre le sol (milieu physico-chimique) et la végétation.

FIGURE 19



LES DEUX VOIES DE PENETRATION DE L'OXYGENE DANS LE SOL

FIGURE 20 : CYCLES DU CARBONE ET DE L'OXYGENE

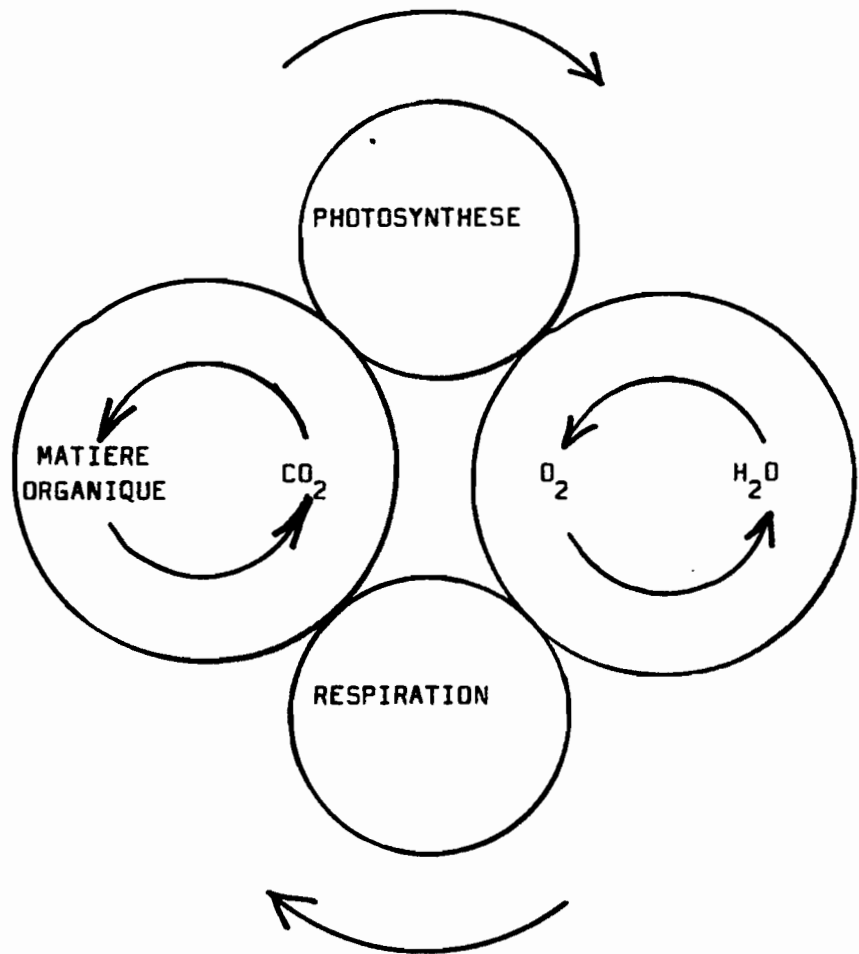
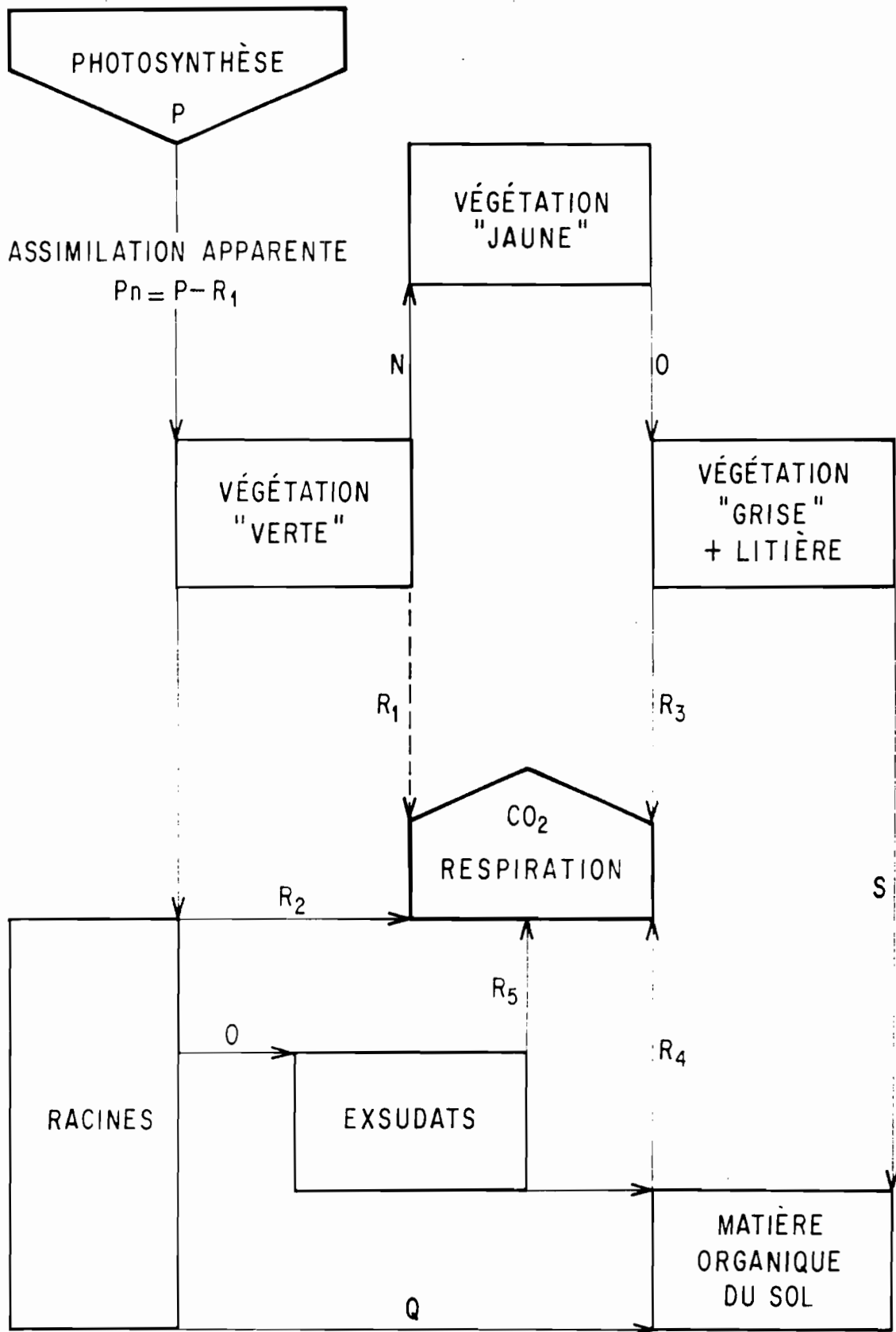


FIGURE 27





- Schéma général de la circulation du carbone dans un écosystème prairial.  , entrée,  , sortie, \longrightarrow , circulation de matière entre les différents compartiments et de retour vers l'atmosphère par respiration : N et O, sénescence et mort du feuillage, S et Q, incorporation au sol des litières aériennes et racinaires, R1 et R2, respiration d'origine végétale, R3 , R4 et R5, respiration d'origine microbienne.

FIGURE 22 : DECOMPOSITION DES RESIDUS VEGETAUX ET FORMATION DES COMPOSES HUMIQUES

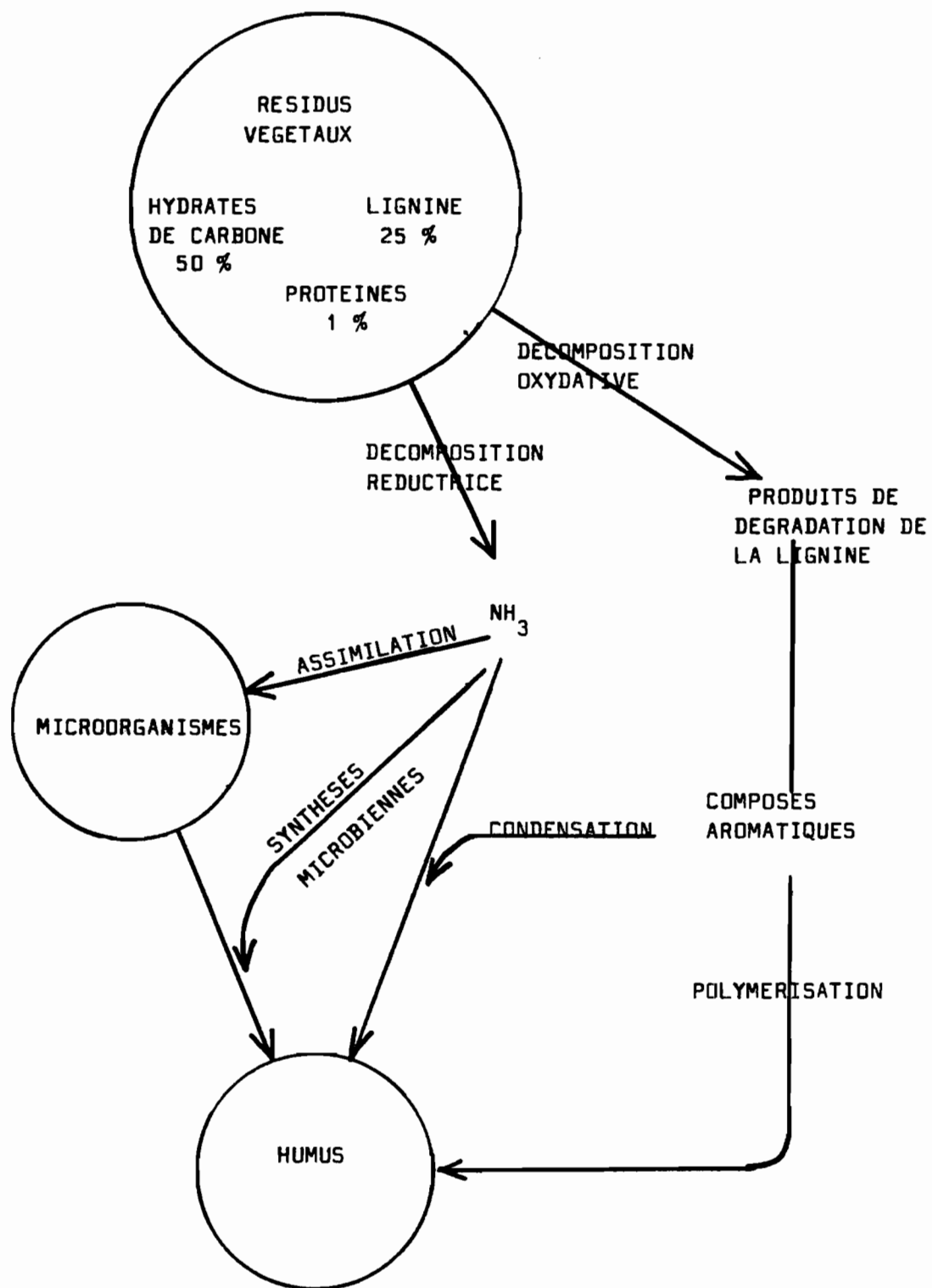


FIGURE 24 A : INTERACTIONS ENTRE NITRIFICATION, DENITRIFICATION ET
FIXATION D'AZOTE

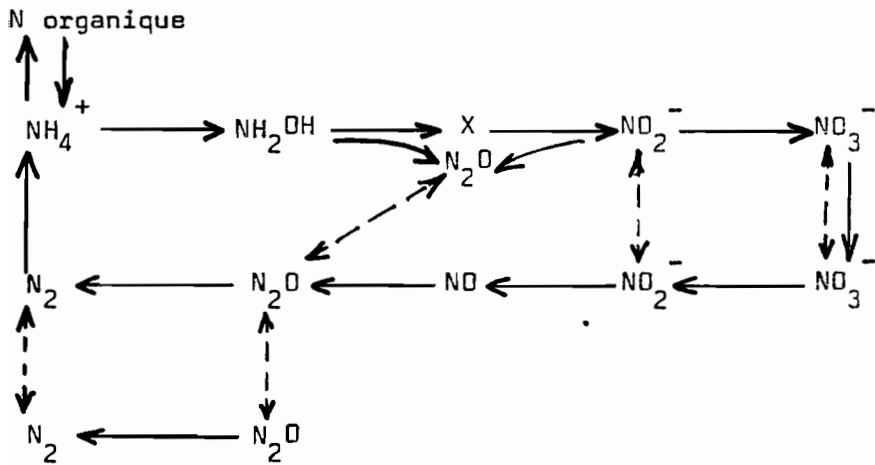


FIGURE 24 B : REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN AGREGAT DE SOL
ECHANGES DES COMPOSES OXYGENES DE L'AZOTE

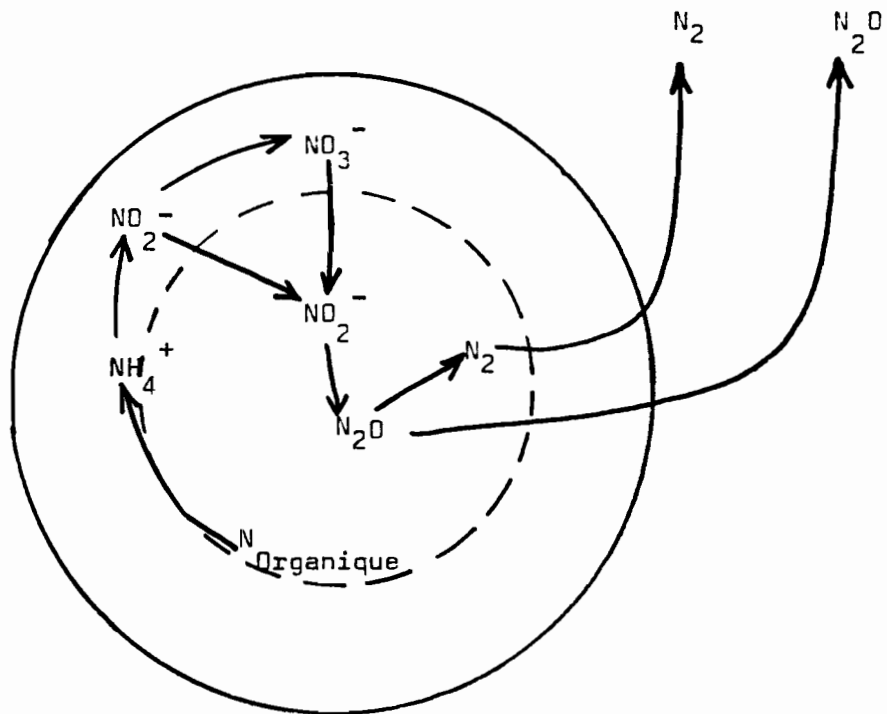


FIGURE 25 : CYCLE DU PHOSPHORE DANS L'ECOSYSTEME SOL-PLANTE

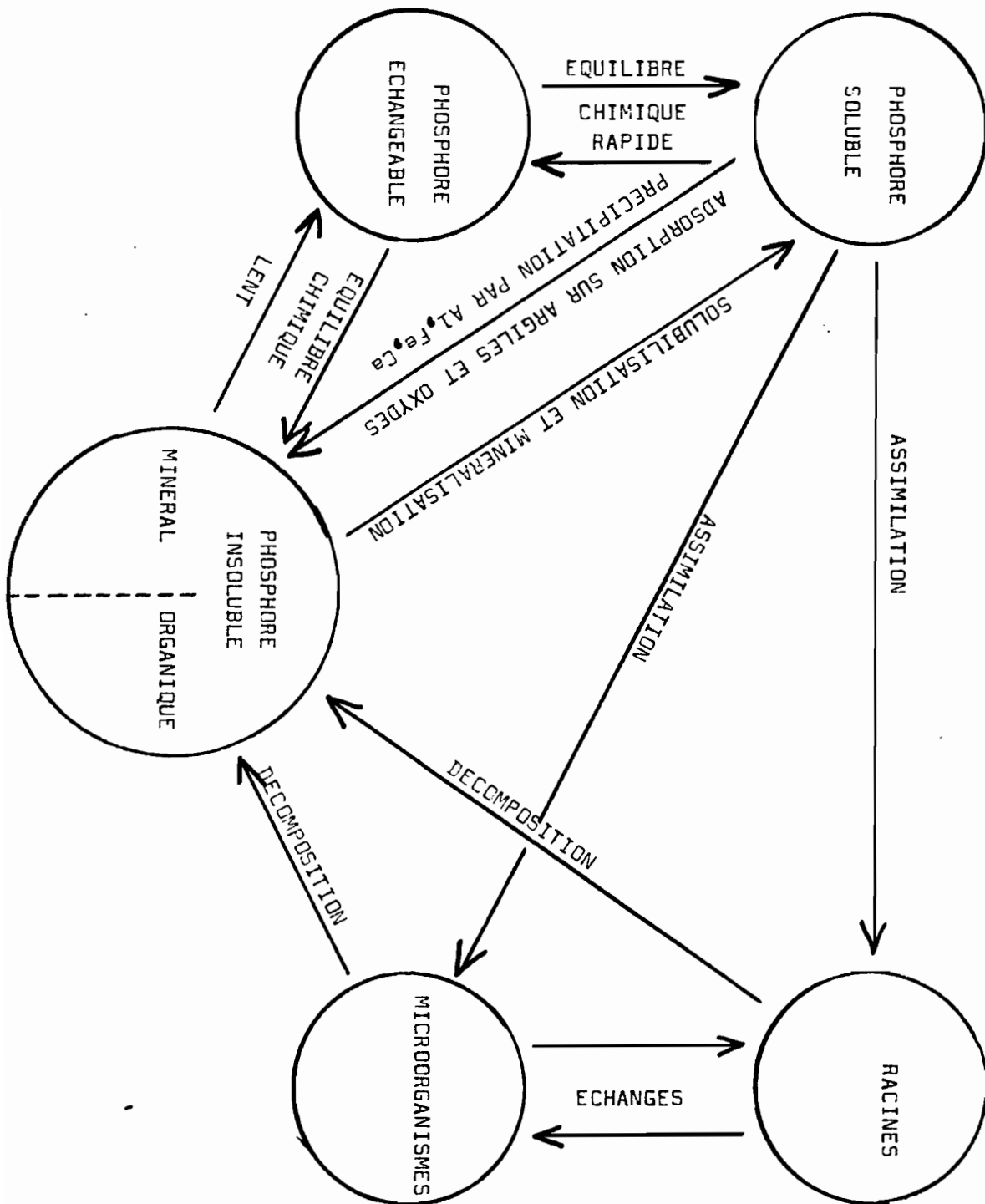


FIGURE 26 : CYCLE DU SOUFRE DANS L'ECOSYSTEME SOL-PLANTE

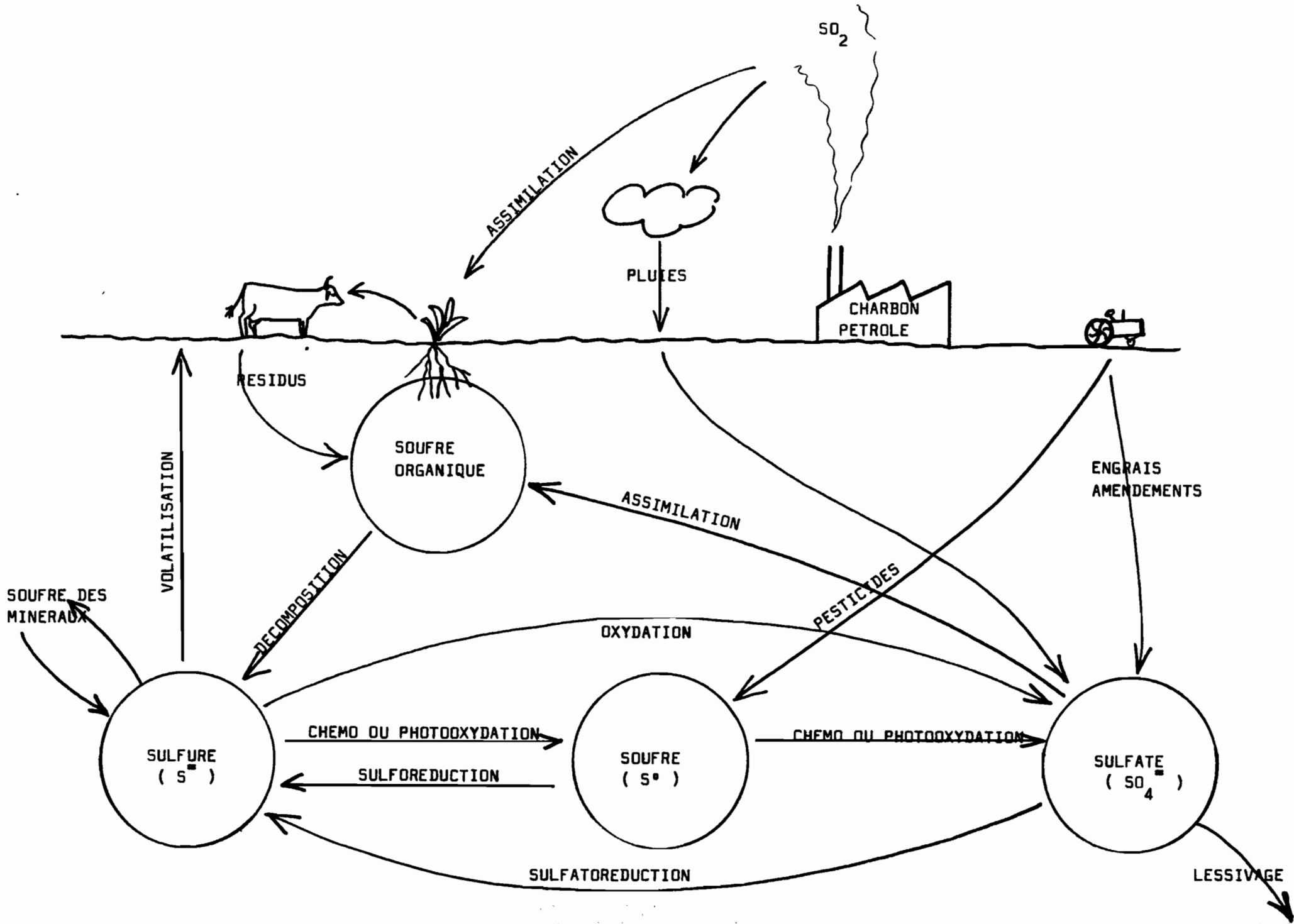
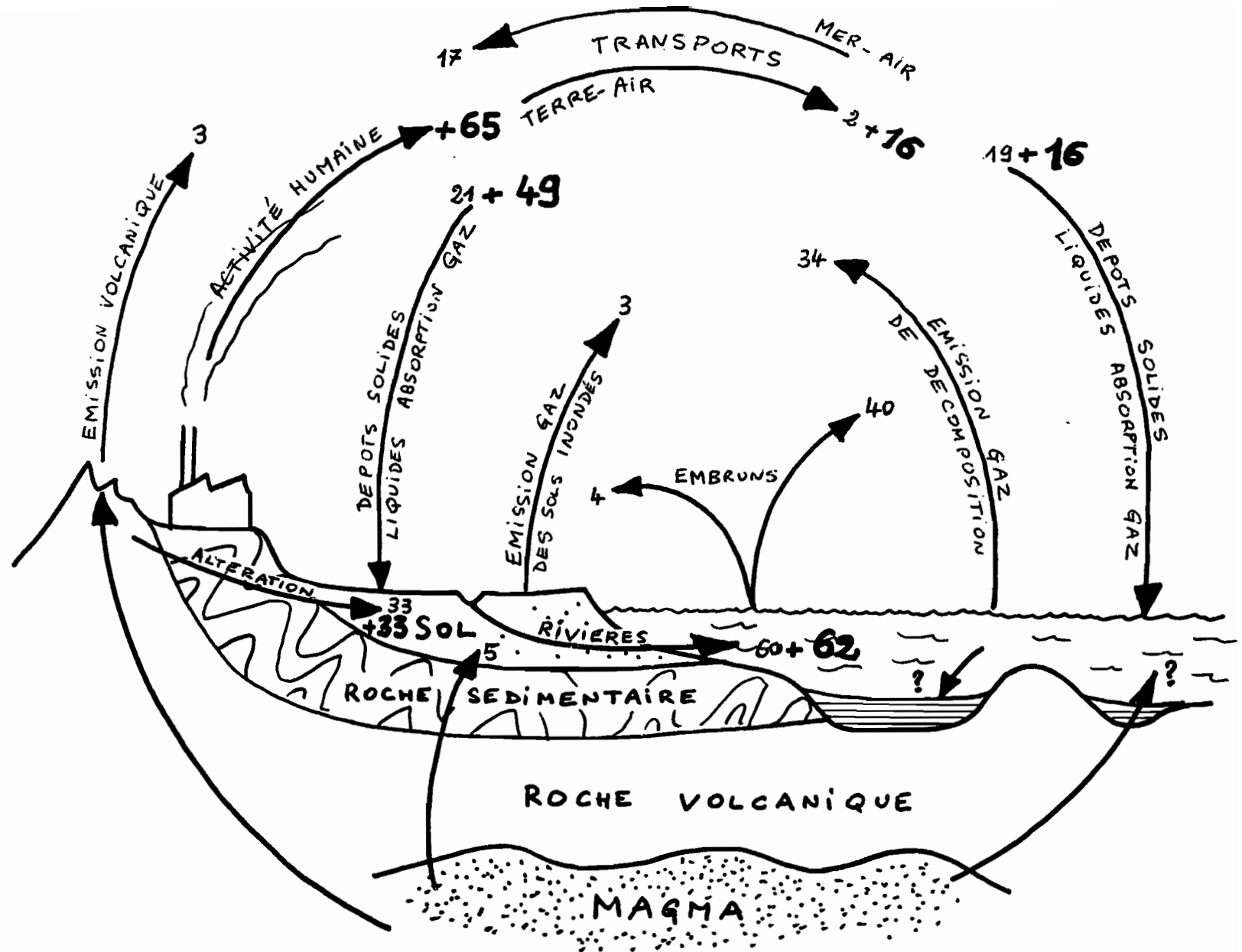


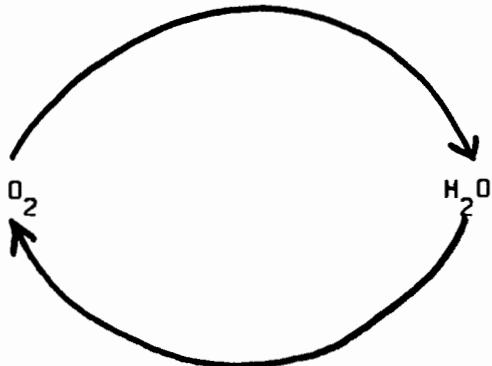
FIGURE 27 : CYCLE GLOBAL DU SOUFRE DANS LA BIOSPHERE



21 : petits caractères : estimation du flux avant que l'activité humaine n'ait une influence mesurable
+49 : gros caractère : estimation de la part due à l'activité humaine
 ESTIMATIONS EN $Tg \text{ an}^{-1}$ (tonnes $\times 10^6$ par an)

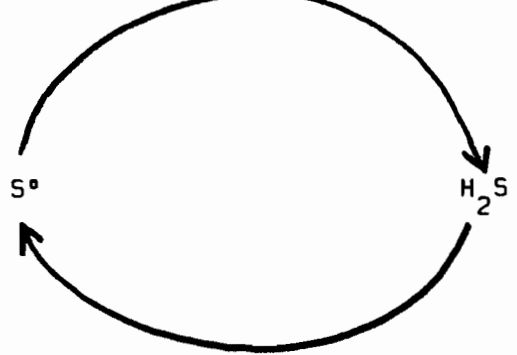
FIGURE 28 : EQUIVALENCES ENTRE OXYGENE ET SOUFRE , EAU ET SULFURE

RESPIRATION DE L'OXYGENE
PAR LES HETEROTROPHES



PHOTOSYNTHESE AEROBIE
PAR LES PLANTES

RESPIRATION DU SOUFRE
PAR DESULFURONAS



PHOTOSYNTHESE ANAEROBIE
PAR LES BACTERIES VERTES

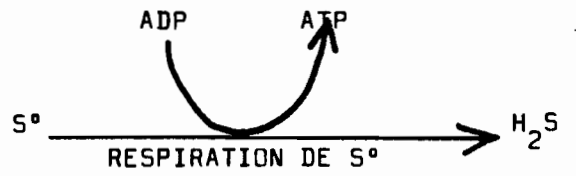
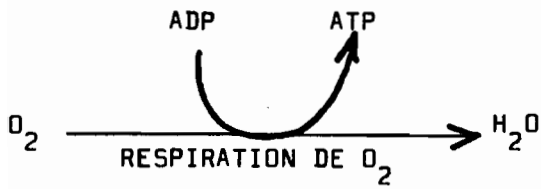
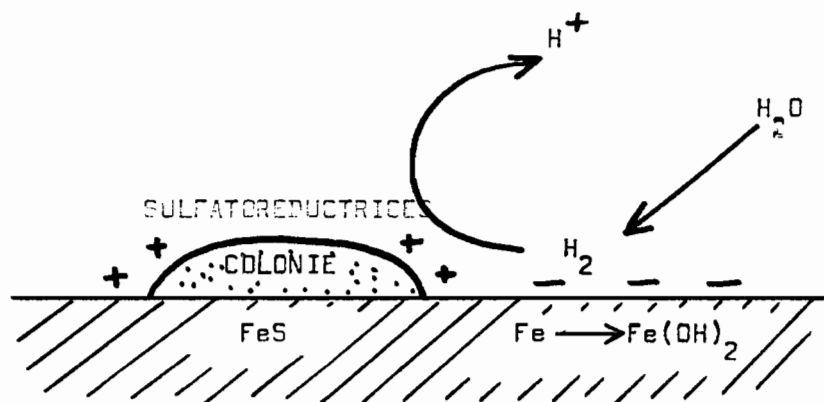


FIGURE 29 : CORROSIONS DUES AUX BACTERIES DU SOUFRE

A : CORROSION DU FER PAR LES BACTERIES SULFATOREDUCTRICES

- 1 : ANODISATION AU CONTACT DE S²⁻
- 2 : CATHODISATION A COTE : PRODUCTION D'H₂
- 3 : OXYDATION D'H₂ PAR L'HYDROGENASE DES SULFATOREDUCTRICES
- 4 : ATTAQUE DU FER NON PROTEGE



B : CORROSION DU CIMENT PAR LES THIOBACILLES

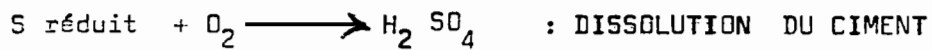
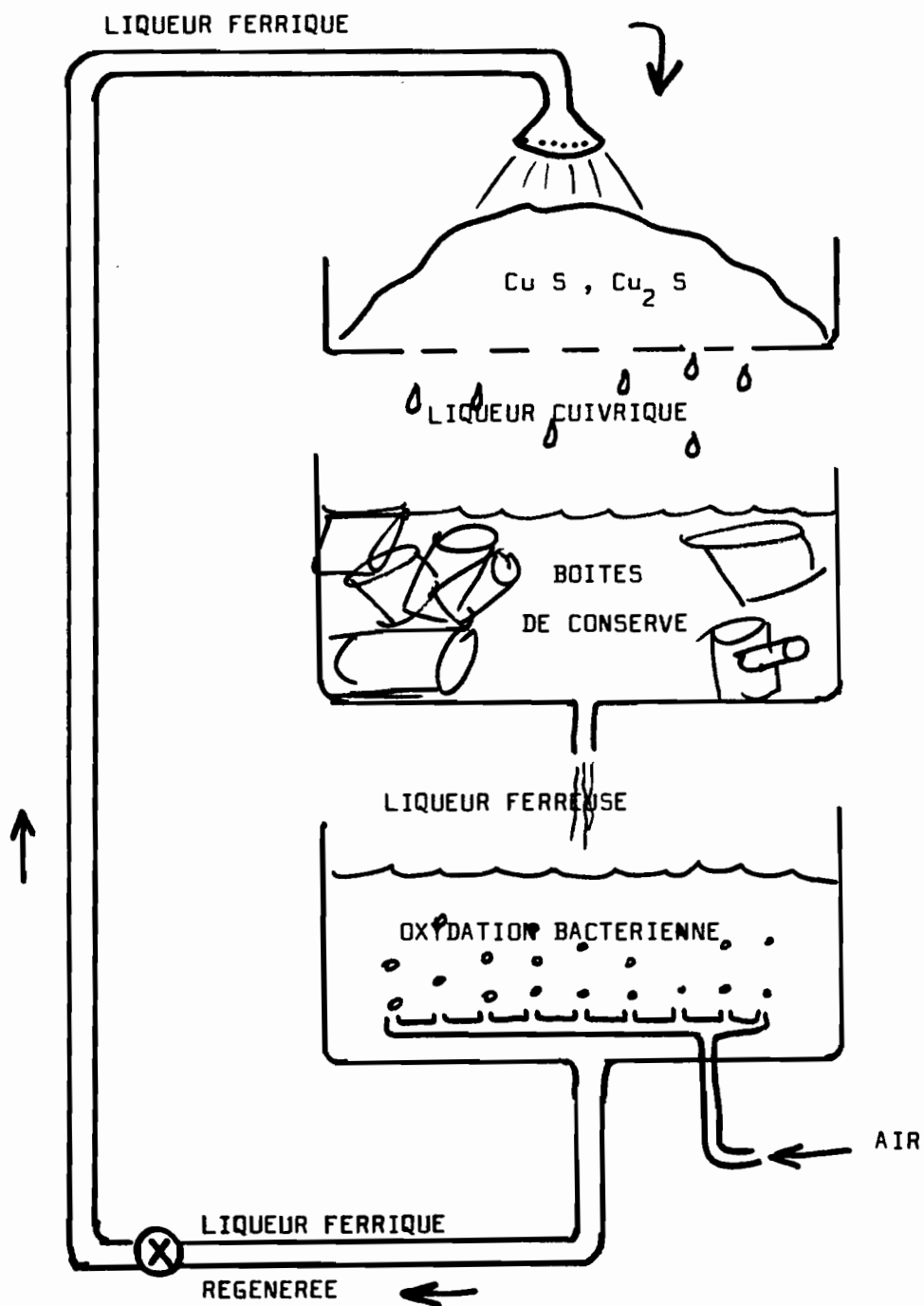


FIGURE 30 : EXTRACTION CU CUIVRE PAR LIXIVIATION BACTERIENNE



Figures adaptées à partir des ouvrages suivants

- 1 : HATTORI , 1973 . Microbial life in the soil : an introduction . Marcel Dekker Inc. , New York
- 2, 3 et 4 : idem
- 5 : SENEZ , 1968 . Microbiologie Générale . Douin , Paris
- 6 : HATTORI
- 7 : ROGER , 1977 . Communication personnelle
- 8 : HATTORI
- 9 : SENEZ
- 10 à 17 compris : HATTORI
- 18 : MOUREAUX , 1972 . Cours de Microbiologie du sol , ORSTOM , Paris
- 19 : LUXMOORE et. al. , 1970 . Oxygen diffusion in the soil-plant system . Agronomy, 62 , 317-332
- 20 : STANIER , DOUDOROFF , ADELBERG , 1970 . The microbial world (3 ème édition) Prentice Hall Inc. USA
- 21 : WAREMBOURG , 1977 . Les flux de carbone dans la végétation, la rhizosphère et le sol de formations herbacées marqués avec du C¹⁴ . Thèse doctorat d'état , Université du Languedoc, Montpellier .
- 22 : PAUL , 1970 . Plant components and soil organic matter . in " recent advances in phytochemistry , 3 , 59-104
- 23 : TERMAN , 1978 . Atmospheric sulphur . The Sulphur Institute, Bul²³
- 24 : KNOWLES , 1978 . Common intermediates of nitrification and denitrification , and the metabolism of nitrous oxide . in " Microbiology-1978 " , Ed. David SCHLESSINGER , ASM, Washington D.C.
- 25 : HAYMAN , 1975 . Phosphorus cycling by soil microorganisms and plant roots . in " Soil microbiology : a critical review . Ed. WALKER , Butterworths, London .
- 26 : TERMAN
- 27 : T. ROSSWALL , 1976 . Nitrogen, Phosphorus and Sulphur . Global cycles . SCOPE Report 7 , NFR Ed. Service . Suède .
- 28 : PFENNIG , BIEBL , 1976 . Desulfuromonas acetoxydans , a new anaerobic, sulfur-reducing, acetate-oxidizing bacterium . Arch. Microbiol. 110 , 3-12

Baldensperger Jacques. (1978).

Cours de Microbiologie.

Bondy : ORSTOM, IX-154 p. multigr.