République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Yahia Farès de Médéa

Faculté des Sciences

Polycopié de cours de Microbiologie de l'environnement

Selon le programme pédagogique officiel du 3ème Année Licence Microbiologie, Science Biologique, SNV.

Dr. BOUHERAMA Amina
Maître de conférences B
Département Science de la nature et de vie –SNV-

Validé par le conseil scientifique de la faculté des sciences à .....
Numéro de série: .....

Année universitaire 2021-2022

Ce polycopié a été expertisé par:

1. Abedrahmani Ahmed, Professeur, FSB-USTHB.
2. Khames Maamer, MCA Faculté des Sciences,Université Yahia Farès-Médéa .

Avant propos

La microbiologie de l'environnement consiste à l'étude de la biodiversité microbienne d'un écosystème et la place et le rôle des microorganismes dans un habitat (environnement) ainsi que les interactions des microorganismes entre eux et avec leur milieu.

Ce polycopié est destiné aux étudiants de Licence en Microbiologie Appliquée et toute personne qui s'intéresse à la microbiologie. Il est constitué de cinq chapitres, le premier chapitre concerne les interactions des microorganismes entre eux et avec d'autres composants d'un écosystème, l'étude de la diversité, la densité et le fonctionnement des microorganismes dans leurs habitats (environnement). Ce chapitre est une introduction à tous les chapitres suivants. Le second chapitre est consacré aux microorganismes habitant les systèmes aquatiques que soit les eaux douces ou les eaux salines. Le chapitre trois concerne les milieux terrestre, il est réparti en trois grandes parties : Le sol, la rhizosphère et l'endosphère. Le quatrième chapitre s'intéresse à l'environnement de l'air ou l'analyse de la composante microbienne de l'ambiance représenté par l'air intérieur. Le dernier chapitre est consacré au microbiote intestinal, sa composition, son rôle et son effet sur la santé de l'homme.

« **Le microbe n'est rien, le terrain est tout** »

Venessa celli

Liste des figures

Figure 1.	**Classification des zones en fonction de la température**	**8**
Figure 2.	**Les étapes de la formation d'un biofilm**	**10**
Figure 3.	**Composition et structure des biofilms bactériens**	**10**
Figure 4.	**Structure de la chaine trophique et rôle des niveaux trophiques**	**12**
Figure 5.	**Schéma de la boucle microbienne et chaine trophique dans les milieux aquatiques**	**11**
Figure 6.	**Relation entre la microbiologie du sol et les autres disciplines**	**21**
Figure7.	**Schéma de la contribution des microorganismes au cycle de la matière organique au sol**	**24**
Figure8	**Modes d'action des bactéries promotrices de croissance des plantes**	**26**
Figure 9.	**Etapes de reconnaissance entre les deux partenaires ; légumineuses-Rhizobia**	**29**
Figure 10.	**Les mécanismes de solubilisation/minéralisation du phosphore**	**31**
Figure 11.	**Les différents mécanismes de solubilisation du potassium**	**31**
Figure 12.	**Rôle des PGPR productrices de sidérophores dans la disponibilité du fer pour la plante**	**32**
Figure 13.	**Les étapes de la mise en place de la mycorhization**	**38**
Figure 14.	**Conditions écologiques abiotique et microbiote peuplant les différentes niches de l'intestin**	

Liste des tableaux

Tableau I.	**Normes de qualité microbiologique des eaux potables selon les normes algériennes**	**18**
Tableau II.	**Rôle de quelque microorganismes dans le sol**	**24**
Tableau III	**Rôle des phytohormones et les bactéries productrices**	**33**
Tableau IV	**Les maladies à transmission aérienne**	**48**

Sommaire

Avant propos

Liste des figures

Liste des tableaux

Chapitre 1. Introduction à la microbiologie de l'environnement	
1. Définitions	1
2. Importance de l'étude de la microbiologie de l'environnement	1
3. Interactions microorganismes-environnement	1
4. Etude d'une communauté microbienne	3
Chapitre 2. Microbiologie de l'eau	
1. Catégories des ressources hydriques	5
2. Milieux aquatiques salins	6
3. Milieux aquatiques douces	17
4. Les maladies d'origine hydriques	18
Chapitre 3. Microbiologie des systèmes terrestres	
I. Sol	
1. Définition et propriété	21
2. Fonctions	23
3. Communautés microbiennes	23
II. Rhizosphère	
1. Définition	25
2. Structure	25
3. Communauté microbienne rhizosphérique	25
4. Facteurs influençant la structure des communautés microbiennes rhizosphérique	39
III. L'endosphère	
1. Définition et diversité	42
2. Colonisation	42
Chapitre 4. Microbiologie de l'air	
1. Air de l'extérieur	42
2. Air de l'intérieur	47
Chapitre 5. Microbiote intestinale	
1. Microbiote	53
2. Microbiote intestinal	53
3. Pharmacobiotique	56
Références	57

Chapitre I. Introduction à la microbiologie de l'environnement

Introduction

Bien que la planète terre existe depuis plus de 4.5 Milliards d'années, les microorganismes existaient 2 milliards d'années avant l'homme. Les microorganismes occupent l'ensemble de la croute terrestre, la totalité de la masse aqueuse et l'atmosphère. Cette forte colonisation est due à une extraordinaire adaptabilité à la fois génotypique et phénotypique.

1. Définitions

Ecologie : Est la science qui étudie les écosystèmes.

Ecosystème : Est un système dynamique constitué par un grand nombre d'individus dans un milieu et qui se maintient et se régularise grâce à de très nombreuses relations entre ses composants.

Niche : C'est l'ensemble des activités spécifiques d'un organisme qui concernent son rôle ou sa fonction dans une communauté et dans un habitat.

Habitat : est un environnement qui peut être vivant ou non, mais ne réagisse pas avec les organismes habitant.

Biofilm : En absence d'un habitat structuré, les microorganismes tendent à créer leur propres microenvironnement ou niche. Il s'agit de systèmes microbiens organisés.

2. Importance de l'étude de la microbiologie de l'environnement

La microbiologie de l'environnement est un domaine de recherche qui consiste à l'inter relation entre l'environnement, l'évolution et l'écologie. Et s'intéresse aux processus microbiens globaux qui se déroulent dans un environnement donné. Elle a pour buts :

- Comprendre et déterminer la diversité microbienne de chaque environnement.
- Déterminer leur abondance.
- Déterminer leur fonctionnement et le mode de vie.
- Déterminer les facteurs affectant et contrôlant leur activité et leur abondance.
- Déterminer leur effet physique et chimique sur leur environnement.

3. Interactions microorganismes-environnement

La relation micro-organismes-organismes, animale ou végétale, est une relation complexe. Un équilibre potentiellement évolutif est sous l'effet de nombreux facteurs. L'hôte est définit comme étant le partenaire qui héberge. La nature de la relation permet de distinguer deux types majeurs, qui sont : le saprophytisme et la parasitisme.

- **Le saprophytisme**

Les microorganismes saprophytes se trouvent libres dans les différents environnements et ne dépendent pas d'un hôte. Ils utilisent la matière organique morte (cadavres/débris des végétaux) comme source d'énergie et des éléments nutritifs.

- **Le parasitisme**

Les microorganismes parasites vivent au dépend de l'hôte et profite de cette relation. Le parasite établisse des liens avec l'hôte pour satisfaire des besoins nutritionnels ou réaliser des conditions de vie optimales.

- **Commensalisme**

Le commensalisme est une interaction dominante dans le sol rhizosphérique. Les activités d'un micrrorganisme a pour but de créer un climat favorable pour le développement et la survie d'un autre. Aussi, certains organismes qui possèdent la capacité de dégrader ou neutraliser des substances toxiques favorisant ainsi la croissance des autres organismes ou microorganismes.

- **Mutualisme**

Le mutualisme ou la symbiose est une interaction a effet bénéfique réciproque.

Exemple : la relation symbiotique entre les légumineuses, un groupe de plante diversifié, qui offrent un habitat pour un groupe de bactéries BNL (Bactéries Nodulant les légumineuses) et en retour ce dernier fixe l'azote atmosphérique et le rend sous une forme assimilable pour la plante.

- **Antagonisme**

Le principe de l'activité antagoniste est basé sur la diffusion de l'agent antagoniste (antimicrobienne) dans des milieux liquides et solides pour inhiber la croissance des microorganismes pathogènes ou non.

L'antagonisme peut se distinguer en plusieurs activités : une compétition, un hyperparasitisme, une production de métabolites primaires ou secondaire ou par une antibiose.

La compétition peut exister entre deux ou plusieurs microorganismes dans le même environnement que soit pour les nutriments, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour la croissance.

La dominance du champignon du genre *Fusarium* au niveau du sol rhizosphérique serait due au son pouvoir compétitif élevée grâce à l'arsenal enzymatique qu'il possède.

4. Etude d'une communauté microbienne

Les microorganismes sont un groupe diversifié d'organismes qui se répartissent sur 3 domaines : Procaryotes, Eucaryotes et Archaebactéries.

L'étude d'une communauté microbienne consiste à déterminer sa structure (diversité), son fonctionnement et sa physiologie.

La diversité repose sur 2 points essentielles, la composition des membres de la communauté et la richesse ou l'abondance.

L'étude de la diversité microbienne a connu une évolution dans le temps, et peut suivre deux approches :

Approches classique : dite aussi phénotypique ou taxonomique. Elle est basée sur l'isolement, la mise en culture, la caractérisation morphologique et physiologique.

Elle a pour but de regrouper les isolats en taxons et puis les classer. Les principaux taxons sont : espèce, genre, famille, ordre, classe, embranchement ou phylums et règnes.

Approches moléculaire : C'est l'ensemble des techniques basées sur le séquençage du matériel génétique. Elle a commencé dans les années 70, avec le séquençage de Sanger qui repose sur l'identification des espèces. Récemment des méthodes de séquençage dites à haut débit ou encore NGS (Nouvelle génération de séquençage) ou aussi la étude méta génomique. Elle a pour but d'étudier les voies métaboliques afin de déduire les fonctions globales d'un écosystème basant sur l'expression des gènes (Méta-transcriptomique) ou sur la production des protéines (Méta_Proteomique) permettant ainsi d'avoir des connaissances sur la dynamique fonctionnelle des communautés microbienne.

En Ecologie, une communauté est généralement définie comme un ensemble de populations, i.e. d'individus de différentes espèces qui coexistent en même temps et au même endroit. Mais cette définition est trop générale pour être appliquée directement aux communautés bactériennes. L'écologie microbienne a attribué le terme communauté pour désigner des assemblages d'espèces bactériennes qui sont en interaction dans un même écosystème, milieu, habitat et/ou qui partagent une même fonction.

Chapitre II. La microbiologie de l'eau

Introduction

L'eau est un nom féminin, au latin veut dire « aqua », qui a donné le mot aquatique, et en grec, l'eau est définie par le mot *« hydros »*, et qui a donné le mot hydrique ou hydrologie. L'eau est un corps incolore, inodore, insipide, et de pH neutre. Elle est sous l'état liquide en conditions standards de température et de pression atmosphérique, mais peut exister sous une forme solide après solidification à une température de 0°C, ou sous une forme gazeuse par évaporation à une température de 100°C.

L'eau est une molécule à une composition simple, elle est formée de deux atomes d'hydrogène et une atome d'oxygène (H_2O), cette structure a été découverte en 1785 par Lavoisie et qui a pu la synthétiser plus tard.

L'eau est le support de toute vie, elle présente une nécessité d'existence des êtres humains, elle présente plus de 70% de la cellule.

1. Catégories des ressources hydriques

Les ressources en eau peuvent être classées en trois types : les eaux de pluie, les eaux de surface et les eaux souterraines.

1.1. Les eaux de pluie

Les eaux de pluie se sont les eaux qui forment des ressources stockées dans les barrages ou les impluviums et qui sont considérées comme pure sur le plan microbiologique et pauvres en éléments chimiques indispensables à la santé sur le plan chimique.

1.2. Les eaux de surface

Les eaux de surface sont classées en deux catégories : Les eaux salées et les eaux douces. Les eaux salées représentées par les mers et les océans sont les grandes masses car elles recouvert les deux tiers de la surface du globe terrestre, et elles représentent prés de 97.4% de la capacité des grands réservoirs d'eau à la surface de la terre.

Le deuxième type d'eau de surface est l'eau douce, elle ne présente que 2.5% de la totalité des eaux de surface (AMH journée mondiale de l'eau, 2003). Les eaux douces sont l'ensemble des eaux qui coulent ou qui stagnent (lacs, rivière, étangs, barrages,…..). Elles ont pour origine, soit les nappes souterraines dont l'émergence constitue une source, soit les eaux de ruissellement.

Ces eaux sont le siège, dans la plus part des cas, d'un développement d'une vie microbienne à cause des déchets rejetés dedans et de l'importante surface de contact avec l'extérieur.

1.3. Les eaux souterraines

Les eaux souterraines représentent une source importante en eau potable grâce à leur position au sol qui leur confère une protection contre les pollutions organiques ou chimiques. La composition et la qualité des eaux souterraines sont liées à la nature du sol.

Les eaux souterraines sont moins sensibles aux pollutions accidentelles mais la croissance démographique non contrôlées et l'intensification de l'industrie et de l'agriculture entrainent un grand problème de détérioration de la qualité de cette source souterraine.

2. Milieux aquatiques salins

Les milieux aquatiques salins représentent la grande majorité des ressources hydriques sur la planète terre. Ce sont l'ensemble des océans (Fig.1) et les mers.

L'étude des milieux aquatiques salins consiste à l'étude des écosystèmes aquatiques c'est-à-dire les facteurs environnementaux et les organismes habitants.

2.1. Paramètres biotiques

L'étude des relations des êtres vivants avec leur milieu nécessite la connaissance des paramètres abiotiques tels que la température, le pH, la salinité, la transparence, la turbidité et la teneur en oxygène dissous et les éléments nutritifs.

La température est un paramètre très important dans les écosystèmes hydrique. Elle est déterminée par une stratification thermique.

Une **stratification thermique** est la répartition verticale de la température dans les fluides. Ce qui permet une classification en zones en fonction de leur température en couche de surface, couche thermocline et couche profonde (Fig.1).

Les eaux de surface, chauffées par le soleil peuvent avoir une température de 30°C ou de -2°C tout dépend la zone et la saison, alors que les eaux profondes sont très froides. La couche thermocline est de 200 à 1000 m d'épaisseur, dans laquelle la température décroît rapidement avec la profondeur (sauf aux grandes latitudes où la température de surface est voisine de celle du fond).

La salinité (exprimé en ‰ ou en p.s.u) d'une eau correspond à la masse en grammes de substances dissoutes dans un Kg d'eau. **L**es variations sont en apparence très faibles : 50 % de l'eau de mer a une salinité comprise entre 34,6 et 34,7 ‰ (C'est-à-dire 34,6 g/l d'eau de mer). En surface, on rencontre des eaux plus salées dans les zones tropicales (jusqu'à 37‰) et moins salées aux hautes latitudes (environ 33 ‰).

L'oxygénation (exprimé en $mg.l^{-1}$) des milieux aquatiques est le résultat d'une dissolution directe de l'oxygène atmosphérique à travers la photosynthèse des produits autotrophes et les végétaux aquatiques, et elle est sous l'influence des mouvements de l'eau.

La dissolution directe de l'oxygène est limitée par deux facteurs : les températures élevées et les basses pressions. Le pourcentage d'oxygène dissout peut attendre un pic de l'ordre de 170%, lorsqu'il y a un bloom de phytoplancton.

Le pH est l'abréviation du mot **Potentiel Hydrogène**. Le pH mesure l'acidité et la basicité de l'eau. Dans les écosystèmes aquatiques, le pH dépend de la quantité du carbone dissous. Il est un indicateur partiel de l'activité photosynthétique. En effet, une eau de mer normale a un pH de 8.1 à 8.3 environ qui est maintenu par le CO2 absorbé de l'air sous forme de bicarbonate. En effet, les valeurs maximales de pH coïncident avec le développement du phytoplancton, de l'activité photosynthétique de la flore algale (marée verte).

La pression, elle augmente de 10^5 Pa (1atmosphère) tous les dix mètres. Ceci est la conséquence directe de la masse volumique de l'eau de mer (en moyenne 1028 kg/m^3) qui est près de huit cents fois supérieure à celle de l'air. à une température constante de 3°C. La pression dans les milieux aquatique augmente de 1 atmosphère chaque 10m, et peut donc atteindre les 1000 atmosphères en profondeurs

Matières en suspensions (MES) (exprimé en $mg.l^{-1}$) elle est la somme du matériel sous la forme particulaire que soit vivant ou détritique, minéral ou organique et qui est entraîné passivement dans les sources hydriques.

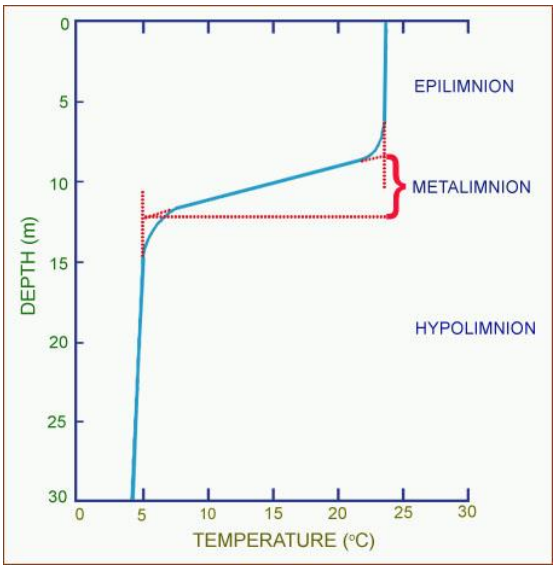


Figure 1. Classification des zones en fonction de la température

2.2. Communauté microbienne

Les océans contiennent une masse considérable de petits organismes microscopiques qui regr oupe des bactéries, champignons et virus. Les organismes vivant à l'état libre dans les milieux aquatique portent le nom de **Plancton.**

Plancton: Est l'ensemble des organismes vivant dans les eaux douces, saumâtres et salées, le plus souvent en suspension, on peut distinguer le Phytoplancton (espèces végétales), Zooplancton (espèces animales) et Microplancton: (microorganismes).

2.2.1. Bactéries

2.2.1.1. Composition

Les bactéries aquatiques peuvent être classées selon leur mode de vie en bactéries libres et isolées et dites planctoniques ou regroupées en communautés et attachés à des surfaces formant ainsi les biofilms. Les deux modes de vie existent en parallèle.

La formation d'un biofilm se fait par 5 étapes (Fig.2) :

a. Conditionnement de la surface : Adsorption de macromolécules formant un "film de conditionnement" contenant des traces de matières organiques neutralisant les charges excessives et énergie libre de surface qui préviennent l'établissement d'une proximité entre bactéries et surface et peuvent aussi servir de source de nutriments aux bactéries en cours d'attachement, permettant le succès de l'étape de colonisation primaire des bactéries dites pionnières. Les microorganismes s'attachent plus rapidement et plus efficacement à des surfaces hydrophobes et non polaires. Le taux d'établissement des bactéries dépend aussi de la rhéologie locale, en particulier des caractéristiques de vélocité et de turbulence du milieu liquide environnant contenant les bactéries en suspension.

b. Mouvement bactérien vers la surface conditionnée : Accès des bactéries à la surface conditionnée dépendent de chimiotaxie (attraction des bactéries par des signaux tel que les acides aminés), motilité (flagelles), sédimentation (dépend de la gravité), mouvement Brownien (mouvement aléatoire d'une grande particule et le transport convectif (dépend de la turbulence du milieu liquide). L'absence de flagelle chez *Pseudomonas aeroginosa* explique sa faible adhérence aux surfaces.

c .Adhérence à la surface : Commence par un attachement initial par les interactions électrostatiques de van der Vaals puis une perception de la surface qui se réalise par deux types de déplacements « swarming » ou « gliding ».

Le swarming consiste en un mouvement coordonné d'une population bactérienne sur des surfaces solides ou semi-solides alors que le gliding (glissement) consiste, pour le microorganisme, à faire des roulades rapides sur lui-même. La bactérie *Myxococcus xanthis*

utilise le gliding comme mouvement exploratoire et enfin une adhésion spécifique. Chez les bactéries Gram négatifs, cette adhésion se fait grâce à la présence des pilis, des capsules et du glycocalix et le curli chez *E coli* , ce que explique sa grande capacité colonisatrice alors que chez les Gram positifs (staphylocoques, entérocoques) se fait grâce aux proteines matricielles (acides teichoiques, acides mycoliques, la capsule et le glycocalix) .

d. Colonisation, maturation et structuration : Au cours de la colonisation, les bactéries présentent des modifications physiologiques radicale tel que la multiplication qui se fait d'une façon exponentielle jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel. Afin d'assurer la survie des bactéries dans cette structure, des canaux de circulation des éléments nutritifs et d'autres pour l'évacuation des déchets et des toxines se créent à l'intérieur du biofilm.

L'étape de maturation peut être subdivisée en deux phases. La première est marquée par une régulation génétique qui permet la différenciation phénotypique des cellules en biofilm. Par exemple, l'expression de 40% des gènes est modifiée chez *Escherichia coli* contre seulement 4% pour des gènes de *Pseudomonas aeroginosa*. La deuxième phase de la maturation est marquée par la synthèse active de la matrice organique. Cette matrice (Fig.3) est constituée de substances polymériques extracellulaires (EPS) comprenant des molécules organiques telles que des protéines, des polysaccharides, des acides nucléiques et d'eau. Elle occupe jusqu'à 75-95% du volume du biofilm. Leur production est donc sous contrôle génétique.

Avec le temps, des macroorganismes tels que les mollusques, algues ou épong sont attirés par le potentiel nutritionnel du biofilm et se fixent sur les structures tridimensionnelles microbiennes donnant ainsi une structure finale du biofilm.

e. Détachement /planctonisation : Les bactéries peuvent se détacher du biofilm d'une manière passive, par action mécanique d'un flux, mais elles peuvent aussi se détacher par d'autres processus dit actifs. Ce phénomène est fortement lié à l'impact des interactions agissant sur la régulation des gènes des bactéries. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la dispersion est liée à l'induction de l'expression des gènes impliqués dans la motilité (les flagelles) et à la répression du gène pilA (les pili). Les colonies bactériennes peuvent aussi se disséminer dès rupture des liaisons de la matrice extracellulaire environnante du biofilm. Par exemple, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, une bactérie à l'origine de maladies parodontales, synthétise une enzyme, la Dispersine B, qui hydrolyse les exopolymères du biofilm et libère les bactéries.

La libération des bactéries est initiée principalement par des changements environnementaux tel que l'apport nutritif ou le changement des doses d'oxygènes et d'oxyde nitrique.

Les bactéries planctoniques ainsi libérées peuvent conserver les propriétés développées vivant en biofilm. Par exemple, les bactéries qui se dispersent à partir d'implants médicaux sont capables de déjouer le système de défense immunitaire (phagocytose) et d'engendrer des infections systémiques.

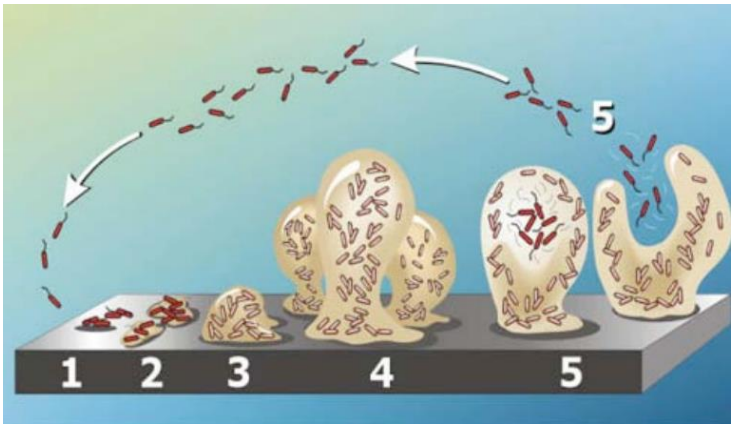


Figure 2. Les étapes de formation d'un biofilm

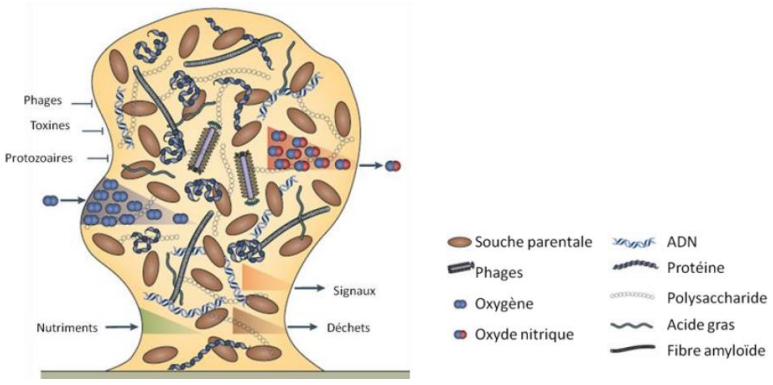


Figure 3. Composition et structure des biofilms bactériens.

La formation des biofilms et leur structurisation est le résultat d'une interaction entre 3 maillons, il s'agit de l'environnement, la flore microbienne et le matériau. Les trois entités participent et influent par des paramètres propres à chacun des trois acteurs, notamment l'oxygénation, le pH, la température, l'accès à la lumière, la quantité de matière organique en ce qui concerne l'environnement, la nature du matériau, la microstructure, l'état de surface pour le matériau, et le métabolisme, les polymères sécrétés et les interactions cellulaires pour les micro-organismes.

2.2.1.2. Fonctionnement

Création des niches et augmentation de la biodiversité : La formation de biofilms bactériens permet la création des points d'ancrage pour d'autres micro-organismes, puis des larves et ensuite des macroorganismes. Ce processus de colonisation d'un substrat immergé dans un environnement aquatique est appelé « biofouling ». Il se décompose en quatre grandes séquences selon le modèle proposé par Wahl en 1989: Le conditionnement chimique de la surface par adsorption quasi instantanée de molécules organiques et inorganiques, la colonisation par les bactéries puis par les organismes eucaryotes unicellulaires et enfin les organismes eucaryotes pluricellulaires.

Le microfouling correspond à la formation de biofilms avec fixation des bactéries suivie des micro-algues (diatomées), levures et protozoaires. Au cours du macrofouling, le biofilm microbien évolue vers un système plus complexe incluant des brouteurs, des producteurs primaires pluricellulaires, et ce jusqu'à l'étape finale de la colonisation impliquant la mise en place et la croissance d'invertébrés marins (balanes, moules, tuniciers…) ainsi que de macro-algues. La nature des phénomènes impliqués évolue progressivement d'un processus physique vers un processus biologique.

Recyclage des nutriments : Le recyclage des nutriments se fait à l'intermédiaire de la chaine trophique (Fig.4). La chaine trophique est une chaîne alimentaire est une suite d'êtres vivants de différents niveaux trophiques dans lequel chacun mange des organismes de niveau trophique inférieur qui le précède dans le but d'acquérir de l'énergie.

Les bactéries et les champignons, des organismes hétérotrophes et saprophytes, qui assurent la minéralisation de la matière organique morte (animale ou végétale) pour en restituer les éléments nutritifs au milieu. Ils représentent les décomposeurs dans la chaîne alimentaire.

Le rôle des décomposeurs est prépondérant car en décomposant les matières organiques (recyclage des nutriments et /ou la production primaire des aliments), ils participent de cet effet à l'épuration des écosystèmes aquatiques.

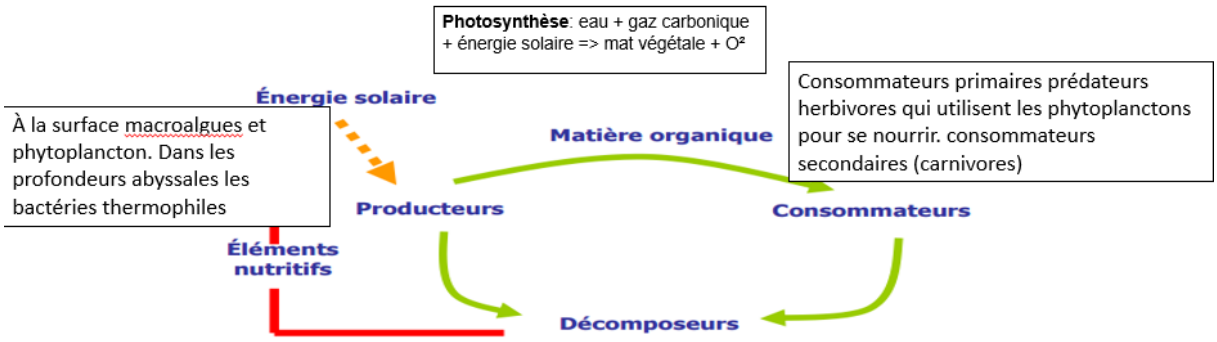


Figure 4. Structure de la chaine trophique et rôle des niveaux trophiques

Recyclage du carbone : La boucle microbienne (Fig.5) est une voie de transfert du carbone dans les écosystèmes aquatiques, basée sur l'utilisation par les bactéries de la matière organique dissoute, issue notamment de l'excrétion phytoplanctonique (on parle d'exsudats). Le carbone bactérien entre alors dans la chaîne trophique *via* le broutage des bactéries par le protozooplancton et, éventuellement, par certains composants du métazooplancton.

Pour le recyclage du carbone, les microorganismes planctoniques utilisent le carbone organiques en conditions aérobies et /ou anaérobies et permettent le recyclage et la remise à disposition de la matière organique, à travers la boucle microbienne. Venant se greffer sur la chaine trophique classique. Les transferts vers les niveaux trophiques supérieurs peuvent conduire à des pertes en carbone (sous forme de CO_2 ou de CH_4), en phosphate et en azote, remis à disposition des producteurs primaires sous forme minérale (NH_4^+)

Les organismes planctoniques participent à la séquestration du CO_2, en créant ce que l'on appelle la «neige marine. Constituée d'organismes en décomposition et des excréments de l'ensemble de la chaîne alimentaire, cette neige représente un flux de carbone c onsidérable mais encore mal quantifié.

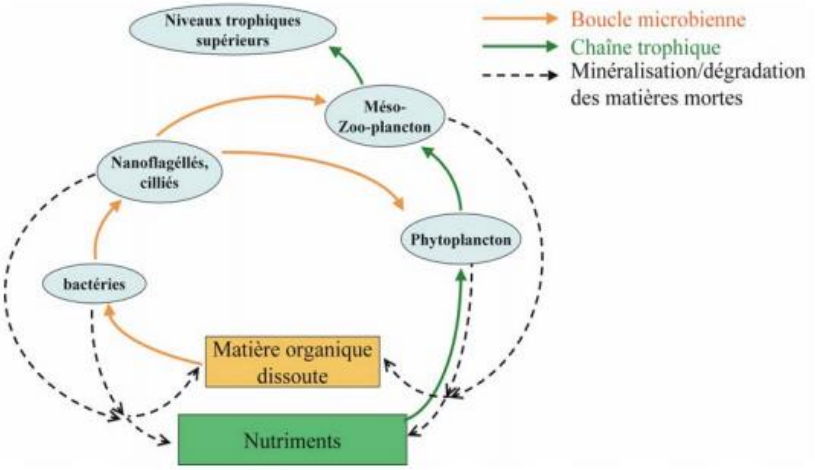


Figure 5. Schéma de la boucle microbienne et la chaine trophique dans les milieux aquatiques.

2.2.2. Virus

Les virus sont des particules microscopiques constituées simplement d'un génome (ADN ou ARN) enveloppé par une coque ou membrane protéique (capside). Se sont des parasites obligatoires responsable de plusieurs maladies tel que la grippe, la covide, la varicelle mais aussi le SIDA. Tous les organismes que soit l'homme, les animaux et les plantes et même les microorganismes sont sensibles aux infections virales.

2.2.2.1. Dénombrement

Le nombre total des virus dans les eaux salées dépend de degré trophique des écosystèmes aquatiques, la saison et la profondeur des prélèvements. Le nombre total en virus libres est en moyenne entre 10^5 et 10^8 particules par millilitre. Le dénombrement des virus planctoniques s'effectue à l'aide de trois approches ou trois techniques.

Microscopie électronique à transmission : Il permet de non seulement dénombrer les virus, mais aussi de caractériser leur structure et d'estimer l'importance relative des cellules bactériennes infectées (charge cellulaire en virus, pourcentage de mortalité induite par action virale).

Cette technique est considérée comme globale et invasive et permet la collection des informations que les deux autres techniques ne peuvent renseigner.

Microscopie à épifluorescence : Le dénombrement des virus libres des milieux aquatique par cette technique se fait après une coloration des acides nucléiques par des marqueurs fluorescents extrêmement sensibles.

Cytométrie en flux : Le dénombrement ne concerne que les virus libres.

2.2.2.2. Rôle

Les virus jouent un rôle important dans de nombreux processus écologiques et les cycles biogéochimiques, tels que le recyclage des éléments nutritifs, le contrôle de la mortalité bactérienne et algale, et affectent également la diversité de l'ensemble du compartiment microbien de manière directe ou indirecte**.**

Rôle fonctionnel dans les cycles biogéochimiques (boucle microbienne, flux de carbone) :

Les virus modulent les flux de carbone au travers de la chaîne alimentaire. Lorsqu'une cellule microbienne, autotrophe ou hétérotrophe, est lysée, les virus qui se trouvent à l'intérieur se libèrent avec les débris cellulaires constituent par les protéines, acides nucléiques et autres composants cellulaires et qui sont riches en éléments azotés, phosphorés ou carbonés, potentiellement utilisables par les bactéries et le phytoplancton comme éléments nutritifs.

L'activité virale transforme donc le carbone particulaire en carbone dissous vers les consommateurs supérieurs de la chaîne trophique aquatique.

Contrôle biologique des efflorescences algales : Un virus aquatiques est capable de jouer un rôle important dans la détermination et la composition coloniale et le maintien de la diversité des populations d'algue.

Exemple

Le virus de *Emiliania huxleyi* une algue microscopique unicellulaire eucaryote calcifiée, capable de dormer des efflorescences très grandes, cet organisme est capable de produire une substance Diméthyl sulfate «DMS » lors de sa dégradation dans l'eau causé par a lyse cellulaire, la DMS ainsi produit dans l'atmosphère après oxydation est responsable de l'effet de serre

Une **efflorescence algale** (*algal bloom*) est une prolifération rapide de la concentration d'une espèce(s) d'algue (s) dans un système aquatique que soit eau douce, saumâtre ou salée. Cette augmentation de concentration se traduit généralement par une coloration de l'eau. Ces couleurs sont dues aux pigments photosynthétiques dominants des cellules algales en cause

Contrôle de la mortalité bactérienne : La lyse virale est capable de contrôler la croissance bactérienne jusqu'au 50% de mortalité/jour.

Les virus tuent les microorganismes les plus compétitifs et peuvent donc garder le contrôle sur les populations dominantes, lorsque un groupe bactérien devient important numériquement, la probabilité de rencontrer des virus augmente, donc la lyse virale s'exerce à une intensité plus forte sur cette population ce ci permet la co-existance de population moins compétitives et minoritaires, tout en maintien la diversité bactrienne.

2.2.3. Champignons

2.2.3.1. Caractérisation générale

Les champignons marins sont des organismes microscopiques eucaryotes pluricellulaires. La taxonomie les situe entre les végétaux et les animaux. Ils sont hétérotrophes pour la matière organique, qu'ils se procurent à partir d'autres organismes via d'importants dispositifs enzymatiques. Leur mode de reproduction est sexué et/ou asexué. La colonie fongique née à partir d'une spore, qui émet un bourgeon germinatif, se développe en hyphe (structure cellulaire tubulaire siphonnée ou cloisonnée). Cet hyphe se multiplie en un important réseau enchevêtré d'autres hyphes : le mycélium, d'apparence très variable et qui envahit le substrat par zones concentriques.

Les champignons de la mer sont définis selon leurs besoins environnementaux et physiologiques. D'après Khudyakova et al. (2000), 98 % des espèces fongiques trouvées dans le milieu marin sont marines facultatives, représentées surtout par les genres Penicillium, Aspergillus, Trichoderma, Wardomyces, Chrysosporium et Chaetonium.

2.2.3.1. Rôle

Recyclage des nutriments : Les champignons marins représentent un maillon important dans les chaînes alimentaires de l'écosystème marin et sont eux-mêmes une source de nourriture pour d'autres organismes marins. Ils colonisent et forment des structures communautaires sur les substrats vivants et morts, submergés dans la mer. Par ailleurs, la survie de ces micromycètes dans le monde marin, face à la rude compétition avec d'autres organismes, dépend entièrement de la production de métabolites secondaires.

La dominance de certains genres sur certains substrats marins s'explique par leur production de molécules fortement bioactives, comme c'est le cas de *Corollospora maritima* et *Halocyphina villosa*, 57% des espèces isolées de la Mer du Japon se sont montrées bioactives (hémolytiques), notamment des souches de *Trichoderma sp*. et *d'Aspergillus sp*. Les champignons du genre Trichoderma se sont également montrés neurotoxiques vis-à-vis de larves de diptères.

Les champignons peuvent être classés selon leur mode de vie en communauté comme :

Saprotrophes : les champignons saprotrophes sont responsables de la dégradation des substrats organique de nature ligneuse marins riches en lignocelluloses. Ils sont aussi capables de dégrader la matière organique morte (Cadavres).

Parasites : Les mycoses ont un impact important dans l'environnement marin et agissent comme un facteur naturel limitant de plantes aquatiques, d'algues et d'animaux (intestins de

poissons et Crustacés). Ils provoquent de sérieuses infections chez les invertébrés marins, et affectent le développement des œufs et des larves de Crustacés.

Symbiotes : Lorsque un champignon (*Chadefaudia corallinarum* s'associe avec une algue (*Dermatoliton sp*) forment un lichen. Cette relation est d'intérêt reciproque pour les deux partenaires.

2.2.4. Les microorganismes benthiques

Les procaryotes benthiques sont associés aux particules et à la matière organique. La distribution des procaryotes dans la colonne sédimentaire dépend essentiellement de leur métabolisme,

Le développement et la diversité des communautés procaryotes des sédiments sont fonction entre autres de la granulométrie, avec une corrélation négative entre la taille moyenne des particules du sédiment et le nombre de bactéries. Le potentiel redox du sédiment est également un facteur structurant les communautés.

Cette diversité de composition des communautés avec le potentiel redox du sédiment est à mettre en perspective des différents groupes fonctionnels aux métabolismes respiratoires différents décrits.

La structure des communautés bactériennes est également corrélée à la teneur en carbone organique et à la teneur en chlorophylle a comme cela a été montré dans des sédiments de la Mer Méditerranée par Polymenakou et al. en 2005

3. Milieux aquatiques douces

3.1. Caractéristiques

Une eau douce est destinée souvent pour la consommation comme eau potable. L'eau potable ne doit pas contenir de germes des maladies à transport hydrique, de substance toxiques ni de qualité excessive de matières minérales et organique, elle doit être sans couleur ou odeur ou gôut. En outre, l'eau potable doit contenir sans excès un certain nombre d'éléments minéraux dont la présence lui confère une saveur agréable à l'exclusion de ceux qui seraient l'indice d'une contamination ainsi que toute substance toxique.

La qualité des eaux est une qualité physico-chimique, qualité microbiologique et la qualité organoleptique.

3.2. Les paramètres microbiologiques

La qualité microbiologique des eaux est confirmée par la présence ou l'absence d'un certains nombre de microorganismes à pouvoir pathogènes, dites des indicateurs microbiologique (Tab.I).

3.2.1. Coliformes totaux

Les coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*.Le terme « coliforme » correspond à organismes en bâtonnets, non sporogène, Gram-négatifs, oxydase négatif, aéro-anaérobies facultatif, capable de fermenter le lactose (et mannitol) avec production d'acide et gaz en 48 heures à des températures de 35 et 37 °C.

Les coliformes comprennent les genres : *Escherichia, Citrobacter, Enterobacter,Klebsiella, Yersinia, Sérratia***.**

3.2.2. Coliformes fécaux ou Coliformes thermo- tolérants

Les coliformes fécaux ou coliformes thermo tolérants correspondent à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à une température de 44 °C**.**

Escherichia coli est sans doute le plus spécifique de tous les germes de contamination fécale. Le terme « Escherichia coli présumé » correspond à des coliformes thermo-tolérants qui produisent de l'indole à partir du tryptophane à 44 °C et ont des caractères biochimiques propre à cette espèce.

3.2.3. Streptocoques fécaux

Sous la dénomination générale de «*Streptocoques fécaux*», il faut entendre l'ensemble des streptocoques possédant une substance antigénique caractéristique du groupe D de Lance field.

Ils sont généralement pris globalement en compte comme des témoins de pollution fécale. Ils sont des Gram positifs, groupes en chaînettes, anaérobies facultatifs, catalase négatif et immobiles.

3.2.4.Clostridium Sulfito-Réducteurs

Clostridium Sulfito-Réducteurs sont souvent considérés comme des témoins depollution fécale ancienne ou intermittente. Leur permanence marque la défaillance en un point donné du processus de filtration naturelle**.**

Ce sont des bacilles Gram positifs, anaérobies stricts, isolés ou en chaînettes, mobiles, catalase positif, réduisent le sulfite de sodium en sulfure.

La forme sporulée des Clostridium Sulfito-Réducteurs est beaucoup plus résistante que les formes végétatives**.**

3.2.5. Salmonelles

Les Salmonelles appartiennent à la famille des *Entérobacteriaceae*, se sont des bacilles à Gramnégatif, anaérobie facultatif, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais des mutants immobiles peuvent exister

Les sérotypes adaptés à l'homme sont: *Salmonella typhi* et sérotypes*S. paratyphi* A et *S. Sendai*, responsables de la fièvre typhoïde humaine.

Les Salmonelles sont en général considérées comme pathogènes bien que leur virulenceet leur pouvoir pathogène varient énormément.

Tableau I. Normes de qualité microbiologique des eaux potables selon les normes algériennes.

Germes	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	Streptocoques	Salmonelle
Normes JORA-2003-	<10	Abs	Abs	<5

4. Les maladies d'origine hydrique

L'eau peut présenter la première cause de mortalité et de maladies dans le monde. En Algérie, malgré les efforts consentis, les résultats restent à ce jour insuffisant. L'épidémie de choléra qu'a connue l'Algérie en 1986 a causé la mort de 475 personnes .Parmi les infections à transmission hydrique que l'on retrouve en Algérie, on peut citer : la fièvre typhoïde, le choléra, les hépatites infectieuses, les dysenteries, la poliomyélite,…. Les pathologies liées à l'eau peuvent être d'origine bactérienne, virale ou parasitaire, dues au manque d'eau et/ou à la présence de substance chimique dans l'eau (OMS) :

4.1. Maladies d'origine bactérienne

Les eaux peuvent transmettre un certain nombre de maladies d'origine bactérienne. Il s'agit principalement de :

Choléra

Le choléra est une infection intestinale aiguë due à l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par le bacille *Vibrio cholerae*. La durée d'incubation est courte, de moins d'un jour à cinq jours. Le bacille produit une entérotoxine qui provoque une diarrhée abondante, indolore pouvant aboutir rapidement à une déshydratation sévère et à la mort du sujet si le traitement n'est pas administré rapidement. La plupart des patients présentent aussi des vomissements.

La plupart des sujets infectés par *V. cholerae* ne présentent aucun symptôme bien que le bacille puisse être présent dans leurs selles pendant 7 à 14 jours. En cas de maladie, 80 à 90 % des épisodes sont bénins ou modérément sévères et il est alors difficile de les distinguer cliniquement d'autres types de diarrhées aiguës. Moins de 20 % des malades développent le choléra typique avec des signes de déshydratation modérée à sévère.

Fièvres typhoïde et paratyphoïde

Les fièvres typhoïde et paratyphoïde sont des infections causées par des bactéries appartiennent au sérotype Typhi ou moins fréquemment aux sérotypes Paratyphi A, B ou C qui sont transmises lors de l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminées par des selles. Une eau propre et un bon assainissement permettent de prévenir la propagation de la typhoïde et de la paratyphoïde. L'eau contaminée est l'une des voies de transmission de la maladie**.**

4.2. Maladies d'origine virale

Aux cotés des maladies d'origine bactériennes ; nous avons des maladies virales, parmi ces maladies on peut citer :

La poliomyélite

C'est une maladie très contagieuse provoquée par un virus humain appelé **Poliovirus.** Ce virus envahit le système nerveux et peut entrainer une paralysie totale en quelques heures.

Le virus se propage d'une personne à une autre principalement par la voie fécale-orale ou moins fréquemment par le biais d'un véhicule commun (Eau, aliments contaminées,..) et se multiplie au niveau des intestins. La fièvre, l'asthénie, les céphalées, les vomissements, la raideur de la nuque et les douleurs dans les membres en sont les premiers symptômes.

Hépatite virale

L'hépatite virale est une inflammation du foie causée par l'un des cinq virus de l'hépatite: A, B, C, D ou E.

Ces virus se transmettent par des voies diverses : par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés pour les hépatites A et E; par contact avec du sang non sécurisé ou d'autres liquides corporels pour l'hépatite B; essentiellement par du sang contaminé pour l'hépatite C; quant à l'hépatite D c'est une infection additionnelle qui se déclare en présence de l'hépatite B**.**

4.3. Maladies d'origine parasitaire

Plusieurs épidémies d'origine hydrique dues à des parasites tel que l'ankylostomose , la dracunculose , le téniasis etc…

Anémie

L'anémie est fréquente dans le monde entier. Sa cause principale, la carence en fer, est la carence nutritionnelle la plus répandue dans le monde. Outre la carence en fer, de nombreuses infections associées à l'hygiène, à l'assainissement, à la qualité et à la gestion de l'eau contribuent fortement à l'anémie. Il s'agit notamment du paludisme, de la schistosomiase et de l'ankylostomiase (vers parasites).

Chapitre III : Microbiologie des systèmes terrestres

Introduction

La microbiologie des sols a pour objectif principal l'étude des interactions entre les communautés microbiennes et les autres composants de l'écosystème (Fig.6).

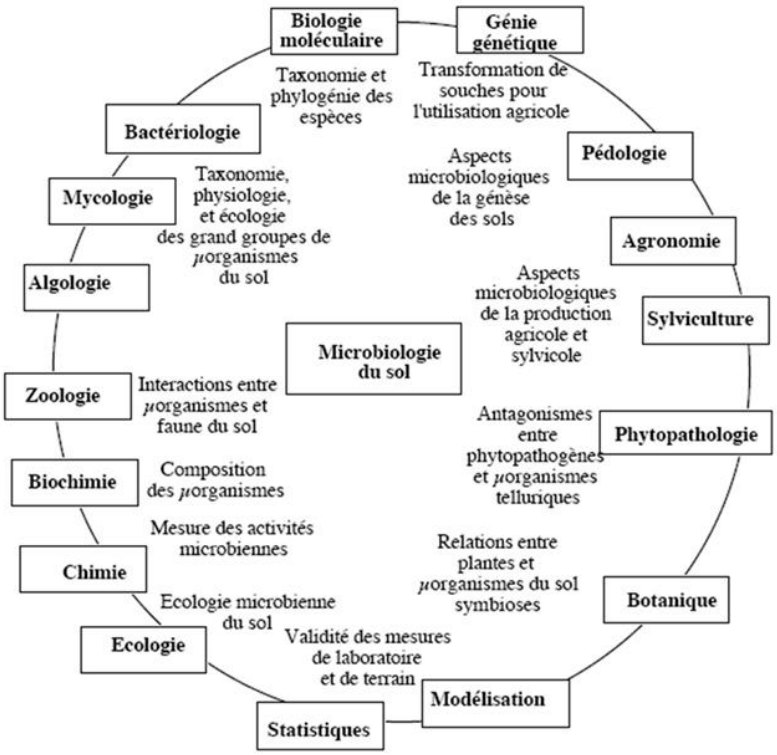


Figure 6. Relations entre la microbiologie du sol et les autres disciplines.

I. Sol

1. Définition et propriétés

Les sols constituent l'élément essentiel des biotopes continentaux. Leur ensemble, dénommé pédosphère, résulte de l'interaction de deux compartiments biosphériques, l'atmosphère et les deux couches superficielles de la lithosphérique.

C'est l'altération des roches mères, due à des forces chimiques et biologiques, qui donne naissance au régolite (manteau superficiel de débris), lui-même transformé en ce que l'on appelle sol. Les cinq principaux facteurs impliqués dans la formation du sol sont la roche mère, le climat, la topographie, l'activité biologique et le temps.

Le sol est un milieu polyphasique composé d'une phase solide (minérale et organique), d'une phase liquide, d'une phase gazeuse et, colonisé par des organismes vivants. Il est traversé par

des flux d'énergie et de matière dont la régulation est en grande partie assurée par les communautés vivantes qui le colonisent. C'est un milieu organisé et cette organisation, qui influe directement sur l'ensemble des propriétés du sol, et sur lequel dépend des interactions bio-organominérales.

1.1. Phase solide

Elle est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. On pourrait considérer les organismes vivants du sol comme une partie de la phase solide, puisqu'ils ne sont ni gazeux ni liquides.

La fraction minérale est la fraction la plus importante du sol, elle peut représenter entre 93 à 95% du poids total du sol. Elle est composée de différentes particules minérales élémentaires. La proportion relative de ces particules définie la texture du sol ou composition granulométrie. Ces particules élémentaires ne sont généralement pas indépendantes, mais agrégés en unités structurales sous l'effet des liants organiques ou minérales.

1.2. Phase liquide

La phase liquide du sol n'est pas de l'eau pure mais une solution dont la composition est complexe et très variable. On la désigne par l'expression « solution du sol ». L'eau peut être présente dans les sols sous forme de vapeur et dans sa forme habituelle à l'état liquide.

L'eau qui circule dans les pores du sol véhicule une grande diversité de matériels dissous ou en suspension : organiques, inorganiques, organo-minéral. Les échanges ioniques entre l'eau et le substrat solide, en particulier les argiles constituent une des fonctions du sol les plus importantes pour la nutrition végétale.

L'eau conditionne l'activité biologique et la plupart des processus physico-chimiques qui se produisent dans le sol. C'est aussi le facteur physicochimique le plus important qui affecte les organismes dans le sol. La présence d'une couche d'eau est nécessaire à la survie des bactéries. C'est le cas également de certains invertébrés comme les nématodes et les protozoaires, qui sont considérés comme des organismes aquatiques puisqu'ils vivent dans les films d'eau qui entourent les particules du sol.

1.3. Phase gazeuse

Un mélange de gaz et de vapeur d'eau forme l'atmosphère à l'intérieur des pores du sol. Les plus importants de ces gaz sont le l'O_2 provenant de l'atmosphère et le CO_2 provenant des respirations et fermentations des organismes du sol et des organes non chlorophylliens des plantes supérieures. L'O_2 doit diffuser rapidement dans le sol pour répondre aux besoins respiratoires des racines et des microorganismes, le CO_2aussi doit être capable de diffuser à l'extérieur**.** A part, le *CO2* et *l'*O_2, une variété d'autres gaz *(*N_2O, CH_4,H_2, CO...) sont présents

dans l'atmosphère du sol. Ils peuvent servir de substrats ou d'inhibiteurs à l'activité des microorganismes. La composition de l'atmosphère du sol est cruciale pour la croissance des plantes et l'activité des organismes.

2. Fonctions

Le sol a de nombreuses fonctions, il est un milieu biologique dans et sur lequel se développent des organismes vivants.

- Il constitue une interface d'échange entre l'atmosphère, l'hydrosphère et la lithosphère. Il est notamment un lieu de transfert et de stockage de l'eau.
- Sa fonction épuratoire est importante : il constitue un filtre physique (rétention de Particules) et chimique (adsorption des polluants par exemple) pour les eaux de pluie s'y infiltrant en direction des nappes d'eaux souterraines.
- Le sol remplit aussi un rôle important dans les cycles géochimiques (notamment du carbone et de l'azote). Il est un lieu de recyclage des matières organiques (MO).

La minéralisation des MO mortes est réalisée dans les sols par une multitude d'organismes vivants. Ceux-ci fragmentent les MO déposées et les mélangent aux éléments minéraux du sol. Ainsi, le sol constitue une réserve de biodiversité importante. Une partie de la MO, la plus réfractaire en général, échappe à une minéralisation totale et, associée à de la matière minérale, elle constitue l'humus. Le sol est donc un lieu de stockage de MO.

La minéralisation des réserves organiques constitue une source de nutriments pour les plantes pour lesquelles le sol est le support de vie.

3. Communautés microbiennes

Le sol est un habitat généralement favorable à la prolifération des microorganismes procaryotes et eucaryote (Fig.7-Tab.II). Leur nombre est supérieur à celui trouvé dans les eaux douces ou marines : la population microbienne s'é lève à des valeurs comprises entre 10^6 et 10^9 bactéries par gramme de sol. Leur abondance et leur nature dépendent du type de sol, de la végétation, du climat et des diverses actions anthropiques et de leurs variations.

La profondeur est une variable écologique qui affecte significativement la survie des microorganismes. Dans les zones tempérées, si une grande partie d'entre eux se concentre dans le premier mètre de la couche superficielle, ce sont en fait les premiers centimètres qui en contiennent le plus grand nombre.

Les bactéries et les champignons constituent les microorganismes les plus représentés dans les sols où ils sont les principaux responsables de la minéralisation des matières organiques. Ils

participent aussi à un processus appelé humification qui conduit à la formation de l'humus qui est un composé complexe et majeur du cycle de la matière organique tellurique et de la fertilité du sol.

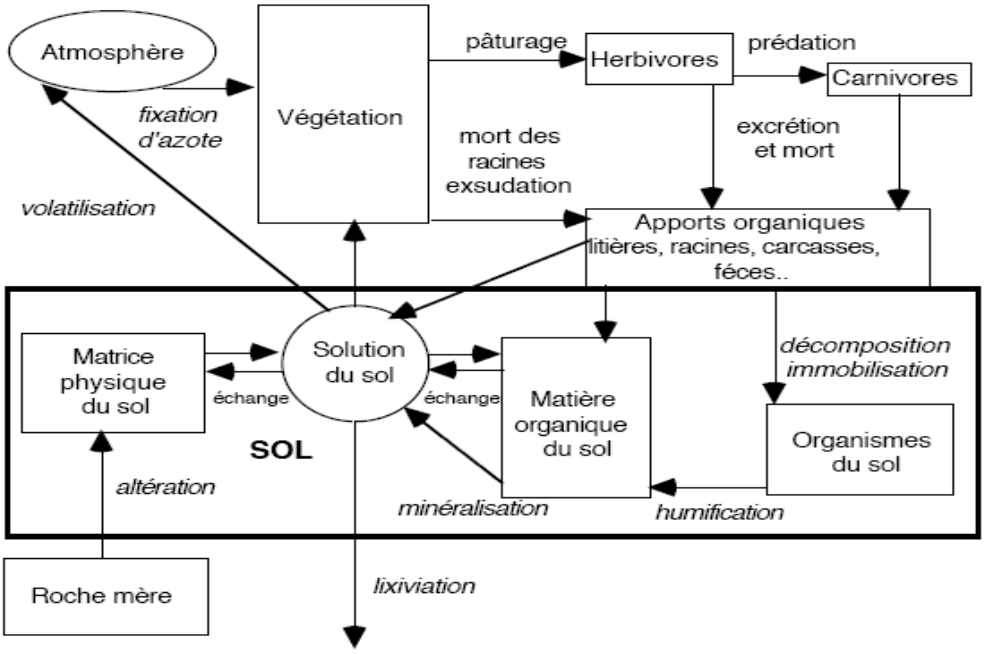


Figure 7 . Schéma de la contribution des microorganismes au cycle de la matière organique dans les sols

Tableau II. Rôle de quelques micro-organismes dans le sol.

Microorganismes	Rôle
Actinomycètes	Un groupe de bactéries qui participent à la décomposition des matières organiques
Protozoaire	La plupart sont hétérotrophes, certains sont phototrophes ; ils se nourrissent de bactéries, de levures, de champignons et d'algues, ils peuvent être impliqués dans la décomposition de la matière organique
Les champignons	Ubiquitaire dans les sols, les champignons sont les organismes chimio hétérotrophe. De part leurs formes filamenteuse et leurs productions fréquente d'exo polymère il possède un rôle important dans le maintien de la structure et de l'organisation de sols

II. Rhizosphère

1. Définition

Le terme rhizosphère a été décrit pour la première fois en 1904 par un chercheur allemand Lorenz Hiltner, c'est un mot composé d'origine grec : " rhizo " ou" rhiza" signifiant" racine" et "sphère" qui veut dire « globe » ou « La zone du sol dans laquelle la microflore est influencée par les racines des plantes », donc rhizosphère peut être définit comme étant la fraction du sol qui entoure et englobe le système racinaire des plantes.

La rhizosphère est définie aussi comme un micro environnement crée par les interactions entre les exsudats racinaires et les microorganismes, elle est le lieu des échanges entre sol, racines, microorganismes et faune associés. Ces échanges, intenses, se traduisent par des flux bidirectionnels d'eau et de nutriments. Elle constitue ainsi un habitat favorable pour la prolifération des microorganismes et exerce un impact potentiel sur la santé des plantes et la fertilité des sols.

2. Structure

La rhizosphère est la zone du sol qui est adjacente aux racines, elle s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire. La surface des racines est définie comme le rhizoplan, l'endorhizosphère est définie comme le cortex des racines du fait qu'il est colonisé par les bactéries.

La rhizosphère peut être aussi divisée en plusieurs zones distinctes. Ça inclus l'endorhizosphère (tissus racinaires), l'endoderme et les couches corticales, et inclue aussi la surface racinaire avec l'épiderme et les mucilages polysaccharidiques, et l'ectorhizosphère qui est correspond au volume de sol colonisé ou potentiellement colonisable par les microorganismes (bactéries ou champignons) et influencé par ceux-ci.

La mycorhizosphère correspondant au volume de sol qui environne une racine colonisée par un champignon peut être cosidéré comme une partie de la rhizosphère. Les mycorhizes permettent d'augmenter le volume de l'ectorhizosphère.

3. Communauté microbienne rhizosphérique

3.1. Bactéries

L'effet que les bactéries peuvent l'exercer dans la rhizosphère, permet de les subdiviser en deux groupes ; ceux à effet bénéfique et ceux à effet pathogène.

3.1.1. Bactéries à effet bénéfique

Les bactéries colonisant les racines qui exercent des effets bénéfiques sur le développement des plantes par des mécanismes directs ou indirects sont définies comme des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR). Elles appartiennent à plusieurs genres

incluant *Azospirillum, Azotobacter, Herbaspirillum, Bacillus, Burkholderia, Pseudomonas, Rhizobium* et *Gluconacetobacter, ...* **.** Ces bactéries sont utilisées actuellement dans l'agriculture moderne comme des biofertilisants afin d'augmenter le rendement de diverses cultures **.**

Les mécanismes d'action que soit ceux qui ont un effet direct ou indirect sur la croissance et la productivité des plantes, pouvant être actifs simultanément ou séquentiellement à différentes étapes de la croissance des plantes. Les mécanismes directs permettent la promotion directe de la croissance des plantes peut se produire par deux processus : La biofertilisation et la phytostimulation alors que les mécanismes indirects impliquent les différents modes d´action des agents microbiens dans le biocontrôle.

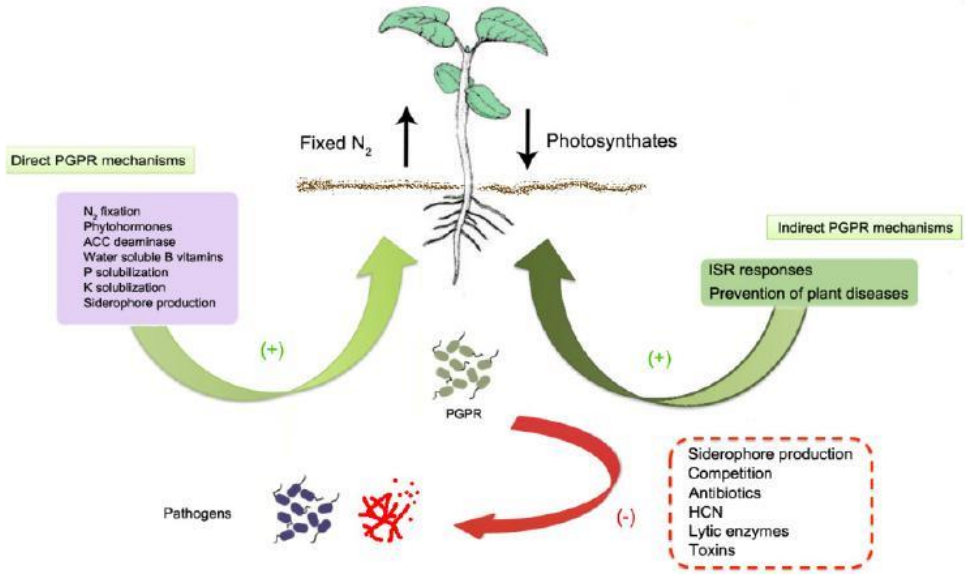


Figure 8. Modes d'action des bactéries promotrices de croissance des plantes (Garcia Fraile *et al.*, 2015)

3.1.1.1. Biofertilisation

Les biofertilisants augmentent la disponibilité des éléments nutritifs essentiels aux plantes tel que l'azote, le phosphate, le potassium,…. grâce aux divers procédés biologiques.

- **Fixation d'azote**

L'azote est l'élément nutritif le plus important pour les végétaux, c'est un facteur limitant majeur de la production agricole alors que l'atmosphère terrestre est constituée à 80٪ d'azote. Ce paradoxe est dû au fait que l'azote moléculaire (N2) est une molécule très stable, que seuls les organismes appartenant au groupe des procaryotes sont capables de la réduire sous une forme combinée assimilable, par contre elle est inaccessible pour les organismes eucaryotes.

La **fixation de l'azote** correspond à la conversion de l'azote atmosphérique en azote utilisable par les plantes et les animaux. Elle se fait par les bactéries **diazotrophiques exophytes.** Ce groupe renferme toutes les bactéries qui vivent en dehors de la plante. Elles peuvent être soit libres, soit associatifs.

Les **diazotrophes libres** sont des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique vivant à l'état libre dans le sol, sans être en contact avec aucune plante. La majorité des bactéries diazotrphes libres (FBN) sont des cyanobactéries (*Anabaena spp)* et des bactéries photosynthétiques (*Rhodobacter spp*) ainsi que des bactéries hétérotrophes (*Azotobacter spp)* (Andrews et Harris, 2000).

Les **diazotrophes associatifs** qui sont impliquées dans des associations symbiotiques et spécifiques sont établies entre les couples de bactéries type rhizobia et des plantes légumineuses et des actinomycètes du genre *Frankia* avec des plantes actinorhiziennes telle *Casuarina.*

La symbiose rhizobienne

La symbiose rhizobienne est formée de deux partenaires : le macrosymbiote représenté par les légumineuses et le microsymbiote représenté par un groupe diversifié d'eubactérie : les Rhizobia.

L'établissement de la symbiose rhizobia-légumineuses est un phénomène complexe qui fait appel à un grand nombre de gènes, de signaux et de processus de différentiation cellulaire synchronisés dont la chronologie spatio-temporelle est primordiale pour la formation de la nodosité, des symbiosomes et pour l'expression de la relation symbiotique. Le processus menant à la formation de nodosités peut être résumé en trois phases (Fig.9):

- **Mécanismes de reconnaissance entre les deux partenaires**

L'interaction entre les légumineuses et les BNL débute par un échange de signaux moléculaires (Fig.9a). Dans des conditions limitantes en azote, les flavonoïdes contenus dans les exsudats racinaires de la plante activent la transcription des gènes *Nod* chez les BNL

Le produit du gène *Nod*D, synthétisé de façon constitutive est impliqué dans la reconnaissance de ce signal et dans l'activation de la transcription des autres gènes *Nod*. La transcription des autres gènes *Nod* a pour effet la synthèse des facteurs Nod qui sont les molécules bactériennes reconnues à leur tour par la plante.

Le(s) type(s) de facteur(s) Nod produit(s) ainsi que leur quantité permettent une reconnaissance spécifique de chaque BNL par son partenaire végétal.

Leur structure amphiphile leur permet une intégration rapide dans les membranes. Cependant, ils seraient incapables de traverser la membrane végétale, un récepteur membranaire serait donc nécessaire pour permettre leur détection par la plante.

- **Attachement aux racines et infection de la racine**

Le mécanisme le plus courant d'infection d'une légumineuse par une BNL est celui dit de l'infection intracellulaire. Dans ce mécanisme, une fois qu'une BNL a été reconnue comme compétente, elle est capable de s'attacher spécifiquement aux poils absorbants de la racine de la plante hôte (Fig.9b) qui subissent alors une déformation caractéristique dite en crosse de berger (Fig.9c).

L'adhésion des Rhizobia aux poils absorbants se fait par la présence au niveau de la plante d'une lectine et du coté Rhizobia, par les exopolysaccarides/Lipopolysaccharide

La BNL digère partiellement la paroi, le plasmalemme s'invagine et du nouveau matériel pariétal est déposé conduisant à la formation d'une structure tubulaire appelée cordon d'infection qui contient les bactéries et progresse de cellule en cellule en direction du cortex.

Chez certaines légumineuses tropicales il existe un deuxième mode d'infection dit infection intercellulaire ou «crack entry». Dans ce cas, la pénétration des bactéries se fait par des fissures qui existent entre les cellules des tissus racinaires ou à travers la lamelle moyenne entre deux cellules du rhizoderme.

- **Pénétration des rhizobia et formation du nodule**

La pénétration des bactéries s'accompagne de divisions cellulaires au niveau du cortex, en face d'un pôle de protoxylème. Ces divisions conduisent à la formation d'un méristème à l'origine d'un primordium nodulaire qui devient ensuite le lobe nodulaire.
Les cellules du lobe nodulaire sont alors envahies par les cordons d'infection (Fig.9d). Un processus analogue à une endocytose, déverse les bactéries dans le cytosol ; les bactéries sont entourées par un espace péribacteroïdien (EPB) et une membrane péribacteroidienne (MPB) qui les sépare du cytosol. Elles se différencient alors en leur forme endosymbiotique : les bactéroïdes capables d'initier la fixation d'azote. L'ensemble EPB+MPB+bactéroïde(s) constitue le symbiosome.
Les nodules des fabacées présentent une structure similaire à celle d'une tige avec des tissus vasculaires périphériques qui se raccordent à ceux de la racine et une zone centrale infectée par les BNL.

Les nodules sont positionnés sur la racine face aux pôles de xylème. Selon le modèle proposé par Vijn et *al* (1993), les pôles du xylème stimulent les divisions cellulaires par le biais de l'uridine alors que les pôles du phloème les inhibent en synthétisant de l'éthylène (. Ceci donne lieu à l'apparition des primordia nodulaires face aux pôles de xylème.

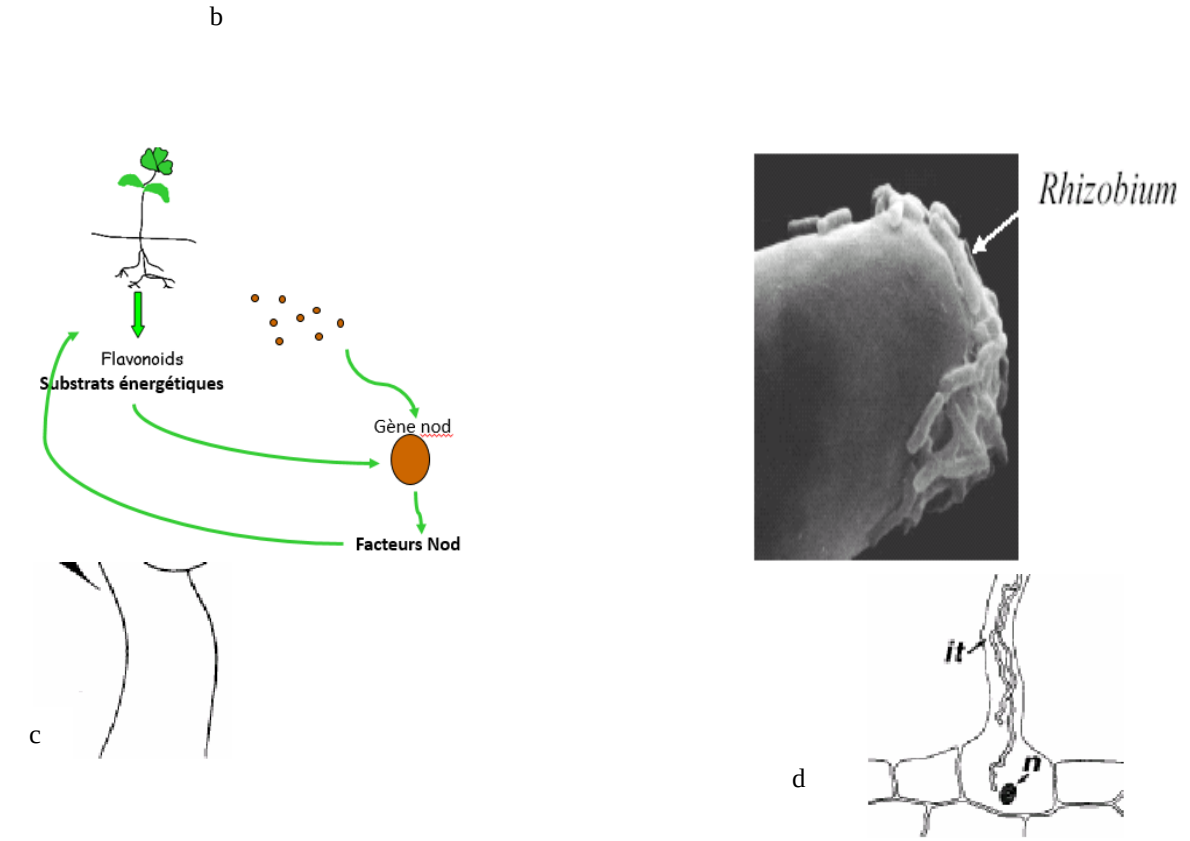


Figure 9. Etapes de reconnaissance entre les deux partenaires légumineuses-Rhizobia.

a. Reconnaissance sépcifique entre les légumineuses et les rhizobia.**b**. Attachement des rhizobia sur les poils absorbants.**c.** Recourbement du poil absorbant en crosse de berger.**d**. Progression des bactéries grâce au cordon d'infection.

La symbiose rhizobia légumineuse se caractérise par la formation des nodules. Le nodule est un organe spécialisé, spécifiquement mis en place par la symbiose plante-microorganismes fixateurs et qui requièrent un programme d'organogenèse unique, la masse et la position des nodules sont contrôlés par la plante en fonction des conditions environnementales et de son état physiologique

- **Solubilisation des Phosphates**

Les bactéries solubilisant le phosphate ou les PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) permettent la disponibilité du Phosphore existant dans le sol pour les plantes par deux mécanismes (Fig.10).

Le premier mécanisme consiste à la libération des acides organiques qui mobilisent le phosphore grâce aux interactions ioniques avec les cations du sel de phosphate conduisant à l'acidification des cellules microbiennes et de leur environnement, cette diminution de pH entraine la dissociation des liaisons dans les composés phosphorés insolubles ce qui rend le phosphate soluble.

Le deuxième mécanisme est basé sur l'action enzymatique. Des enzymes, tels que des phosphatases non spécifiques (aussi appelés phosphohydrolase), des phytases, des phosphonatases et des C-P lypases, permet la solubilisation de phosphate organique.

La solubilisation des phosphates insolubles a été signalée dans la plupart des genres bactériens connus Bacillus, Pseudomonas, Enterobacter, Azotobacter,Erwinia, Agrobacterium, Serratia et Xanthomonas

- **Solubilisation des potassiums**

Les bactéries solubilisatrices des potassiums (KSB) telles que Acidithiobacillus, Bacillus, Pseudomonas, Burkholderia et Paenibacillus jouent un rôle clé dans le cycle K naturel, ils permettent de transformer le potassium minéral insoluble et inaccessible à une forme disponible pour l'absorption par les plantes (Fig.11).

La solubilisation du potassium se fait par la libération des acides organiques comme l'acide oxalique et l'acide citrique qui forment des complexes avec les ions métalliques (Ca^{+2}, Al^{+2} et Fe^{+3}) pour stimuler la solubilisation de potassium.

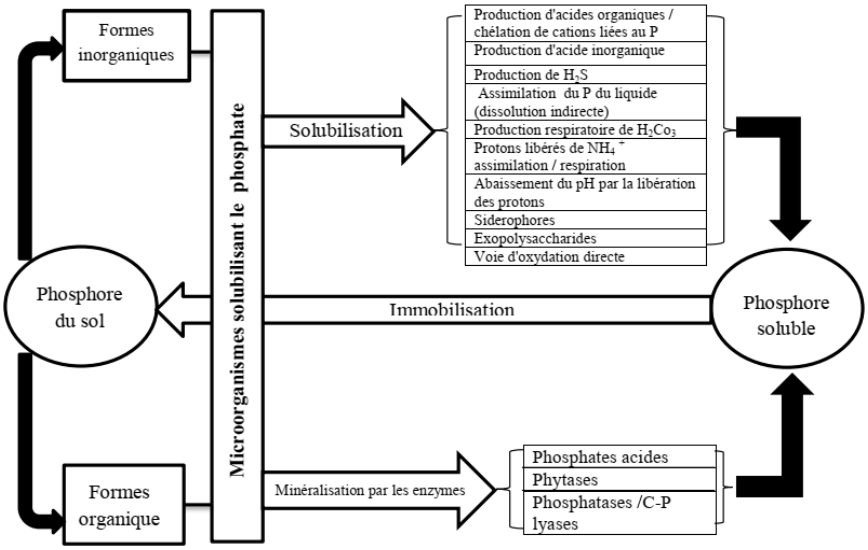


Figure 10. Mécanismes de solubilisation/minéralisation et du phosphate (Sharma et *al.*, 2013).

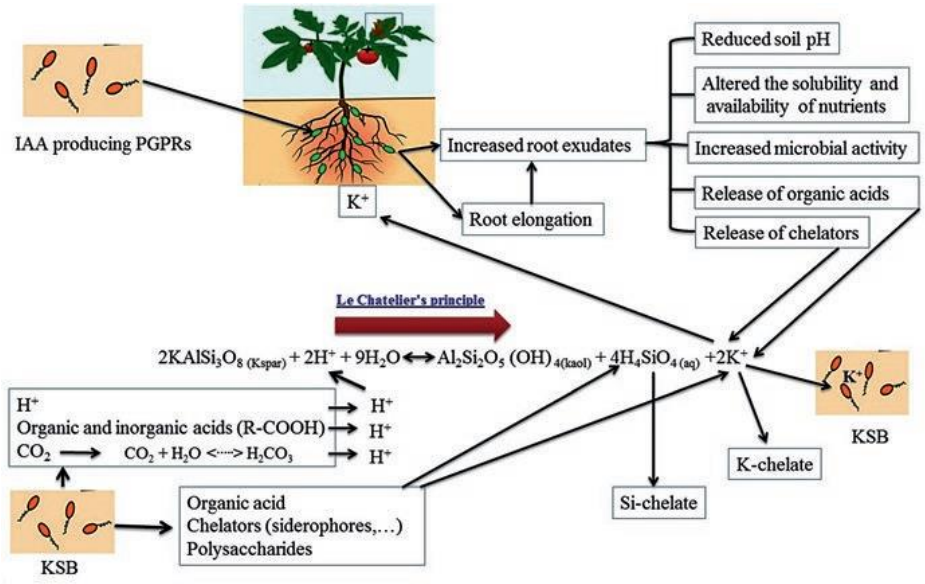


Figure 11. Les différents mécanismes de solubilisation de potassium (Etesami et Adl, 2020).

- **Production des sédirophores**

Le fer est considéré comme l'oligoélément le plus important pour la croissance microbienne, il agit comme un régulateur global de nombreux processus cellulaires, métaboliques et biosynthétiques. Dans des conditions de carence en fer, les bactéries aérobies produisent des métabolites secondaires appelés sidérophores pour combler leur besoin en fer.

Les sidérophores (sidéros = fer ; phoros = transport) sont des composés organiques de faible poids moléculaire (400-1000 Daltons) avec une affinité très élevée et spécifique pour chélater le fer nécessaire à leur croissance. Ces sidérophores se fixent avec l'ion ferrique et forment un

complexe sidérophore-ferrique et le transporte vers la cellule microbienne où il se lie avec des récepteurs dépendants de la suspension de fer à la surface de la cellule bactérienne (. L'ion Ferrique est ensuite relâché et actif dans le cytoplasme comme ion ferreux (forme soluble).Certains des sidérophores produits (500 sidérophores connus) sont utilisés par une grande variété de plantes et par d'autre micro-organismes comme sources de fer.

De plus les sidérophores peuvent augmenter la disponibilité de Phosphore pour les plantes soit en chélatant les cations tel que Ca^{+2}, Al^{+2} et Fe^{+3} formant ainsi des précipitations avec le phosphore ou par échange de ligands.

Ils sont également utilisés dans la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes en s'appropriant des ions ferriques présents dans la rhizosphère et ils les rendent non disponibles aux champignons pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance. Les bactéries productrices de sidérophores appartiennent aux genres Bradyrhizobium, Pseudomonas, Rhizobium, Serait et Streptomyces .

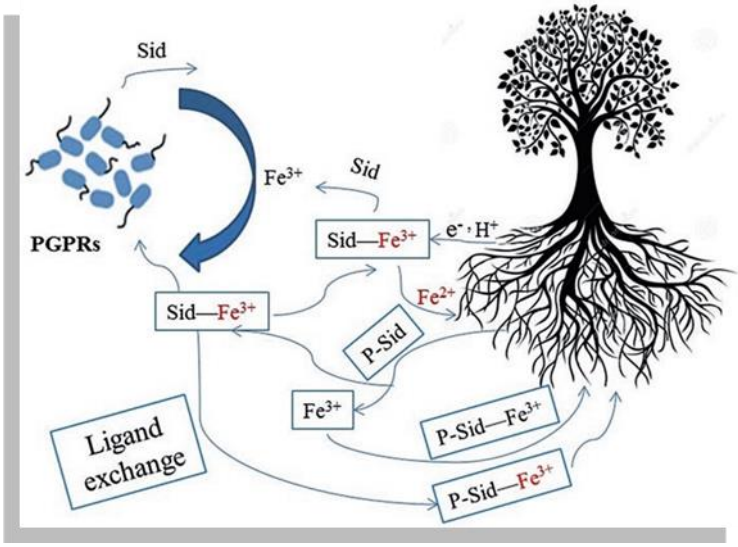


Figure 12 : Rôle des PGPR producteur de sidérophore dans la disponibilité du fer pour la plante (Etesami et Adl, 2020).

3.1.1.2.Phytostimulation

Les phytostimulateurs améliorent la croissance des végétaux par leurs facultés à produire ou à changer la concentration des régulateurs de croissance de la plante.

- **Production des hormones**

Une large gamme de microorganismes trouvés dans la rhizosphère est capable de produire des phytohormones pour réguler la croissance et le développement des plantes, ces hormones végétales sont des petites molécules de signal produites en très faible concentration et leur synthèse est finement régulée. Elles sont chimiquement analogues aux hormones synthétisées

par les plantes. Elles influencent les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes et aussi jouent un rôle important dans la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques.Les phytohormones sont divisés en cinq groupes : les auxines (AIA), les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et un groupe appelé inhibiteurs, qui comprend l'acide abscissique (ABA).

Ils sont produits par un grand nombre de bactéries tels que : *Azospirillum brasilense, Pseudomonas spp, antomonas spp, , Enterobacter cloacae , Aeromona veronii, Alcaligenes piechaudii, Rhizobium leguminosarum, Bradyrhizobium spp, Agrobacterium spp et Comamonas acidovoran ;Enterobacter sp Agrobacterium sp Aeromonas veronii.*

Tableau III. Rôle des phytohormones et les bactéries productrices et rôle.

Phytohormones	**Rôle**	**Bactéries productrices**
Acide Indole Acétique (AIA)	• Affecte le système racinaire en augmentant le poids, la taille, le nombre de ramifications et la surface en contact avec le sol. • Règule le développement des plantes en agissant sur l'organogenèse, la résistance à des conditions stressantes et les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes.	Acinetobacter Pseudomonas Rhizobium Bacillus Klebsiella
Cytokinine	• Contrôle la division cellulaire. • Stimule la germination des graines. • Formation et la croissance des bourgeons, des tissus en culture et des racines et l'expansion foliaire par élargissement cellulaire. • Retarde la sénescence.	Azotobacter Bacillus Pseudomonas Rhizobium
Gibbérelline	• Favorise la germination des grains, la croissance des bourgeons, la floraison et le développement des fruits. • Joue un rôle dans la promotion de la croissance de la tige et la racine. • Joue un rôle dans la fermeture des stomates.	Azotobacter Pseudomonas Bacillus Acinetobacter Burkholderia Xanthomonas
Acide abscisique (ABA)	• Elle coupe principalement la croissance des feuilles et des pousses de la plante. • Elle supprime la production excessive d'éthylène lors de stress biotiques et abiotiques.	Phyllobacterium *brassicacearum strain STM196*
	• Elle stimule la croissance des plantes à des concentrations modérées.	Bacillus Pseudomonas

L'éthylène	• Elle favorise la germination des graines, la maturation des fruits, la synthèse d'autres hormones végétales et la croissance des pousses et des racines. • A des fortes concentrations, elle inhibe l'élongation des racines, provoque l'sénescence, ralentit la migration de l'auxine dans les tissus et affaiblit la défense de la plante contre des pathogènes.	Lactobacillus Micrococcus Serratia

3.1.1.2. Biocontrôle

Les bactéries protectrices contre les agents phytopathogènes exercèrent leur effet de lutte biologique par des interactions qui sont soit directes (Compétition, antibiose et production des enzymes) ou indirectes (Induction de l'immunité systématique).

Compétition

La compétition entre deux ou plusieurs microorganismes sur les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux nécessaires pour la vie est un mécanisme biologique utilisé par les bactéries pour éliminer les phytopathogènes en réduisant le nombre de sites habitables et par conséquent, leur croissance. En effet une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie. Parmi les bactéries qui peuvent exercer ce genre de mécanisme : *Pseudomonas putida, Bacillus pumilus* et *Serracia marcescens.*

Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère. Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant le potentiel colonisateur d'une souche sont la mobilité (présence d'un flagelle), le chimiotactisme et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines en tant que sources de carbone et d'azote.

Antibiose

L'antibiose est une activité antagoniste utilisée par les bactéries pour la prévention des attaques des pathogènes et pour la suppression et le contrôle des maladies d'origine biotique. Elle repose sur la production à de faibles concentrations des métabolites secondaires de nature diverse aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Melin et *al*., 2007), comme : les lipopeptides cycliques, les sidérophores, le cyanure d'hydrogène HCN,oomycinA, zwittermycin,… .

Production d'enzymes hydrolytiques

L'amélioration de la croissance par l'activité enzymatique inclus la production par les PGPRdes enzymes hydrolytiques telles que les chitinases, les lipases, les phosphatases, les protéases,…, qui jouent un rôle clé dans la décomposition de la matière organique dans les écosystèmes, dans l'inhibition de développement et de croissance des microorganismes phytopathogènes et dans la protection des plantes contre les stresses biotiques et abiotiques.

Résistance systémique induite

La résistance systémique induite est une forme de résistance, stimulée spécifiquement par les bactéries pour protéger les végétaux contre les attaques des virus, des bactéries et des champignons. Ce mécanisme permet de rendre la plante plus résistante à l'agression future par des agents pathogènes.

Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire ainsi de nombreux composants bactériens tel que les lipopolysaccharides (LPS), sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes.

3.1.1. Bactéries à effet pathogène

Des interactions complexes existent entre les plantes et les bactéries qui leur sont associées.

En effet, on distingue des bactéries phytopathogènes.

Les bactéries phytopathogènes peuvent exercer une action pathogène qui conduit à une réduction plus ou moins marqué du développement des plantes**.** Alors que les bactéries délétères sont des pathogènes mineurs rhizosphériques, non-invasifs (n'entrant pas dans les tissus vasculaires) agissant par des mécanismes variés comme la production de phytotoxines, d'enzymes pectinolytiques, la compétition pour les nutriments avec la plante ou avec d'autres bactéries bénéfiques à la plante**.**

3.2. Champignons

3.2.1. La symbiose mychorizienne

3.2.1.1. Définition

Le terme botanique Mycorhize (en Anglais Mycorrhizae) vient du grec qui veut dire Mycho=Champignon et Rhize=Racines. C'est une interaction bénéfique entre les racines d'une plante et un champignon. Les mycorhizes peuvent être des symbioses obligatoire ou facultatives selon les espèces fongiques et végétales, les catégories mycorhiziennes ; les conditions climatiques et édaphiques.

3.2.1.2. Types

Les mycorhizes sont distingués en 7 types selon la morphologie de l'interaction. Les différents types peuvent être regroupés en trois principales catégories. Elle est soit externe (Ectomycorhize), externe (Endomycorhize) ou les deux formes à la fois (Ecto-endomycorhize).

Endomycorhize

Dans l'endomycorhizes, les filaments mycéliens souterrains du champignon (hyphes) franchissent les parois des cellules racinaires de la plante hôte. Les endomycorhizes sont des produites par des champignons primitifs « zygomycètes ». Les zygomycètes sont des champignons qui ne présentent pas d'organes différenciés et sont invisible à l'œil nu.

Les mycorhizes à vésicules est la forme la plus dominante (80%) des plantes forestières. Le champignon développe à partir des hyphes intercellulaires des structures ramifiées « arbuscules ».

Ectomycorhize

L'ectomycorhize est la forme fréquente chez les plantes et les arbustes et implique une très grande variété de champignons des Basidiomycètes et Ascomycètes. Au cours de ce type d'interaction ; les hyphes des champignons entourent la racine pour former un manteau fongique.

Ecto-endomycorhize

L'ecto-endomycorhize est la forme qui possède à la fois des structures propres aux ectomycorhizes (Manteau fongoque) et d'autres semblables à celle des endomycorhizes de type éricoides et orchidoides (la pénétration intracellulaire et formation de Pelotons d'hyphes cloisonnés). Seules les champignons d'Ascomycota du genre Wilcoxina qui sont impliqués.

3.2.1.3. Mise en place de l'interaction symbiotique

L'infection des racines d'une plante par un champignon peut être subdivisée en deux stades principaux :

Stades prés-symbiotiques

L'ensemble des stades pré-symbiotiques ont lieu au niveau de la rhizosphère. Elles commencent avec une germination des spores des champignons existant dans le sol. La germination des spores (Fig. 13a) dépend de la dormance elle-même et par les paramètres environnementales tel que le pH, la température, l'hygrométrie et la quantité des éléments nutritifs.

La deuxième étape consiste à une croissance et développement du mycélium (Fig.3b). La croissance du mycélium s'arrête en absence des plantes. Par contre en présence des plantes,

un échange moléculaire commence à s'installe, les plantes à travers les molécules des exsudats racinaires émets des signaux de reconnaissance, afin d'orienter le sens de développement du mycélium et lui permettent une croissance importante et par conséquent augmente les possibilités de contact.

Stades symbiotiques

Les stades symbiotiques s'effectuent au niveau du système racinaire des plantes. Les cellules racinaires se différencient en **Appréssoria**, se sont des structures enflées par l'élargissement des hyphes aux points d'entée (Fig13.b). Le champignon par la suite un réseau lâche et clairsemé qui entoure la surface externe des racines.

Pour les ectomycorhizes, le champignon forme un manchon constitué d'hyphes mycéliens très serrés entre eux pour constituer un pseudo tissu que l'on appelle **Manteau fongique** (Fig13.c). L'épaisseur de ce manteau dépend d'un ensemble de facteurs tel que la nature de l'espèce végétale, l'espèce fongique, l'âge du mycorhize, des conditions du milieu,….

À partir de ce manteau, un certain nombre d'hyphes s'insinuent entre les cellules de la partie externe du cortex ou l'écorce racinaire et forment ainsi un réseau mycélien intercellulaire que l'on appelle **Réseau de horting** (Fig 13.d). Ce dernier ne pénètre jamais à l'intérieur des cellules.

Dans le cas des endomycorhizes, les hyphes pénètrent à l'intérieur des cellules, les hyphes passent entre les cellules de revêtement et ensuite entre les cellules du parenchyme cortical. A ce stade, les champignons ont la capacité de former des structures très ramifiées (Arbuscules, pelotons d'hyphes,..) (Fig 13.e).

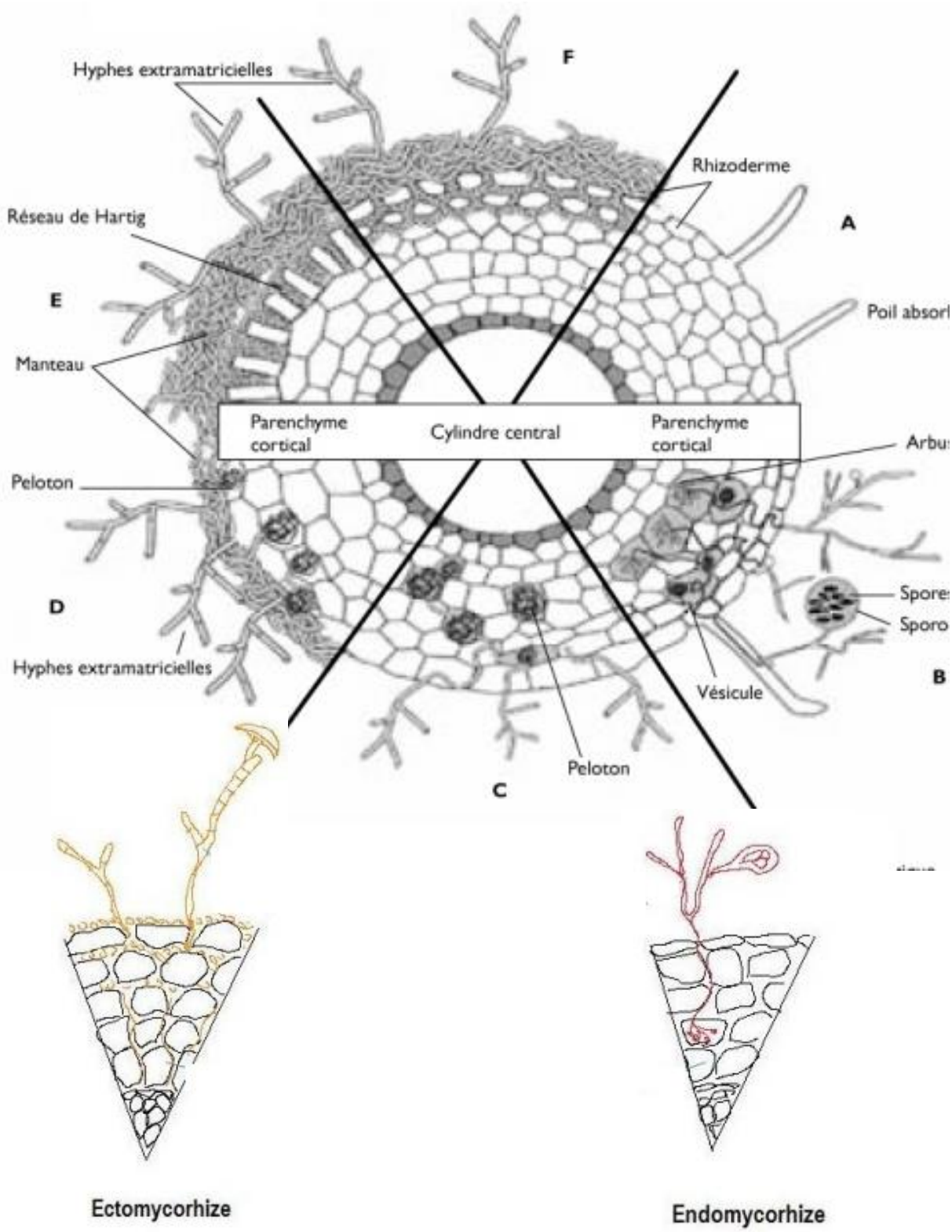


Figure 13. Les étapes de la mise en place de la mycorhization (Amadou Ba et al.,2011).

4. Les facteurs influençant la structure des communautés microbienne rhizosphérique

La structure d'une communauté bactérienne est soumise à des fluctuations temporelles et spatiales qui correspondent à des phases de colonisation de nouveaux milieux ou de remplacement d'une communauté par une autre plus adaptée**.** Beaucoup de paramètres interviennent pour modeler cette structure tant en termes de diversité que d'effectifs.

Un certain nombre d'études ont toutefois permis d'identifier les facteurs présentant une influence marquée sur la structure des communautés bactériennes.

4.1. Facteurs liés au sol

La structure des communautés bactériennes est variable et dépendante de nombreux facteurs. En effet, la structure des communautés bactériennes ainsi que sa composition peuvent varier considérablement suivant l'espace**.** Plusieurs études ont montré que la structure des communautés bactériennes dans le sol et leur distribution est liée aux caractéristiques physico chimique des sols. Le pH peut influencer fortement la composition bactérienne, il est l'un des forts prédicateurs de la composition de cette communauté et de leurs diversités, en effet une variation du pH du sol peut affecter sa composition.

La composition hydrique des sols est un facteur limitant des activités bactériennes, surtout dans les sols désertiques que dans d'autres environnements**.** Selon Skujins (1986), la teneur en eau dans les sols désertiques n'a pas assez d'importance mais la grande importance est attachée au potentiel hydrique des sols. Ce dernier décrit essentiellement la force par laquelle l'eau est retenue dans le sol et l'énergie que les microorganismes devraient dépenser pour assimiler l'eau.En conséquence, la croissance microbienne des sols de désert peut se produire la plupart du temps à de plus basses températures coïncidant avec la disponibilité prolongée de l'eau.

Les conditions climatiques et les variations saisonnières provoquent des fluctuations considérables dans la densité et l'activité des communautés microbiennes. Killian et Fehèr (1939) ont démontré que le nombre des bactéries a augmenté de 1,6 $x10^4$ jusqu' au 1.5 x 10^6 UFC par gramme de sol durant la période pluvieuse dans les sols désertique du grande Sahara Algérien. De même, dans un sol oasien ou la teneur en eau dans le sol est élevée.

4.2. Facteurs liés à la plante

Dans un écosystème, la disponibilité des ressources nutritives est un facteur limitant. Il existe une forte relation entre le taux de carbone organique dissous et la composition des communautés bactériennes. En effet au niveau de la rhizosphère, la quantité et la qualité des exsudats racinaire fournit par les plantes peuvent influencer fortement sa composition bactérienne, on parle de l'effet rhizosphère.L'effet rhizosphère, décrit par Hiltner en 1904,

suppose que de nombreux micro-organismes sont attirés par les nutriments (composés organiques) secrétés par les racines des plantes, et que sont utilisés par les micro-organismes comme source de carbone et d'énergie. Les changements induits par les racines dans le sol environnant conduisent à l'adaptation des communautés bactériennes du sol et à la sélection des communautés spécifiques principalement constituées par les populations les plus compétentes.

Des observations scientifiques ont montré que beaucoup de plantes sélectionnent des groupes de microorganismes spécifiques via l'exsudation de composés dans la rhizosphère, qui représente une association positive où les plantes fournissent le carbone pour la croissance microbienne et les microorganismes en retour fournissent des éléments majeurs tels que l'azote et le phosphore, ainsi qu'une protection contre les attaques des pathogènes et parasites.

L'apport trophique racinaire influence la densité des populations bactériennes présentes dansla rhizosphère (environ 10^6 microorganismes par gramme de sol). En effet,Lynch et Whipps (1990), ont indiqué que les populations bactériennes présentes sur les racines et dans la rhizosphère sont plus abondantes (5 à 50 fois plus) que dans le reste du sol. La composition de ces populations rhizosphériques, pour un même sol, varie d'une plante à une autre, voire d'un cultivar à l'autre. Cet effet rhizosphère correspond à un recrutement de communautés microbiennes telluriques par la plante.

4.3. Facteurs liés à la communauté microbienne

Les bactéries partagent la rhizosphère avec d'autres organismes et des microorganismes. Beaucoup de recherches ont montré l'existence de phénomène de la compétition entre les microorganismes du sol vis-à-vis les sources de nutriments et de l'habitat**.**

Les champignons mycorhiziens arbusculaires communément appelés mycorhizes et ensemble, ils représentent les deux principaux groupes de microorganismes bénéfiques qui colonisent la rhizosphère**.** Ces champignons peuvent sécréter des substances qui ont un effet sélectif sur la communauté microbienne.

Ainsi, leur colonisation peut influencer, le taux de croissance et l'organisation bactérienne en modifiant, entre autres, le nombre de bactéries aérobiques dans la rhizosphère **.**L'inverse est également vrai. À titre d'exemple, la relation symbiotique entre *Azospirillum.sp* et les champignons mycorhizes permet une amélioration de l'établissement de la bactérie dans la rhizosphère tout en favorisant la formation des mycorhizes.

4.4. L'influence de la communauté microbienne rhizosphérique sur l'environnement

es modifications dans la structure des communautés bactériennes associées à la rhizosphère au niveau génotypique ainsi qu'au niveau phénotypique, affectent les productions bactériennes et les interactions plantes-bactéries et peuvent générer un effet de rétroaction bénéfique ou délétère sur la plante.

En raison de leurs activités enzymatiques et de leur grande capacité de concentration en élément, les micro-organismes peuvent être plus efficaces que les plantes en l'absorption des nutriments**.** Cela pourrait conduire une concurrence plantes-bactéries ou à l'amélioration de la nutrition des plantes.

La plupart des plantes comptent sur les champignons mycorhizes pour l'acquisition de nutriments minéraux, en particulier pour l'absorption du phosphore, créant ainsi un flux préférentiel de nutriments travers les mycorhizes et en modifiant les capacités fonctionnelles de la microflore du sol.

Les activités microbiennes affectent la croissance des plantes et la résistance à de nombreux égards, soit directement par la production d'hormones végétales telles que l'auxine ou indirectement par la protection contre les agents pathogène, la production d'antibiotiques, ou la production d'acide cyanhydrique.

III. L'endosphère

L'endosphère est l'environnement qui se trouve à l'intérieur des tissus des plantes et les microorganismes qui vivent dans l'endosphère sont des endophytes.

1. Définition et diversité

Les endophytes est un terme qui provient du latin ; endo (intérieur) et phyte (plantes), et qui a été attribué aux microorganismes (bactéries et champignons) capables de vivre à l'intérieur des plantes, au moins durant une partie de leur cycle de vie et qui ne sont responsable d'aucune maladie, et qui sont isolé après stérilisation de la surface des plantes et ne provoquent aucune modification morphologique tel que les nodules.

Les endophytes peuvent être classé en trois catégories, basant sur le mode de vie à l'intérieur des plantes.

- **Les endophytes obligatoires** : Se sont des microorganismes qui habitent l'intérieur des tissus végétaux durant toute leur vie et qui dépend des métabolites des plantes pour vivre, ils sont originaire des graines.
- **Les endophytes facultatives** : Se sont les microorganismes qui vivent à l'extérieur des plantes hôte pour au moins un stade de leur cycle de vie et qui sot recruté par la plante à partir de l'environnement.
- **Les endophytes passives** : Se sont des microorganismes qui vivent à l'état libre et qui colonisent les plantes suite à une séries d'événements accidentas, et qui probablement ne participent pas à la promotion de la croissance des plantes.

2. Colonisation

Les endophytes peuvent avoir différentes provenance, ils peuvent être originaire du sol,de l'eau des précipitations, d'irrigation, du vent et de la poussière, des insectes pollinisateurs et des graines et des semis. Quelque soit l'origine, les endophytes colonisent les tissus des plantes selon deux modes de transmission ; verticale et horizontal.

2.1. Transmission verticale

La transmission verticale est définit comme étant le passage d'un gène, un agent pathogène ou autre d'un parent à un descendant lors d'une reproduction, ce mode de transmission concerne essentiellement les graines et les endophytes obligatoires.

La présence des bactéries dans les graines n'implique pas nécessairement que sont originaire des parents et qui vont automatiquement coloniser les semis. Plusieurs études qui supportent l'hypothèse de transmission verticale des bactéries à partir des graines vers les plantes, se sont des études qui ont mis en évidence le chevauchement des bactéries endophytiques entre les

graines et les semis mais cela n'était pas suffisant pour confirmer l'hypothèse, d'autre ont reporté la présence des même souches à travers plusieurs générations dans le riz et le mais. Aussi, des graines issus des hybrides de plants de mais ont abrité les mêmes endophytes que leur ancêtres, cela conduit à une conclusion que les graines peuvent conserver leurs bactéries endophytes. Récemment les études basées sur les approches moléculaire utilisant l'ARN16S, ont montré la présence des même souches bactériennes appartenant à des même genres à travers différent génotype de Mais.

Une épreuve indirecte qui supporte cette hypothèse, est une étude réalisée sur des graines à surface stérile de l'herbe envahissant (*Sorgum halpense*), les résultats ont montré l'acquisition des plantes d'une forme d'azote différente de celle du l'azote introduit, montant ainsi que des diazotrophes ont été transmis verticalement des graines.

Les graines d'un autres côté peuvent être colonisé verticalement par les parents à travers le système vasculaire et les grains de pollen. Des bactéries qui se trouvaient à l'intérieur ou l'extérieur des grains de pollen de plusieurs espèces ont été trouvé de leurs graines.

2.2. Transmission horizontale

Les bactéries endophytiques, après plusieurs étapes, pénètrent et habitent l'intérieur de tissues végétales grâces à un dialogue moléculaire qui s'installent entre plantes- bactéries et bactéries-bactéries.

Reconnaissance et la sélection

Le recrutement des bactéries par les plantes commence par l'établissement d'une communication à travers les exsudats racinaires, ces derniers peuvent déterminer l'abondance et la diversité des communiés bactérienne dans leur environnement adjacent.

Les exsudats racinaires regroupent des acides organiques, des acides aminés, des sucres et des protéines qui sont impliqué dans la machinerie de recrutement des bactéries. Des études ont montré l'implication de l'oxalate dans le recrutement de *Burkholderia phytofirmans* par le mais et le lupin, d'un autre côté, une sécrétion en abondance d'oxalate au niveau des racines de Brachypode coïncide avec un nombre importante de Proteobacteria.

Les bactéries captent et répondent à ce signal à travers des systèmes de capture à un ou deux composants. Le système de capture à un composant est formé d'une seule protéine avec entrée et sortie transmembranaire, le système Nod des BNL représente l'exemple le plus connu et étudié des systèmes de capture à un composant. Alors que le système de signalisation de deux composants est utilisé par la plupart de bactéries pour se communiquer avec leur environnement, il est formé d'un récepteur (Histidine Kinase) qui reçoit le signal et le transmit au régulateur de réponse après une phosphorylation, Le répondeur active la

production de métabolites secondaires et des enzymes extracellulaire suite à ce signal. Les systèmes de deux composants Récepteur/Répondeur peuvent combiner à d'autres systèmes de régulation croisée permettant aux bactéries d'effectuer un traitement d'informations complexe, permettant de coordonner une réponse appropriée dans l'environnement dynamique de la rhizosphère.

Les bactéries ont développé, de leur part, un système de communication bactéries-bactéries permettant l'expression des gènes seulement lorsque la densité des cellules microbiennes est appropriée, c'est un phénomène qui relie la densité des cellules bactériennes à l'expression des traits biologiques pertinents, il est connu comme « Quorum-sensing ». Plusieurs bactéries de Gram positif ou négatif sont capables de déclencher ce phénomène. Il implique la synthèse de molécules de faible poids moléculaire qui diffusent de l'intérieur vers l'extérieur des cellules bactériennes, avec l'augmentation de la densité de la population bactérienne, le taux du signal synthétisé et par conséquent sa concentration augmente, une fois la concentration critique est atteint (Quorum), les molécules de signal peuvent être liées à leur récepteur protéique intracellulaire, l'ensemble se comporte comme facteur de transcription en se fixant à l'ADN Pour réguler les gènes ciblés. La communication entre les bactéries permet aux populations de coordonner leurs réponses et d'agir comme un organisme pluricellulaire.

L'adhésion

L'attachement ou l'adhésion des cellules bactériennes sur la surface des racines des plantes (Rhizoplan) est considéré comme la première étape dans le processus de colonisation. Les bactéries arrivent sur les racines par affinité à des exsudats racinaires et s'attachent à la surface à l'aides des structures bactériennes tel que les flagelles , les fimbriae ou les Exo-poly-saccharides (EPS) facilitent leur adhésion au rhizoplan et même les premières étapes de colonisation l'intérieur des tissus végétaux. Les LPS (Lipo-poly-sacharides) sont aussi impliqué dans l'adhésion des bactéries aux surface des plantes, en effet une étude réalisée par Balsanelli et al (2013) sur la colonisation des plants de mais par H seropedicae a confirmé l'implication des LPS dans le processus d'attachement et de pénétration, après, ils ont même démontré que la liason N-Acetyl Glucosamine des LPS sont nécessaire pour l'établissement d'une liaison avec les racines de.

La pénétration

Une fois les bactéries sur la surface extérieure des plantes, elles pénètrent à l'intérieur des tissus par les racines latérales, les zones d'émergence ou d'autres ouvertures telles que les

blessures au niveau des racines et par les stomates et les hydatodes au niveau des tiges, généralement se sont les points d'accée des endophytes de type passive.

Les endophytes de type facultative préfèrent modifier les cellules de la surface des plantes par la sécrétion d'enzymes hydrolytiques tels que cellulase, xylanases, pectinase et endoglucanases qui facilitent la dégradation de la barrière et la pénétration des bactéries.

Les majeures parties des bactéries occupent les espaces intercellulaires des différentes parties de la plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs et graines), probablement grâce à la richesse de cette zone en sucres, acides aminés et nutriments. La mobilité des bactéries à l'intérieur des plantes s'accompagne avec la sécrétion des enzymes cellulolytiques qui facilitent l'immigration des endophytes vers les parties aériennes.

Malgré que les endophytes préfèrent loger les espaces intercellulaires, d'autre colonisent les espaces intra cellulaire des plantes, des observations ont été réalisées dans poils absorbants **shoot tips** des bananes, **shoot meristemes** des *Pinus sylvestris* L., les semis de *Panicum virgatum, et dans les micropropagated peach palm.*

La colonisation intracellulaire est un nouveau concept, mais quelques endophytes utilisent le même mode de colonisation des Rhizobia pour les légumineuses. D'autres bactéries atteignent l'espace intracellulaire à l'aide des enzymes de dégradation ou à travers un « Rhizo-phagy ». La rhyzophagy est un phénomène, ou les racines des plantes laissent des bactéries pénètrent à l'espace intracellulaire pour les manger et extraire par oxydation les nutriments nécessaire pour leurs développements.

Chapitre IV : Microbiologie de l'air

Introduction

L'air n'est pas un milieu très favorable à la prolifération des micro-organismes, vu l'absence de nutriments et d'humidité. Mais les poussières atmosphériques contiennent en plus des particules de terre et pollen, virus, bactéries, des moisissures ainsi que des spores bactériennes et des spores de champignons.

L'air peur être divisé en deux catégories : l'air à l'extérieur et l'air à l'intérieur.

1. L'air de l'extérieur

1.1. Définition

L'atmosphère est un en ensemble de couches, principalement gazeuses, qui entourent la masse condensée, solide ou liquide. L'air forme l'atmosphère. Elle est riche en azote et oxygène et pauvre en CO_2.

1.2. Pollution

Les sources de pollution atmosphérique ambiante sont d'origine fixe ou mobile, ponctuelle ou diffuse.

1.2.1. Sources fixes

Les sources fixes correspondent aux installations de combustion individuelles, collectives ou industrielles, les installations d'incinération des déchets et les installations industrielles et artisanales.

Les principaux polluants des sources fixes sont des polluants dérivés de l'oxydation du carbone organique.

1.2.2. Sources mobiles

Les polluants des sources mobiles proviennent surtout des effluents d'échappement des moteurs et aussi de l'évaporation des essences.

1.3. Flore microbienne

Les microorganismes sont véhiculés dans l'air par les poussières et les microgouttelettes en suspension. La plupart des bactéries de l'air sont inoffensives et proviennent de la peau et des voies respiratoires.

Les virus sont à l'origine du rhume, de la grippe et d'autres maladies telles la varicelle et la rougeole. La transmission d'un virus ne peut se faire qu'à proximité ou au contact d'une personne ou d'un objet infecté. Les virus ne peuvent pas se multiplier à l'extérieur d'un hôte et, dans la plupart des cas, ils ne survivent pas longtemps en suspension dans l'air.

La présence de moisissures a été montré à des altitudes de 6000 ou même plus de 27 000 mètres. Il s'agissait de moisissures des genres Alternaria, Aspergillus et Qadosporium.

2. L'air de l'intérieur

2.1. Définition

L'air de l'intérieur est l'air qui se trouve dans des endroits fermés qui peuvent être des maisons, des écoles, des industries, des lieux de stockage et des hôpitaux. Dans les endroits à bonne aération, l'air de l'intérieur a des caractéristiques similaires à l'air de l'extérieur mais dans des endroits tel que les hôpitaux et les lieux de stockage ou une aération permanente n'est pas pratiquée, il y'a un risque de contamination avec les agents pathogènes (moisissures et bactéries).

Le climat intérieur conditionne la génération et la propagation des pollutions ; Le climat intérieur est influencé par de nombreux facteurs. − Le climat extérieur : Un bâtiment n'est jamais isolé hermétiquement. − L'état de murs et de la toiture du bâtiment. − Le système de chauffage. − Le système de ventilation, ou de conditionnement d'air. − Les habitudes des occupants : ouverture des fenêtres, surchauffe des pièces habitables. − Les conditions de vie : nombre de personnes dans une pièce, nombre de locaux disponibles par personne

2.2. Contamination

L'air à l'intérieur a un niveau plus élevé de microorganismes que l'air de dehors. La contamination dépend de 3 facteurs :

Présence de sources de contamination : Une source de contamination est nommée **réservoirs microbiens.** Les réservoirs microbiens sont classiquement distingués en **réservoirs vivants**, c'est-à-dire les personnes présentes dans le local, et en **réservoirs inertes** (poussières).

Amplification et dissémination microbiennes : Une prolifération des réservoirs microbiens peut conduire à une contamination soit permanente, soit le plus souvent transitoire de l'air ambiant. Les microorganismes peuvent être détectés par des signes visibles ou par des indications de leur présence.

Les moisissures sont détectées dans un endroit fermé avec :

• Odeur de moisi

• Signes d'une infiltration d'eau récente ou antérieure

• Mousse poussiéreuse de couleur verte ou noire sur les matériaux

Les bactéries peuvent être détectées par :

• Présence d'eau stagnante trouble

• Dépôt visqueux sur la surface d'un contenant renfermant de l'eau stagnante

• Présence de pigeons près du système de chauffage, de ventilation et de climatisation de l'air ou sur le bâtiment.

La composition de la flore microbienne de l'air : Les microorganismes sont véhiculés dans l'air par les poussières et les microgouttelettes en suspension. Dans ces milieux de l'environnement, on retrouve les micro-organismes saprophytes, bactéries et champignons microscopiques, qui sont très résistants dans le milieu extérieur, et certains germes pathogènes ou commensaux d'origine humaine qui survivent bien en dehors de leur organisme-hôte.

Les milieux secs comme les poussières et les supports inertes fixent les micro-organismes. Ceux-ci sont composés de bactéries à Gram positif (*Bacillus sp.*, staphylocoques, entérocoques, actinomycètes...), de bactéries à Gram négatif telles qu'*Acinetobacter sp.*, de spores de bactéries anaérobies à Gram positif et de champignons microscopiques.

Une augmentation du nombre de micro-organismes ou la prédominance d'une espèce à l'intérieur peut poser un problème pour la santé (Tab.I).

Tableau IV. Les maladies à transmissions aérienne

Type de micro-organismes	**Espèces responsable**	**Maladies**
Bactéries	***Streptococcus hémolytique*** ***Corynebacter diphteriae*** ***Neisseria meningitidis*** ***Bordetella pertussis***	**Scarlatine** **Diphtérie** **Méningite** **Coqueluche**
Virus	**Poliovirus** **Adenovirus** **Myxovirus parotidis** **V. rubeolle, V. variole**	**Poliomyélite** **Infect des voies resp** **Oreillons** **Rubéole, Variole**
Champignons	**Plusieurs espèces**	**Mycoses**

2.3. Moisissures

2.3.1. Caractères générales

Les moisissures font partie du règne Fungi (communément nommé champignons). Ce sont des champignons microscopiques capables de coloniser des supports de nature variée (bois, papiers, tissus, produits alimentaires, etc.) pour peu qu'elles y trouvent une humidité favorable (>70%) et suffisamment de produits nutritifs (tel que la cellulose).

Dans la plupart des cas, leur développement à l'intérieur des locaux est lié à des problèmes d'infiltration (perméabilité des matériaux, humidité, rupture de canalisation) ou surtout à des problèmes de condensation consécutifs à une humidité de l'air trop élevée. L'humidité et la chaleur jouent un rôle primordial et agissent sur la germination, sur la croissance ainsi que sur la sporulation.

Les moisissures sont capables de libérer des toxines nommé **mycotoxines**

2.3.2. Mycotoxines

Le terme Mycotoxine provient du grec ancien « Mycos », qui signifie champignon, et du latin « Toxicum » signifiant poison (Gauthier, 2016). Les mycotoxines sont des métabolites toxiques raffinées par des champignons. Il subsiste des centaines de mycotoxines différentes qui diffèrent de par leur composition chimique et leurs effets sur les animaux et l'homme. Elles sont produites lors de quatre processus différents (Loïc, 2008).Elles sont produite lors du métabolisme secondaire fongique ou de la bioconversion de composés végétaux (ex : dicoumarol), soit aussi suite à une réaction de la plante à des agressions (ex : coumestrol) ou issuent de l'association plante-champignons (cas des champignons endo phytes).

Les principales mycotoxines connues sont : – les aflatoxines produites principalement par Aspergillus flavus ; – les tricothécènes qui regroupent plusieurs dizaines de mycotoxines différentes produites par de nombreuses espèces dont Fusarium spp. et Stachybotrys chartarum ; – les ochratoxines produites principalement par Aspergillus ochraceus et 12 espèces de Penicillium ; – la stérigmatocystine produite essentiellement par Aspergillus versicolor.

Les pathologies respiratoires induites par les spores fongiques sont classées selon leurs effets : **Effets infectieux**, comme une aspergillose pulmonaire invasive chez les sujets immunodéprimés ;

Réactions allergiques: aspergillose bronchopulmonaire allergique, alvéolites allergiques extrinsèques, etc. ;

Effets irritatifs et toxiques. La sensibilisation aux moisissures

2.4. Bactéries

Le risque sur la santé par les bactéries est dû aux endotoxines. Les endotoxines bactériennes sont des composants de la membrane externe des bacilles à Gram négatif. Elles peuvent provoquer par inhalation une inflammation des muqueuses respiratoires et des effets systémiques. Ce sont les lipopolysaccharides (LPS) qui sont responsables de la plupart des propriétés biologiques caractéristiques des endotoxines bactériennes.

Dans les environnements intérieurs, certains facteurs peuvent être corrélés positivement à la présence d'endotoxines bactériennes : la présence de chiens, l'utilisation d'humidificateur ou de brumisateur renfermant de l'eau contaminée, le stockage d'ordures ménagères. L'humidité ambiante est citée comme facteur favorisant des teneurs importantes en endotoxines, alors que l'utilisation d'un déshumidificateur est associée à des niveaux faibles en endotoxines.

Les conséquences sur la santé d'une exposition aux endotoxines bactériennes sont paradoxales. Des personnes exposées à une concentration élevée de poussières organiques carbonées, contaminées par des bacilles à Gram négatif, ont développé un syndrome de type grippal avec fièvre élevée, frissons, fatigue, douleurs musculaires et articulaires. Ce syndrome est baptisé « pneumonie toxique » afin d'indiquer que l'inflammation aiguë du système respiratoire est due à un agent non infectieux et toxique. Par ailleurs, l'exposition chronique aux endotoxines par voie respiratoire a été reliée à de la fièvre, des maux de tête, des irritations du nez et de la gorge, des oppressions thoraciques, de la toux, des souffles courts, des sifflements et des inflammations respiratoires.

2.5. Mesure de contrôle

De simples mesures peuvent être prises pour contrôler la croissance microbienne dans le milieu de travail et à la maison.

Évitez l'infiltration et la condensation d'eau.

Évitez l'accumulation d'eau.

Tenez l'humidité relative à moins de 70 %.

Évitez l'accumulation de poussière dans le système de chauffage, de ventilation et de climatisation de l'air et à l'intérieur des bâtiments.

Empêchez les pigeons de se nicher et de se percher sur l'édifice.

Assurez-vous d'une bonne filtration du système de chauffage, de ventilation et de climatisation de l'air (rendement de dépoussiérage de 50 à 70 %).

2.6 Techniques d'analyse

Il existe plusieurs méthodes d'analyses microbiologiques de la qualité de l'air. Elle permettent de :

- Identifier et dénombrer les moisissures et les levures;
- Identification des champignons macroscopiques
- Identification et dénombrement des bactéries

2.6.1. Technique de sédimentation

C'est la technique la plus simple pour mettre en évidence les micro-organismes vivant dans l'air qui nous entoure et que nous inhalons.

Le principe expérimentale consiste à prendre une boîte de Pétri, remplie d'un milieu gélosé nutritif spécifique est laissée ouverte pendant 2H-8H. Elle est placée ensuite à incuber plusieurs jours. Il reste à dénombrer et identifier les colonies qui apparaissent à la surface du milieu.

Comme toute méthode faisant appel à des milieux gélosés, seuls les germes vivants peuvent être isolés et le choix du milieu et de la température d'incubation sont déterminants

2.6.2. Sédimentation sur plaque en verre

Cette technique est dérivée de la méthode précédente, avec comme différence l'utilisation de la boîte RODAC en l'appliquant sur la surface d'une plaque en verre ayant séjourné 7 jours dans l'environnement à étudier.

Cette méthode permet d'évaluer la charge en micro-organismes dans la poussière de l'air déposée pendant une période déterminée

2.6.3. Précipitation

Cette technique est considérée à la fois Technique qualitative et quantitative. Le protocole expérimental consiste à aspirer l'air à une vitesse variable à l'aide d'une pompe à air, équipée d'un débitmètre. Puis l'air est précipité sur une surface gélosée sélective ou non sélective (contient une gélose nutritive).on parle d'une sédimentation accélérée.

2.6.4. Barbotage

Dans cette technique un volume d'air est aspiré à l'aide d'une pompe, il est véhiculé par la suite vers un milieu de culture liquide. C'est le bouillon nutritif qui est ensemencé sur boite gélosée (milieux sélectifs ou non)

Cette méthode convient bien à des environnements très pollués ainsi qu'aux germes sensibles à la dessiccation.

Lorsque la contamination est supposée élevée et/ou que le volume prélevé est important, on peut procéder par la technique des dilutions successives.

2.6.5. Filtration

La méthode de filtration consiste à filtrer un volume d'air sur un système poreux caractérisé par des pores de 0,45µm qui retiennent à la fois les champignon et les bactéries et aussi des membranes de 0,22µm qui peuvent retenir les virus.

Après filtration les membranes sont déposées sur des milieux de culture solides.

2.6.6. Technique par application

La technique par application dite aussi de contact consiste à appliquer des surfaces gélosées sur la surface à analyser en utilisant des lames sur lesquelles des milieux de culture ont été déposé. (Lames prêtes à l'emploi)

Les endroits à étudier ne doivent pas être gras, de façon est ce que le contact entre la surface à analyser et la lame soit optimale.

2.6.7. Technique d'écouvillonnage

Cette technique consiste à prélever un peu de poussière dans le local à analyser à l'aide des écouvillons.

Le prélèvement se fera dans des endroits assez cachés et à l'abri (comportement le plus de poussières)

2.6.8. Méthode avec impacteurs

Pour une évaluation plus précise de la charge fongique dans l'air, des appareils à impaction ont été spécialement conçus pour permettre de projeter un volume d'air déterminé sur un support approprié.

Comme pour les empreintes de surfaces, ce support peut être un support adhésif transparent, ce qui permet d'observer, de compter et parfois d'identifier rapidement les spores de l'air.

Ce support peut être également un milieu gélosé nutritif sur lequel les spores vont germer après quelques jours passés dans une étuve, généralement à 25°C (période d'incubation

Chapitre V. Microbiote intestinale

1. Microbiote

Le « microbiote » est l'ensemble des micro-organismes que soit bactéries, virus, parasites et champignons et qui sont non pathogènes et commensaux, retrouvés chez l'homme et qui cohabitent avec lui, et ce, quelle que soit leur localisation (peau, bouche, vagin, poumons, intestin…). Chaque individu a un microbiote qui lui est propre en fonction de la combinaison dont il a hérité à sa naissance et de l'ensemble de son vécu par la suite. Le microbiote est aujourd'hui considéré comme un organe à part entière.

2. Microbiote intestinale

2.1. Définition

Le microbiote intestinal, appelé aussi « flore intestinale », est le microbiote le plus important du corps humain. Entre la bouche et l'anus, sur une surface considérable de près de 400 m^2 , plusieurs centaines de milliards de bactéries y cohabitent. C'est de fait dans le tube digestif qu'on trouve le plus grand nombre de bactéries, mais c'est aussi là que leur influence sur la physiologie de l'organisme semble déterminante.

Le microbiote intestinal humain est composé approximativement de 1014 bactéries, auxquelles il faudrait ajouter les virus et les champignons, le tout représentant une masse d'environ un kilogramme. L'identification et l'étude de ces bactéries intestinales sont très difficiles car la grande majorité de ces espèces est anaérobie et seulement 20 % sont cultivables par les méthodes bactériologiques classiques.

En 2010, la première métaséquence du microbiome intestinal humain a été publiée, correspondant à l'analyse des échantillons de selles de 124 sujets européens et à la caractérisation de plus de 3,3 millions de gènes appartenant à environ 1 000 espèces différentes. Les méthodes utilisées sont la séquence des produits d'amplification par PCR des portions variables d'ADN codant les ARN ribosomaux 16S et le séquençage massif à haut débit des ADN totaux extraits d'échantillons de selles. Les gènes identifiés ont été regroupés en 741 unités métagénomiques (MGU) ou dites aussi unité opérationnelle (OTU) .

2.2. Structure

Le microbiote intestinal se caractérise par une localisation préférentielle des différentes populations de bactéries le long du tube digestif, induite par des facteurs à la fois intrinsèques et extrinsèques qui régulent ces populations (Fig.14).

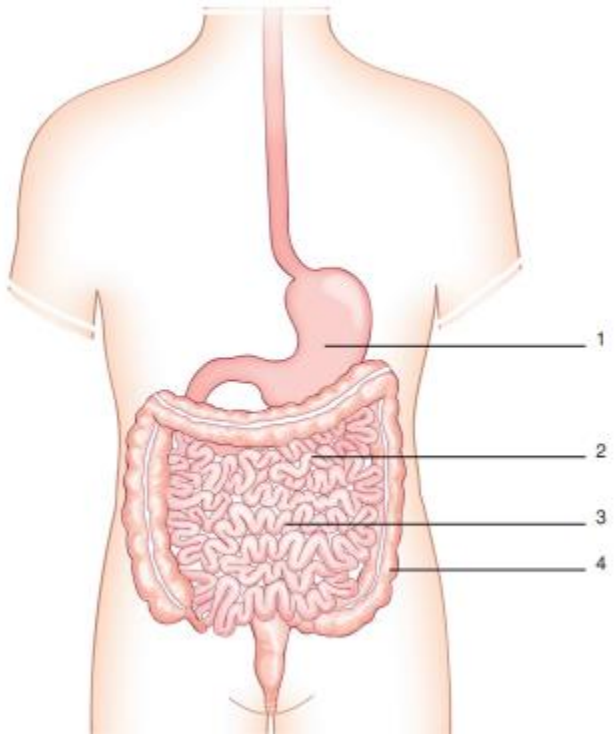


Figure 14. Conditions écologiques abiotiques et microbiote peuplant différentes niches de l'intestin.

1.Estomac :pH acide, 10-10^2UFC/g, Flore ingérée en transit, Lactobacillus, Streptococcus, Helicobacter pulori.2.Jéjunum : acides biliaires, transit rapide, 10^2-10^4UFC/g, flore intgrée en transit, Lactobacillu-Streptococcus.3.Iléon :Transit plus lent, 10^6-10^6UFC/g,Firmicutes, Clostridies, Lactobacillus, Streptococcus, Baceroides.4.Colon : Transit très lent, substrats exogènes diminuent, anaérobiose,108-10^{12}UFC/g,Firmicutes, Clostridies, Bifidobctéries, Entérobactries, Baceroides.

2.2.1. Facteurs intrinsèques

Le rôle spécifique du pH et de l'acidité de l'estomac est particulièrement important pour l'Helicobacter par exemple, ou l'oxygène pour la majorité des bactéries qui sont des anaérobies.

La motricité du tube digestif et le mucus y ont également un rôle important, ainsi que d'autres sécrétions.

Les peptides antimicrobiens peuvent avoir un important rôle à jouer, comme l'immunité avec les sécrétions d'IgA.

2.2.2. Facteurs extrinsèques

L'alimentation est le premier facteur externe qui peut moduler le microbiote intestinal « nous sommes ce que nous mangeons ». Chez le nouveau né qui aura commencé son alimentation par l'allaitement maternel diffèrera de celui alimenté par lait maternisé. L'allaitement favorise

les bactéries bifides, plus de 130 molécules de sucres différents, et varie selon l'alimentation maternelle et selon les espèces.

Les antibiotiques - un point capital dans le contexte de la lutte actuelle contre la résistance aux antibiotiques et leur prise répétée - et les laxatifs qui modifient la motilité. Un traitement antibiotique réduit la qualité et la quantité du microbiote sur plusieurs jours à plusieurs semaines**.**

2.3. Fonctions

Le microbiote intestinal a un rôle dans les fonctions digestives, métaboliques, immunitaires et neurologiques**.**

2.3.1. Effet barrière

Le microbiote de l'intestin joue un rôle de barrière protectrice contre des pathogènes intégrées par plusieurs mécanismes :

L'exclusion compétitive de microorganismes contre eux : une compétition pour le substrat et l'espace (Même site d'adhésion) ou bien par la sécrétion des métabolites tel que les acides ou les bactériocines.

La modulation des sécrétions du mucus : Les cellules humaines ont effet des récepteur aux molécules microbiennes qui reconnaissent des signaux microbiens des microorganismes pathogènes et non pathogènes.

2.3.2. Fonctions métaboliques

Les microorganismes du microbiote peuvent exercer dans l'intestin de nombreuses foncions de dégradation, transformation ou synthèse.

Fermentation : La fermentation microbienne a lieu physiologiquement dans le côlon. Les fibres et les substrats glucidiques sont transférés en oses puis fermentés en acides et en gazs et qui sont par la suite soit transférés ou absorbés.

Par exemple les acides gras à courte chaine ont des propriétés spécifiques. Le Butyrate a des effets trophiques et immunomodélateurs et le proprionate qui est absorbé par la muqueuse colique a la capacité de moduler la production hépatique de cholestérol.

Transformation des acides biliaires et divers xénobiotiques

Beaucoup de molécules exogènes ou endogènes sont solubilisées par conjugaison dans le foie à diverses molécules hydrophiles, ce qui augmente leur amphiphile. Les acides biliaires sont ainsi glycoconjugués ce qui les rend solubles dans la bile, plus émulsifiants dans l'intestin grêle et moins absorbables à ce niveau. La déconjugaison des acides biliaires ou même d'autre substances par des bactéries du microbiote augmente leur liposolubilité ce qui les rend

beaucoup plus absorbables par la muqueuse colique et permet leur circulation entérohépatique.

2.4. Relation microbiote-pathologies

Le déséquilibre du microbiote ou dysbiose est impliqué dans le déterminisme de nombreux états pathologiques : Obésité, syndrome métabolique, maladies inflammatoires de l'intestin, maladies auto immunes, cancer colo rectal, cancer hépatique mais aussi, dépression, trouble du spectre autistique.

2.4.1. Obésité

La composition de la flore du microbiote montre qu'elle est moins diversifiée chez les patients obèses, avec une augmentation des Firmicutes et une diminution des Bacteroides. Les analyses ont pu classés les patients en deux groupes : LGC (faible compte de gènes) et HGC (fort compte de gènes).

Les LGC ont un microbiote caractérisé par une prévalence élevée de 5 bactéries pro-inflammatoires et cette faible diversité génique est associée à une insulino-résistance et un diabète alors que le groupe HGC est caractérise par un pourcentage important de 4 bactéries inflammatoires.

2.4.2. Maladies inflammatoires de l'intestin

Les maladies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn et colite ulcéreuse) sont des affections très fréquentes.

Les gènes de susceptibilité les plus importants de la maladie de Crohn sont NOD2 qui stimule une réponse immune en fixant un muramyl dipeptide, constituant des peptidoglycanes des membranes bactériennes Gram négatives et Gram positives.

Le microbiote intestinal des malades est globalement déséquilibré avec augmentation de certaines Familles comme les Entérobactéries, les Fusobactéries et les Pasteurella, avec réduction des membres du phylum des Firmicutes en particulier les Clostridia.

3.Pharmacobiotiques

La pharmacobiotique a pour objectif de modifier le microbiote intestinal dans un but thérapeutique et ce ci par différents moyens : Prébiotiques, probiotiques, antibiotiques et transplantations fécales.

4.1.Prébiotique

Les prébiotiques sont essentiellement des glucides complexes, comme l'inuline ou les galacto et fructosaccharides, non digérés par l'homme et favorisant la croissance de certains groupes

bactériens (Bifidobacteria, Faecalidacteria,..), et modifiant quantitativement la composition du microbiote. La durabilité de leurs effets nécessite une prise régulière et continue.

4.2.Probiotique

Le terme probiotique dérive de deux mots grec « pros » et « bios » qui signifient littéralement « pour la vie ». Les probiotiques ont bénéficiés de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques.

La FAO et l'OMS ont établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments et formulent la définition suivante : « micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère».

De nombreux microorganismes sont considérés comme probiotiques, Il en existe 3 grands groupes:

- **Les ferments lactiques** : Ils sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose. Ils sont regroupés en 2 catégories, en fonction de leur morphologie : les Lactobacilles (Lactobacillus bulgaris, Lactobacillus acidophilus et Lactobacillus casei) et les coques (Enterococcus et Streptococcus)
- **Les Bifidobactéries** : D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. Avec l'âge, la population de Bifidobacteries diminue et leurs espèces varient.
- **Les différentes levures de type Saccharomyces** : Elles sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire. Les autres bactéries sporulées : Dont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* (Dias et al, 1995).

Les probiotiques réduisent le stress oxydatif et l'inflammation, tous en améliorant le fonctionnement de la barrière intestinale et en restaurant l'équilibre du microbiote. Et qui ont aussi un effet sur les hormones intestinales, nécessaires au contrôle de la glycémie.

Le mécanisme d'action exact des probiotiques est encore inconnu. Toutefois, trois principales hypothèses ont été avancées :

- L'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes et de leurs liaisons avec l'épithélium gastro-intestinal;
- L'amélioration de la fonction barrière de l'intestin;
- La modulation du système immunitaire

Références

Bertrand J-C., Caumette P., Lebaron P., Matheron R., et Normand P., 2011**.** Ecologie microbienne : Microbiologie des milieux naturels et anthropiques. Presses universitaires de Pau et des Pa s de l'Adour .France. pp1002.

Branger, A., Richer, M-M., et Roustel, S. 2007. Quelques Systèmes microbiens. Chapitre 7 *In* : Microbiochimie et alimentation. Editions educagri, pp : 131-134.

Boudila F.2006.Ecologie microbienne.cours.Université de Béjaia

Calame M. Une agriculture pour le XXIe siècle.Editions CLM.

Drapeau, A. J.et Jankovic S. 1977. Manuel de microbiologie de l'environnement ISBN 92 4 254058 7 © Organisation mondiale de la Sante, pp : 1-4, 234-240.

Fortin D. Cours de Microbiologie Environnementale, Université d'Otawa, Canada.

Elhakmaoui A. 2008. Cours de Contrôle de Qualité (analyses chimiques des produits alimentaires) - MST (TACQ). Université Hassan II-Mohammadia- FSTM. p66.

Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood et Woolverton. 2010. Partie VIII. Ecologie et symbiose. *In* : Microbiologie. Traduction de la 7ème édition américaine. Editions DeBoeck Université Bruxelles.pp: 643-739.

Prescott, L. M. Harley and Klein. 2002. VIII Ecology and Symbiosis. *In* Microbiology. Fifth edition. The McGraw−Hill Companies, pp: 596-697.

Prescott, Harley et Klein. 1995. Les microorganismes et l'environnement. Dixième partie. *In* : Microbiologie. Second edition. DeBoeck Wesmael S.A. Bruxelles. pp : 804-845.

Santé Canada.2006. Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique – Les bactéries pathogènes d'origine hydrique : micro-organismes préoccupants courants et émergents. Bureau de la qualité de l'eau et de la santé, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ontario).

Tortora, Funke and Case. 2010. Part four: Structure and Function of the Digestive System And Normal Microbiota of the Digestive System; Part Five Environmental and Applied Microbiology, Chapter 27: Environmental Microbiology. *In* Microbiology an introduction 10th Edition, Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings, 1301 Sansome Street, San Francisco, CA, pp: 706-707; 766-792.