REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHES CIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master
En : Sciences Biologiques.
Spécialité : Microbiologie Appliqué
Par :

Sakouchi Hayet

Guessaimi Khadidja

SUJET :

Le microbiote des fourmis : caractérisation des capacités métaboliques des populations microbiennes impliquées dans les processus de biodégradation de la matière organique.

Soutenu publiquement le 20/ 06 / 2018, devant le jury composé de :

Mr . Bachen. M	MAA	A l'U.Y.F.M	Président.
Mr Chami. B	MAA	A l'U.Y.F.M	Promoteur
Mr Achek. R	MAA	A l'U.Y.F.M	Examinateur 1.
Mr Aines. M	MCB	A l'U.Y.F.M	Examinateur 2.

Année universitaire : 2017-2018

Résumé :

Dans le but d'isoler des micro-organismes de cuticule des fourmis dégradant la matière organique et capables de l'utiliser comme source de carbone et d'énergie, trois échantillons ont été choisis (La chitine, Tween 80 et amidon) . L'isolement et la sélection des micro-organismes a été réalisé sur les milieu chitine et YEM . Ainsi, deux germes ont été isolé et purifie (sur le milieu GN). L'étude des caractères morphologiques, macroscopique, microscopique et biochimiques permet de rapprocher les souches isolées aux actinobactéries , ensuite les deux isolats sont testée pour leur aptitude à dégrader la matière organique sur le milieu solide *in vitro* . Le suivi de la dégradation des trois molécules est réalisé par lecture direct de l'indice de dégradation « Id » , les résultats ont montré une augmentation significative a ($P<0.05$) de la zone de biodégradation chez les deux souches pour la chitine et Tween 80, qui traduit par une forte activité des enzymes hydrolytiques au cour du temps d'incubation.

Mots clés : micro-organismes, matière organique, actinobactérie, biodégradation.

Summary :

In order to isolate cuticle microorganisms from ants degrading organic matter and able to use it as a source of carbon and energy, three samples were chosen (chitin, Tween 80 and starch). Isolation and selection of microorganisms was performed on chitin and YEM medium. Thus, two microorganisms were isolated and purified (on the GN medium). The study of morphological, macroscopic, microscopic and biochemical characters makes it possible to compare the isolated strains with actinobacteria, then the two isolates are tested for their ability to degrade the organic matter on the solid medium in vitro. Monitoring of the degradation of the three molecules is carried out by direct reading of the "Id" degradation index, the results showed a significant increase ($P <0.05$) of the biodegradation zone in the two strains for chitin and Tween. 80, which translates by a strong activity of hydrolytic enzymes in the course of the incubation time.

Key words: microorganisms, organic matter, actinobacteria, biodegradation.

ملخص

من اجل عزل الكائنات الدقيقة لبشرة النمل ودراسة تأثيريها على مدى تحلل المواد العضوية وقدرتها على استخدام المادة العضوية كمصدر للكربون والطاقة , قد تم استخدام ثلاث عينات للدراسة (الكتين توين 80 والنشاء), بعد عزل الكائنات الدقيقة على الأوساط GN والكتين الأوساط YEM و واختبار قدرة هذه الاخيرة على تحليل المواد العضوية ضمن أوساط صلبة ,حيث أثبتت التجارب وفق الخطأ لاحتمالي(P <0.05) قدرة هذه الكائنات على تحليل الكتين وتوين مما يثبت قدرة هذه الكائنات الحية الدقيقة على اصطناع الإنزيمات المسؤولة عن التحلل الحيوي

الكلمات المفتاحية: الكائنات الحية الدقيقة ، المواد العضوية ، الأكتينوباكتريا ، التحلل الحيوي.

Avant-Propos :

Je tiens exprimer ma s'incère reconnaissance à mon promoteur Mr Chami B qui m'a guidé et encouragé tout au long de ce mémoire, pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux lors de la rédaction de cette thèse.

Je tiens a remercier Mr BACHEN. M pour m'avoir accueilli au sein de son équipe afin de réaliser ce travail et de me faire l'honneur de présider ce jury.

Je voudrais également remercier Mr BENHAFRI .R pour la disponibilité dont elle a fait preuve à mon égard et les conseils qu'il m'a donné.

Ma profonde gratitude va à Mr ACHEK .R d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce manuscrit.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les membres de l'équipe de Microbiologie ainsi qu'à ceux:
du laboratoire de biologie de la Faculté des sciences.

Je voudrais remercier ma mère, mon père mes sœurs et mes frères pour tout le soutien, la confiance et leurs mots d'encouragement qu'ils mont accordés.

Mes remerciements vont également aux membres de ma famille pour toutes les agréables tranches de vie.

Il ne tient à cœur de remercier mes amis et plus particulièrement Mr Aines .M qui ont prié pour moi.

Mes plus chaleureux remerciements vont à toutes les personnes qui ont, à un moment ou à un autre, apporté leurs contributions aux travaux effectués durant ce mémoire.

Merci encore à tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont soutenu.

Remerciements

Avant toute chose, je tiens â remercier mon Dieu qui m'a donné la force et la patience.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur Mr. Chami pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines.

Pour tout cela, je tiens à lui exprimer toute ma gratitude. Pour ces encouragements et surtout pour la grande patience qu'il a manifestée, je me trouve incapable de formuler mes remerciements à lui. Aujourd'hui je témoigne que je vous suis redevable et je vous remercie par l'occasion, pour avoir bien voulu examiner mon travail.

Je remercie les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail. Je suis très reconnaissante et en espérant être à l'hauteur de votre confiance.

Mes sincères remerciements à Mr. pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de mon soutenance.

Je remercie également Mr. pour l'honneur qu'il m'a réservé d'avoir accepter d'examiner ce travail.

Je remercie également Mr. pour l'honneur qu'il m'a accordé en acceptant d'examiner ce travail.

dédicase

Je dédie ce modeste travail à : A mes parents SAKOUCHI AHMAD et maman GHANAI .D .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et Longue vie.

A notre encadreur Dr Chami .B

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon fiancé Fateh, et bien sur A mes frères IBRAHIM et HAMZA et NABIL, A mes sœurs RACHIDA ET SOUHILA.

A toute ma famille, et mes amis MANEL, ASIA, et toute la famille SAKOUCHI. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures.

Je dédie ce travail à l esprit de mon professeur l 'aid sualhi A mon père ,A celle qui m'a transmis la vie ,l'amour, le courage, A toi chère maman toutes mes joies .

A mon compagnon dans cette vie DJELLEL MADJID, A mes sœurs MALIKA, SAFIA, HAKIMA, FAYZA, SIHAM,A mes chères frères MOURAD et MOHAMED.

A mes chères amies RACHA, HAYET, DJAMILA, KHADIDJA,WAHIBA ET toutes mon amitié .

A notre encadreur Dr CHAMI MOHAMED

A tous les enseignants qui nous ont dirigé et donné des informations utiles pour l'achèvement de se modestes travaille.

Sommaire

I. Introduction ……..1

II. Généralités …….. 3

1. Planète des fourmis ……..…….3

2.-Morphologie ……..…..….3

1.2. La tête ……..…...3

2.2. Les yeux ……...…..…..3

2.3. Les antennes ……..…....4

2.4. Les mandibules ……....…...4

2.5. Le thorax ……..……..…….....4

2.6. L'abdomen ……..……..……4

3. Organisation sociale……..5

a- la vision …….……5

b. les vibrations …….……..5

c. le contact direct …….……..6

d. les phéromones ……..……..…6

4. Associations des fourmis dans l'écosystème :……...……..7

4.1 Associations facultatives …….…… ….7

4.1.1 Nids dans les plantes ……. 7

4.1.2 Élevage de pucerons, cochenilles et autres homoptères …… **7**

4.1.3 Récolte et dispersion des graines ……8

4.2. Associations obligatoires ……9

4.2.1 Symbiose plantes - fourmis ……9

4.2.2 Mutualisme …… ……10

5. Rôle des fourmis dans l'écosystème ……..……11

5.1. La pollinisation ……11

5.2. Protection des plantes……..…….11

5.3. L'environnement forestier ……...…….11

6. Répartition biogéographique ……12

7. Taxinomie des fourmis ……..……13

8. Les interactions des fourmis dans le monde microbien ……..…13

8.1. Symbiose fourmis-bactéries ……..……13

8.2. Mutualismes fourmis-Champignons ……...…….14

8.3. Parasitisme fourmis-micro-organismes ……...…….16

9. Le microbiote ……..……..17

9.1. Microbiote des fourmis ……..……..17

9.1.1Les mycètes ……... 17

9.1.2 La microflore actinomycétale des termites ……. 19

9.1.2.1 LesActinomycètes ……19

9.1.2.2 Taxinomie et diversité ……...…20

9.1.2.3 Ecologie des actinomycètes ……20

9.1.2.4 Intérêts biotechnologiques ……20

9.1.2.5 Production d'enzymes ……..…21

9.1.2.6 Dégradation de la lignine ……21

10. Localisation des matières organiques et des activités microbiennes ……...…… .22 10.1.

Conséquences pour le fonctionnement du sol ……..…….. 22

10. 2. Biodégradation des matières organiques ……..... 23

10.3. Un contrôle de la biodégradation à l'échelle de l'habitat microbien……...…24

10.4. Les processus à l'échelle microscopique affectent les flux à une échelle macroscopique ……26

11. La matière organique et rôle de la microflore dans les cycles biogéochimiques de l'écosystème (pédogenèse)……..…27

a. La lixiviation ……...……..28

b. La fragmentation …….. 28

c. Incorporation ……..……29

d. Catabolisme enzymatique …….... 29

e. La stabilisation…….....30

III- Matériel et méthodes……..……32

A. Matériel ……...……..32

A.1.Collectes des fourmis……..……..32
A.1.1. Site de prélèvement…….…32
A.1.2. Fiche technique de la station ……..... 32
A.2-Les milieux de culture, la solution tampon et les réactifs utilisés **…….…..** **33**
B. Méthodes ……..……33
B.1- Localisation du site d'essais ……..……..33
B.2-Méthodes appliquées à l'insecte ……33
a -Analyse de caractérisation de microbiote cuticulaire……...….33
b -Analyse de caractérisation de microbiote interne (le tube digestif)… .33
c-Analyse de caractérisation totale…… 33
B.2.1.Analyse de caractérisation du microbiote cuticulaire ……. …….34
B.2.1.1. Etape pré-laboratoire ……..34
a- Prélèvement dans une unité de sol……...34
b- Recommandation pour le prélèvement ……..…….....34
B.2.1.2. Etape au laboratoire ……35
B.3-Méthodes appliquées à la microflore …….....35
B.3.1. Isolement des actinobactéries ……..35
a. Lavage ……...……..35
b. mise en culture…….....36
B.3.2.purification des actinobactéries ……..……..37
B.3.3. Identification des souches isolées …….. 38
B.3.3.1. Examen macroscopique (aspect morphologique)……..…… 38
B.3.3.2. Examen microscopique ……..……....39
B.3.3.3.Caractérisation biochimique…….....39
B.3.4. Tests de dégradation de la matière organique *in vitro*……..41
B.3.4.1. Décomposition de la Matière Organique par les souches isolées ……41

a-Sur milieu chitine ……..…. 41
b-Sur milieu d'amidon ……... 42
C- Sur milieu Tween 80 (ester d'acides gras) …….....42

B.3.4.2. Application de technique des disques ……..….42
a. Quantité d'inoculum utilisé ……42
b. Mode opératoire ……...…….. 42
c. Incubation ……. 43
d. Lecture……..…. 44
B.3. Analyse statistiques des données ……..... 44

IV. Résultats et discussion ……....45

1.Isolement et sélection des souches différentes …….……. 45
1.1. Isolement …….…….... 45
1.2. Purification des souches capables de l'utiliser la chitine comme source de carbone et énergie ……..……46
2. Identification des souches isolées ……46
2.1. Aspect macroscopique ……...46
2.2. Observation microscopique …….. 47
2.3. Caractérisation biochimique……...……...48

3. Etude, *in vitro*, de la cinétique de dégradation de la matière organique par les souches sélectionnées ……...……...……...49
3.1. Cinétique de biodégradation des matières organiques …….….49
3.1.1. Mesure de «Id » des deux souches bactériennes sur milieu chitine……..……49

3.1.2. Mesure de «Id » des deux souches bactériennes sur milieu tween80……52

3.1.3. Mesure de «Id » des deux souches bactériennes sur milieu d'amidon……...54

V. Conclusion et perspectives……..…….……57

VI. Références bibliographiques

Liste des abréviations

ARN: Acide ribonucléique.

ARNr : Acide ribonucléique ribosomal.

Aw: Activité de l'eau.

ARNr 16S: Acide ribonucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S.

°C : Degré Celsius.

Cm : Centimètre.

CCM : Chromatographie sur couche mince

CaCO3 : Carbonate de calcium.

C : Carbone.

DAP: Acide diaminopimélique.

DAB : acide 2,4 diaminobutyrique.

Fig : Figure.

FeSO4 7H2O : Sulfate de fer sept fois hydraté.

G+C: Guanine +cytosine (Coefficient de Chargaff).

GC: Guanine Cytosine.

g : Gramme.

Hcl : acide chlorhydrique.

h : Heure.

ISP : l'International *Streptomyces* Project (milieu de culture).

KH2PO4 : Phosphate monopotassique.

K2HPO4 : Phosphate dipotassique.

L : Litre.

MA : Mycélium aérien.

MS : Mycélium du substrat.

MgSO4 7H2O : Sulfate de magnésium sept fois hydraté.

MnCl2 4H2O : Chlorure de manganèse quatre fois hydraté.

M2 : Milieu Williams (milieu de culture).

ml : Millilitre.

mm : Millimètre

m: Mètre.

mg : Milligramme

min : Minute.

(NH4)2 SO4: Sulfate d'ammonium.

N : Normalité.

NaCl : Chlorure de Sodium.

ND : Non déterminé.

N°: Nombre.

PS : Pigment soluble.

PCR : Polymerase chain reaction.

pH : Potentiel Hydrogène.

q.s.p : Quantité suffisante pour

Rpm: Rotation par minute.

Rf : Rapport frontal.

S : *Streptomyces.*

SSN: station sidi naaman .

Tr:tour

µ: Micro.

µg: Microgramme.

µl: Microlitre.

µm: Micromètre.

µg/ml: Microgramme/millilitre

v/v : Volume sur volume.

ZnSO4 7H2O : Sulfate de zinc sept fois hydraté.

% : Pourcentage.

.

S: Spira.

Listes des figures :

Figure 01 : Morphologie générale de la fourmi…….....5

Figure 02: Une fourmi Céphalote sur une plante……. 10

Figure 03 : Répartition biogéographique des populations des fourmis dans le monde...12

Figure 04: Exemples d'interactions entre plantes, fourmis et champignons …… 16

Figure 05 : Mycètes ((a) *Aspergillus* et (b) *Metarhizium*) développent sur les fourmis …….18

Figure 06 : Morphologie d'actinobactéries (*Micromonospora* sp) au microscope éléctronique …….22

Figure 07 : Fragmentation de la matière organique dans la nature……... 29

Figure 08 : Incorporation de la matière organique…… 29

Figure 09 : Stabilisation de la matière organique ……31

Figure 10 : Présentation de la station du prélèvement des fourmis …….. 32

Figure 11 : collecte des fourmis prélevées dans la parcelle d'élevage (SSN) incubé dans une température de 20C° au laboratoire ……..... 35

Figure 12: Les étapes de l'isolement des micro-organismes …….36

Figure13 : Mise en culture sur milieu chitine à une température de (28°C à 30°C) pendant plusieurs semaines ……...37

Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies de deux actinobactéries purifiées sur milieu YMEA après 7jours d'incubation à une température de 30°C ……....38

Figure 15: Dispositif expérimental renferment les différents traitements effectués dans le test de décomposition *in vitro* de la matière organique par les deux souches sélectionnées S1 et S2. ……. 43

Figure 16: Aspect macroscopique des deux bactéries isolées sur milieu de culture solide ……..46

Figure 17: Aspect microscopique des isolats après coloration de Gram (Gx100)

…….... 47

Figure 18 : Recherche du pouvoir chitinolytique des deux souches testées. Mise en évidence des zones de lyses après 11jours d'incubation à 30°C …….. 50

Figure 20 : cinétique de la biodégradation de la chitine par les souches (S1) et (S2)……..….52

Figure 21 : Recherche du pouvoir lytique sur milieu Tween 80 des deux souches testées. Mise en évidence des zones de lyses après 11jours d'incubation à 30°C……. 53

Figure 22 : cinétique de la biodégradation de Tween 80 par les souches (S1) et (S2) ……54

Liste des tableaux :

Tableau I : Tests biochimiques effectués …… 40

Tableau II: Dénombrement des colonies isolées de différents repiquages dans un milieu chitine. ……..……45

Tableau III : Caractéristiques macroscopiques des deux actinobactéries isolées…..47

Tableau IV: Aspect microscopique des bactéries isolées…… 47

Tableau V: Résultats du test de coloration Gram des deux isolats S1 et S2 …….48

Tableau VI: Caractères biochimiques des souches bactériennes isolées……48

Tableau VII: Variation de l'activité bactérienne des deux souches testées S1 et S2au cours des 11 jours d'incubation, sur milieu chitine ……...51

Tableau VIII : de l'activité bactérienne des deux souches testées S1 et S2, au cours des 11 jours d'incubation, sur milieu Tween 80 ……..54

Tableau IX : Production des enzymes dégradant la matière organique (chitinase, amylase et lipase) par les deux souches testées S1 et S2. ……..…56

I. Introduction :

Les communautés microbiennes sont des assemblages de plusieurs « espèces » de micro-organismes (bactéries, champignons, levures, virus) vivant dans un environnement contigu et interagissant les unes avec les autres. L'écologie microbienne est une discipline qui cherche à **(i)** comprendre les facteurs qui régissent les assemblages microbiens dans l'espace et le temps **(ii)** appréhender l'implication fonctionnelle de ces communautés dans leur environnement biotique et abiotique afin de **(iii)** mieux prédire l'évolution **[Caroline .B, 2017].**

Les bactéries de la famille des Actinomycètes sont des Gram-positives formant généralement des hyphes ramifiés et des spores asexuées. La chimie de leur paroi, en particulier celle du peptidoglycane, la séquence de l'ARNr 16S et la forte teneur en G+C de leur ADN (70%) sont également caractéristiques de cette famille, dont de nombreuses espèces jouent un rôle important au niveau de **la minéralisation des sols** et sont la source principale de la plupart **des antibiotiques** synthétisés naturellement. La famille des **Actinomycètes** est constituée d'une quarantaine de genres qui se distinguent les uns des autres essentiellement sur base de leur morphologie générale qui peut être extrêmement diversifiée, comme par exemple le bacille (*Mycobacterium tuberculosis*) et des bactéries filamenteuses comme dans les deux genres majeurs *Nocardia* et *Streptomyces.*

Les bactéries de la famille des Actinomycètes retiennent particulièrement notre attention et semblent être d'excellentes candidates productrices de substances aux propriétés intéressantes (**enzymes hydrolytiques**). Ces bactéries ont principalement pour habitat naturel **le sol** et **la faune** tellurique, où elles jouent un rôle important dans la **décomposition** et la **minéralisation** des matières organiques (lignine, cellulose...), grâce à la production de nombreuses enzymes lytiques extracellulaires comme par exemple les amylases, les xylanases, les lipases. Il existe une réelle demande au niveau industriel pour des enzymes d'origine microbienne afin d'améliorer certains procédés de fabrication.

Les domaines d'application enzymatiques sont très divers: industrie textile (décoloration de jeans), papeterie (procédé de blanchiment de la pâte à papier), dépollution (attaque des substances phénoliques), industrie alimentaire (boulangerie .. .), Les Actinomycètes en général, et plus particulièrement les *Streptomyces* sont également

d'importance médicale et industrielle parce qu'ils synthétisent des antibiotiques de structures très diverses et en quantité abondante. En effet, plus de cinquante antibiotiques différents ont été détectés dans le genre de *Streptomyces*, y compris la streptomycine, la néomycine, le chloramphénicol et les tétracyclines **[Davail S, Mako L, 2003].**

- **L'objectif de notre travail est :**

1- **d'isoler la microflore actinomycétale de la cuticule des fourmis.**
2- **de caractériser ses capacités métaboliques (enzymatiques) impliquées dans les processus de biodégradation des substances organiques des souches d'actinomycètes isolées, dans le but d'utiliser ses biomolécules dans les domaines : agro-écologique (pédogenèse et biofertilisation des sols), industriel et environnementale.**

II. Généralités :

1. Planète des fourmis :

Les fourmis sont des insectes, donc des invertébrés (sans squelette interne). Elles appartiennent à la famille des formicidés et, comme les guêpes et les abeilles, font partie de l'ordre des hyménoptères (du grec *hymên*, « membrane » et *ptéron*, « aile »). Ce sont des insectes vivant en colonies composées généralement d'une reine et de nombreuses ouvrières. Leur taille varie de quelques millimètres à quelques centimètres **[3].**

2- Morphologie :

Quelle que soit leur taille, les fourmis ont toutes un corps composé de trois parties principales : la tête, le thorax et l'abdomen. L'ensemble du corps est protégé par une sorte de carapace que l'on appelle cuticule. Celle-ci renferme les pigments responsables de la couleur des insectes. Les fourmis peuvent donc être de différentes couleurs : rousses, brunes, noires, rouges, jaunes, vertes et argentées. L'abdomen est relié au thorax par ce qu'on appelle le pétiole **(figure 01) [3].**

1.2. La tête :

La tête d'une fourmi est très différente d'une espèce à l'autre. Elle n'a pas d'oreilles, mais perçoit les vibrations par des capteurs situés sur ses pattes. Le cerveau contient une grande partie des organes sensoriels et, bien que très petit, il compte des milliers de neurones capables de recevoir, de produire et de se souvenir de certaines informations comme l'emplacement du nid **[3].**

2.2. Les yeux :

Comme tous les insectes**,** la fourmi possède des yeux composés d'une multitude de facettes utiles pour percevoir les formes et les mouvements. Les ocelles, trois petits yeux simples et supplémentaires placés en triangle sur le dessus de leur tête, sont surtout présents chez les fourmis reproductrices, voire parfois chez des fourmis éclaireuses. Ces ocelles sont utiles pour capter les différences de luminosité et permettent aux fourmis de s'équilibrer lors du vol nuptial. un très large champ de vision (~300°, contre 220° chez l'être humain), mais leur acuité visuelle est juste suffisante pour distinguer la forme de la ligne d'horizon **[3].**

2.3. Les antennes :

Les antennes sont recouvertes de cils tactiles (sensilles) qui permettent aux fourmis de percevoir les odeurs, de savoir ce qu'elles touchent, de reconnaître les goûts et ce qu'elles rencontrent. Coudées comme des branches de lunettes, les antennes bougent dans toutes les directions. Elles ne sont pas situées sur le dessus de la tête, mais entre les deux yeux (un peu comme à l'emplacement d'un nez)**[3].**

2.4. Les mandibules :

Les mandibules pourraient être comparées à des mâchoires. Les fourmis s'en servent pour chasser, mordre, transporter, préparer la nourriture et également pour couper, saisir, attaquer les ennemis et se défendre. Ces mandibules orientées vers l'avant sont ainsi considérées comme des pinces multifonctionnelles ou des instruments de travail **[3].**

2.5. Le thorax :

La taille du thorax de la fourmi varie selon les espèces et selon qu'il s'agit d'une reine, d'un mâle ou d'une ouvrière. Chez une future reine ou un mâle, il doit pouvoir porter les ailes (qui ne serviront que pour le vol nuptial), au contraire des ouvrières qui sont aptères (sans ailes). Trois paires de pattes y sont fixées et chacune se termine par deux petites griffes. Une sorte de coussinet couvert de poils se trouve entre les deux griffes et permet à la fourmi de se déplacer sur des surfaces lisses ou en pente **[3].**

2.6. L'abdomen :

L'abdomen comprend les conduits respiratoires, les organes reproducteurs, l'estomac, l'intestin, le rectum et, à l'extrémité de certaines espèces, un aiguillon qui leur sert à injecter du venin dans une proie. Le rétrécissement, ou pétiole, que l'on observe à l'avant permet, d'une part, une grande mobilité de l'abdomen et d'autre part, il empêche la fourmi d'avaler des aliments en morceaux, car ces derniers ne passeraient pas. Les fourmis ouvrières ainsi chargées d'aller chercher de la nourriture mangent suffisamment à leur faim et stockent un surplus dans leur deuxième estomac appelé couramment jabot social ou estomac social. Ensuite, elles digèrent et s'échangent ce surplus de nourriture en pratiquant le bouche-à-bouche (trophallaxie, schéma ci-dessous) avec les autres fourmis et les larves restées à la fourmilière **[3]**.

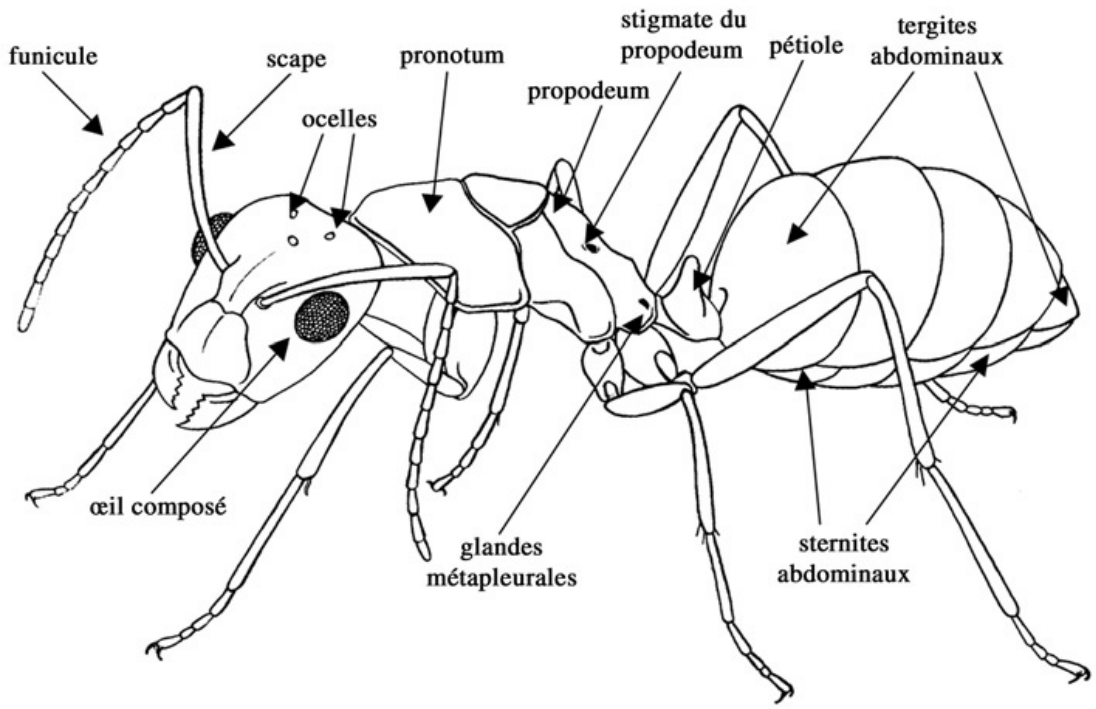


Figure 01 *:* Morphologie générale de la fourmi.

Cette ouvrière appartient à la sous-famille des Formicinae caractérisée par son pétiole en forme d'écaille. Les glandes métapleurales sont une structure particulière présente chez presque toutes les Formicidae **[Müller R, 2005].**

3. Organisation sociale :

Comment communiquent-elles ?

a- la vision :

La vision ne joue plus qu'un rôle mineur dans la communication chez les fourmis. Chez de nombreuses espèces la vue est peu développée ou même absente. Les **yeux composés** (2 sur l e côté) sont constitué d'un ensemble de petites unités appelées **ommatidies**. Plus le nombre d'ommatidies est élevé, plus la vision est précise. Les ocelles **(**3 sur le devant) permettent de détecter les variations de l'intensité lumineuse.

b. les vibrations :

La fourmi n'a pas d'oreilles mais perçoit les vibrations grâce aux capteurs situés sur ses pattes. Certaines espèces utilisent un **organe stridulatoire** au niveau de leur abdomen ; d'autres frappent une partie de leur corps contre le sol ou les parois du nid. Ces vibrations assurent une communication rapide et efficace à courte distance. Elles peuvent être utilisées comme signal de détresse, pour sonner l'alerte ou pour signaler la présence de nourriture.

c. le contact direct :

La communication peut également se faire par des **contacts directs grâce aux antennes et aux pattes antérieures.** Le corps est recouvert de centaines voire de milliers de **poils appelés soies ou sensilles** qui détectent les informations chimiques ou tactiles. Les fourmis communiquent donc de façon sonore, visuelle et tactile mais aussi chimique**.**

d. les phéromones :

Pour échanger des informations, les fourmis, comme d'autres animaux d'ailleurs, utilisent des **phéromones**. Ces phéromones sont produites par des glandes spécifiques. La fourmi réceptrice repère et identifie les phéromones grâce aux **sensilles** de ses antennes.

•Il existe différents types de phéromones :

• **Les phéromones de piste** pour indiquer une cible particulière et baliser le trajet.

• **Les phéromones d'alerte** émises en cas de danger.

• **Les phéromones passeport ou de reconnaissance** pour reconnaître les membres de **la colonie** : dès qu'une fourmi en croise une autre, elle effleure sa cuticule avec ses antennes pour s'assurer qu'il s'agit bien d'une de ses sœurs. Si les deux fourmis sont étrangères, elles s'agressent ou s'évitent.

• **Les phéromones sexuelles** qui permettent la rencontre entre mâles et femelles

• **Les phéromones d'agrégation** émises par la reine conduisent les ouvrières à se regrouper autour d'elle.

• **Les phéromones émises par le couvain** conduisent les ouvrières à prodiguer des soins. Exemple de la collecte de nourriture Une fourmi découvre de la nourriture aux alentours de la colonie. Elle s'alimente et retourne au nid. Tout au long de son trajet, elle dépose des phéromones. Les autres fourmis sont attirées par ce message qui les guide jusqu'à la nourriture. Lorsqu'elles reviennent à la fourmilière, elle procède à leur tour au marquage, la **piste chimique** est ainsi renforcée à mesure que des fourmis visitent les lieux. Dans ce cas, les fourmis ne communiquent pas directement entre elles mais de manière indirecte par les traces laissées dans l'environnement **[Gaston F,2012].**

4. Associations des fourmis dans l'écosystème :

4.1 Associations facultatives :

a. Nids dans les plantes :

De nombreux arbres et arbustes et même des petites plantes sont utilisés par les fourmis pour nidifier : trous dans le tronc, galles, épines, branches creuses. En régions tropicales des espèces de fourmis opportunistes construisent de grands nids en carton ou en terre sur les arbres (attention, ce sont souvent aussi des termites). Elles élèvent des homoptères producteurs de sève (voir plus loin). Il s'agit d'associations non spécifiques : une espèce de fourmis peut s'installer sur n'importe quel végétal si les conditions sont favorables. On connaît des espèces avec individus « portiers » à tête élargie pour boucher l'entrée du nid (*Colobopsis truncatus*).

Lasius fuliginosus fréquente chez nous forme un nid en carton (fibres végétales mâchées comme les guêpes) dans une cavité d'arbre. Les fourmis charpentières vivent dans des galeries du bois mort qu'elles agrandissent. Chez nous il y a *Camponotus vagus* qui ne fait pas de dégâts. Ce n'est pas le cas d'autres fourmis charpentières en Amérique du Nord qui peuvent attaquer des charpentes. Les fourmis dites granivores, ou moissonneuses, parcourent leur territoire à la recherche de nourriture. En Europe, par exemple, les fourmis *Messor barbarus* récoltent en été de nombreuses graines qu'elles ramènent au nid. Celles-ci sont stockées dans des loges de la fourmilière, à l'abri de l'humidité pour empêcher la germination. Durant l'hiver, les fourmis réduisent au maximum leur métabolisme et ne se nourrissent pas. A leur réveil au printemps, elles n'avalent pas directement les graines stockées. Celles-ci sont mâchées et, à force d'être mélangées à la salive, forment une pâte que les fourmis peuvent consommer **[Altieri M.A., 1999].**

b. Élevage de pucerons, cochenilles et autres homoptères :

Les fourmis sont très attirées par le sucre. Une source de sucre (et d'acides aminés) est le miellat des pucerons. Ceux-ci piquent l'écorce des végétaux et pompent la sève. Ils en absorbent beaucoup trop et rejettent l'excédent (90%) par l'anus ; c'est le miellat. Les pucerons sont protégés par les fourmis contre les prédateurs comme les coccinelles et certains parasites. Par exemple, un travail récent a montré que le taux de super-parasitisme (parasites de parasites) diminue considérablement en présence des fourmis *Lasius niger* **[Sanders Set al. 2010].** Les fourmis vont limiter la dispersion des pucerons en coupant les ailes des formes ailées ou par action chimique (les secrétions

des glandes mandibulaires des fourmis inhibent le développement des ailés). De même, les formes aptères se déplacent moins en présence des fourmis **[Oliver et al.2007].** Ce la permet une plus grande production de miellat. Les pucerons et autres « bétail » peuvent être déplacés en hiver ou lors des migrations. Les fourrageuses se spécialisent dans l'exploitation d'un groupe de pucerons, on peut ainsi parler de véritables « troupeaux » avec leurs bergères **[Ebbers et al.1980]**. Il s'agit donc d'un véritable élevage. Elles sont parfois aussi adaptées à leurs fourmis et ne rejettent une gouttelette de miellat que lorsque les fourmis les sollicitent. Certaines espèces de pucerons ne sont élevées qu'en présence de leur fourmi hôte et sont reconnues comme telles grâce à leur odeur qui mime celle des fourmis, ce sont des hydrocarbures de la cuticule. C'est le cas d'un puceron de la tanaisie, *Macrosiphoniella fuscoviride*, par *Lasius niger* (petite fourmi noire des jardins, très courante)[**Völkl et al .1999]**. D'autres espèces ne sont pas mutualistes et sont mangées par les fourmis. Il n'y a pas que les hydrocarbures qui permettent la reconnaissance : les *Lasius niger* sont attirés par des odeurs volatiles des bactéries *Staphylococcus xylosus* des pucerons (*Aphis fabae*) **[Fischer et al .2015].**

On considère souvent les fourmis comme néfastes car la plante est affaiblie par les pucerons trop nombreux. Mais le bilan est plutôt considéré positif actuellement car il y a prédation de nombreux insectes. En fait, le système est complexe : si on place des filets sur les rosiers pour empêcher le développement du puceron du rosier on diminue le nombre de fourmis. Les fourmis rousses dans les forêts qui forment les grands dômes d'aiguilles et branchettes élèvent de nombreux pucerons mais détruisent de nombreux insectes phytophages. Ces fourmis rousses sont protégées en Suisse. On les a transplantées en Italie dans les années 1960, mais avec un succès mitigé. Il y a actuellement un problème, leur population diminue très fortement, par exemple en touraine sans que l'on sache pourquoi. Dans les forêts du Colorado les ours ouvrent les fourmilières d'une fourmi des bois *Formica* pour se nourrir des fourmis et des larves, ce qui tue la colonie. Des arbustes voisins ne sont plus exploités par les hémiptères protégés par les fourmis et peuvent alors de développer mieux **[Grinath et al.2015].**

c. Récolte et dispersion des graines :

La myrmécochorie (du grec *Myrmecos* = fourmi et *Chor* = porter, disséminer) est une méthode de dispersion des graines particulièrement efficace.

Tout le monde connaît les fourmis moissonneuses qui font de longues pistes ramenant au nid des graines en région méditerranéenne. Ces fourmis moissonneuses habitent en région semi-aride : *Messor* dans le sud (ne piquent pas), *Pogonomyrmex* en Amérique (piqûre douloureuse). Un cercle autour du nid marque la limite où sont rejetées les graines non consommées. Dans la forêt, certaines graines ont un élaiosome (partie pulpeuse riche en sucres, protéines et surtout en graisses attractives pour les fourmis) ; elles sont rapportées au nid 3 (violette, cyclamen, mélampyre, chélidoine, euphorbe..). L'élaiosome est consommé, puis la graine est rejetée, ce qui contribue à sa dissémination. On parle de myrmécochorie : mode de dispersion des graines par les fourmis. Il existe de nombreuses espèces de graines avec élaiosome, de couleurs et formes très variées (au moins 11 000 espèces de plantes adaptées pour la myrmécochorie). En Afrique du Sud certaines espèces de plantes endémiques à élaiosome sont dispersées par des fourmis locales. La fourmi d'Argentine invasive détruit ces fourmis, mais elle ne récolte pas ces graines donc les plantes sont menacées de disparition. En fait, la dissémination des graines se fait à courte distance, en moyenne 2 mètres seulement (avec un maximum de 180 m quand même) **[Gómez et al .2013].**

4.2. Associations obligatoires

a. Symbiose plantes - fourmis :

Certaines plantes (plantes à fourmis = myrmécophytes) entretiennent des relations intimes avec les fourmis et forment une véritable symbiose : hébergement des fourmis dans des cavités foliaires ou caulinaires (appelées domaties) et nutrition à partir de corpuscules (corps nourriciers – *food bodies*- riches en protéines) ou de secrétions (nectar extrafloral riche en fructose, glucose et saccharose avec des acides aminés libres), parfois les deux. Dans l'autre sens les fourmis protègent la plante contre les défoliateurs. La fourmi apporte aussi des déchets azotés (cadavres des proies) qui manquent à la plante (comme les plantes carnivores). Pour cette raison, ces plantes importées et élevées en serre sans leurs fourmis poussent mal. Sur ces arbres, les fourmis élèvent aussi souvent dans les cavités des pucerons et autres hémiptères pour leur miellat (voir plus haut). Les fourmis défendent leur plante hôte contre les autres plantes comme les nombreuses lianes en forêt tropicale : elles patrouillent à la base de l'arbuste et coupent les jeunes pousses. Elles nettoient les feuilles pour éliminer les pathogènes (champignons), mangent les œufs des insectes herbivores et repoussent les

mammifères. La plante au début de son développement produira peu de récompenses pour empêcher la croissance trop rapide de la colonie de fourmis. Les fourmis sont aussi capables parfois de mutiler leur plante-hôte pour l'empêcher de fleurir et

produire plus de corps nourriciers. Mais la plante peut se venger de cette castration et produit des poches foliaires (nids des fourmis) plus petits et moins de corps nourriciers ce qui limite le développement de la colonie de fourmis. Ainsi s'établit un équilibre entre la plante et ses hôtes **[Malé et al .2013].**



Figure 02: Une fourmi Céphalote sur une plante **[Frederickson et al.2005].**

b. Mutualisme :

De nombreux cas de mutualisme plante-fourmis sont connus en zone intertropicale: plus de 100 genres d'Angiospermes et 40 genres de fourmis. Jardins du diable En Amazonie on connaît des surfaces où vit une seule espèce d'arbuste (*Duroia hirsuta*) avec sa fourmi (*Myrmelachista schumanni*) qui détruit les plantules des autres plantes avec l'acide formique. La fourmi mord la plantule et y dépose une goutte d'acide provoquant la nécrose de la feuille en quelques heures. Ces jardins sont très stables, on en connaît qui ont 5 800 ans et 350 arbustes. Il y a une seule colonie avec trois millions d'ouvrières et 15 000 reines

[Frederickson et al.2005] Les arbres *Barteria* en forêt tropicale hébergent *Tetraponera* une fourmi à piqûre très douloureuse. Les femmes adultères étaient autrefois attachées sur cet arbre au Cameroun. Les arbres acacias sont myrmécophytes. Ils hébergent des *Crematogaster* (Afrique) ou des *Pseudomyrmex* (Amérique) qui les protègent contre les défoliateurs, par exemple girafes et éléphants *Cecropia* et *Azteca* en Amérique : invention du velcro. En Guyane, la symbiose entre les fourmis du genre *Azteca* et l'arbre *Cecropia* (ou bois canon) est fréquente. La fourmi utilise le principe du Velcro pour s'agripper fermement aux feuilles du *Cecropia* et pouvoir ainsi capturer de très grosses proies. Les fourmis de cette espèce ne se nourrissent pas à partir de corps nourriciers fournis par l'arbre en plus du

logement, mais ont mis au point une stratégie de chasse reposant sur une organisation sociale très élaborée. Les ouvrières se postent côte à côte sous la bordure des feuilles de l'arbre et attendent dans cette position d'éventuelles proies qui viendraient se poser pour trouver un abri ou attaquer les feuilles de l'arbre. Dans cette position, les fourmis s'agrippent solidement aux feuilles grâce au principe du Velcro. En effet, la face inférieure des feuilles présente une ramification de longs poils qui constitue la partie «velours» sur laquelle s'accrochent les griffes des ouvrières formant la partie «crochets». Grâce à ce principe, une fourmi peut maintenir jusqu'à plus de 5 000 fois son poids. Un groupe d'ouvrières peut capturer de très grosses proies, la plus grosse rencontrée étant un criquet de 18,61 g soit 13 350 fois le poids d'une ouvrière **[Dejean et al.2010]**. Les domaties à la base des feuilles hébergent une petite fourmi prédatrice *Allomerus decemarticulata.* Elles creusent des galeries dans les pétioles et les tiges et percent de très nombreux trous où elles peuvent entrer et sortir. Les trous sont bâtis avec les poils de la plante, des restes de proies et le système est renforcé avec le mycélium d'un champignon spécifique *Trimmatostroma cordae*. Cela fonctionne comme un piège ; les fourmis guettant avec la tête juste dans le trou et s'agrippant à la proie qui se pose, pour la piquer **[Dejean et al.2005].** On a montré que le champignon est spécifique et même d'un seul haplotype (ordre des Chaetothyriales) **[Ruiz-González et al.2011].** Le champignon permet aussi le transfert d'azote vers la plante. C'est une symbiose t ripartite complexe **[Corbara et al.2011].**

5. Rôle des fourmis dans l'écosystème :

5.1. La pollinisation :

Il est très faible, pourtant les fourmis peuvent se nourrir du nectar des fleurs. Seulement quelques rares cas sont connus (16 cas avérés). Il est possible que la pollinisation soit empêchée par les substances antiseptiques des glandes métapleurales qui pourraient tuer les grains de pollen. Certaines plantes comme le *Cytinus hypocistis* sont malgré tout dépendantes des fourmis pollinisatrices qui viennent récolter le nectar des fleurs et sont attirées par les odeurs de la fleur **[De Vega et al.2014]**. Les fourmis visiteuses transportent aussi des levures qui consomment les sucres du nectar (transformés en alcool), ce qui diminue la qualité du nectar et le rend moins attractif pour les fourmis **[De Vega et al.2011].**

5.2. Protection des plantes:

Les fourmis fileuses tropicales *Oecophylla*, où le nid est formé de feuilles « cousues» avec la soie des larves. Il est composé de nombreux petits nids (plus de 150) sur les arbres qui sont très défendus, il y a une seule reine. Ces fourmis sont utilisées en Chine et au Vietnam pour protéger les cultures de citronniers, en Afrique tropicale pour les noix de cajou, cocotiers et cacaoyers **[Corbara et al.2011].**

5.3. L'environnement forestier :

Les jardins de fourmis sur les arbres en Amazonie : boule de terre sur laquelle poussent de nombreuses plantes comme des Broméliacées et où vivent souvent plusieurs espèces de fourmis. Ces plantes possèdent des nectaires et des corps nourriciers extra floraux qui attirent les fourmis, et produisent un nectar riche en sucres, acides aminés et nombreuses autres substances. Cela produit un véritable écosystème avec des creux où de l'eau s'accumule et toute une faune aquatique s'y installe. La plante récupère de l'azote provenant des cadavres d'insectes aquatiques. En Guyane les chercheurs étudient par exemple la broméliacée *Aehmaea mertensii* où vivent deux espèces de fourmis, *Camponotus femoratus* ou *Pachycondyla goeldi*. La plante change de phénotype selon la fourmi associée **[Biven S et al.2009].** Fourmis consommatrices de plantes Certaines fourmis consomment des pétales de fleurs comme les cystes.

6. Répartition biogéographique :

Les fourmis constituent donc un des organismes dominants de la planète par leur abondance, leur répartition mondiale «On pense qu'il existerait entre 25000 et 30000 espèces de fourmis, fait-il remarquer. Beaucoup se trouvent dans des zones tropicales peu étudiées». Parmi les trous noirs en matière de connaissances figurent le Laos, le Cambodge, le Togo, le Bénin, le Malawi et le nord-est du Brésil. «Il y en a même en Europe, poursuit-il. On en sait très peu sur les populations de fourmis de Bosnie, de Lituanie ou de Biélorussie.» En Suisse, la grande majorité est en revanche connue. «Tout au plus découvre-t-on de temps à autre qu'une espèce comprend en fait deux sous-groupes, comme la fourmi des bois» **(Figure 02) [Bardgett et al.1999].**

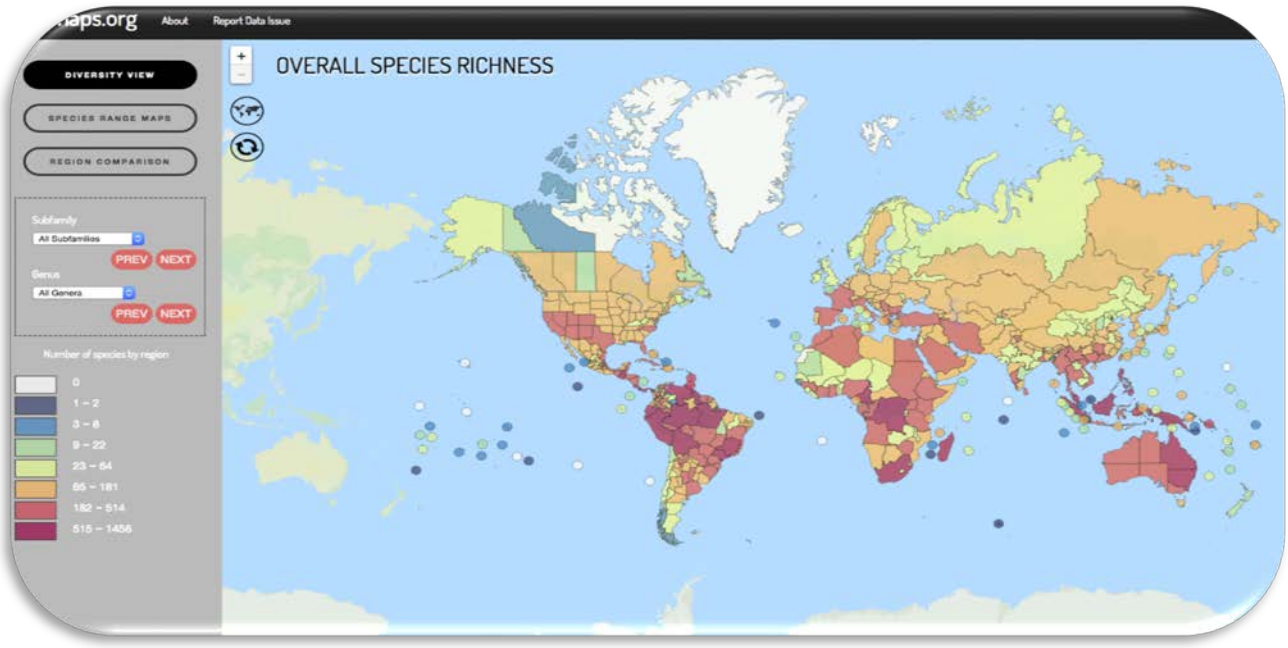


Figure 03 : Répartition biogéographique des populations des fourmis dans le monde **[24].**

7. Taxinomie des fourmis :

En dépit du fait que la famille des **Formicidae** est le groupe le plus homogène de tous les insectes sociaux, il n'est pas aisé de définir clairement ce taxon**.** Bolton (1994) considère que les Formicidae se séparent des autres hyménoptères aculéates

La classification la plus récente des Formicidae **[Balvanera et al.2006]** fait apparaître 21 sous-familles actuelles, auxquelles il faut ajouter quatre sous-familles fossiles.

• **Règne**	Animalia
• **Embranchement**	Arthropoda
• **Sous-embr.**	Hexapoda
• **Classe**	Insecta
• **Sous-classe**	Pterygota
• **Infra-classe**	Neoptera
• **Super-ordre**	Holometabola
• **Ordre**	Hymenoptera
• **Sous-ordre**	Apocrita

8. Les interactions des fourmis dans le monde microbien :

On découvre actuellement l'importance des microbes (unicellulaires, bactéries, virus) dans le monde vivant : ils jouent un rôle fondamental dans les écosystèmes.

8.1. Symbiose fourmis-bactéries :

De nombreuses fourmis ont des bactéries symbiotes comme les *Camponotus*. Celles-ci les aide à assimiler des acides aminés, mais aussi facilitent leur défense immunitaire **[Arditi R et al.2005]**. Il s'est avéré que les fourmis Céphalotes étaient un bon exemple de symbiose bactérienne. Alors que de nombreuses espèces de fourmis attaquent d'autres insectes pour leur nourriture ou pour récupérer les carcasses d'animaux morts, les fourmis Céphalotes se nourrissent de nectar, de pollen, de champignons et d'autres ressources provenant des plantes. Elles consomment aussi de l'urine de mammifères et de fèces d'oiseaux, qui contiennent beaucoup d'azote, mais sous des formes inaccessibles sans l'aide de microbes. Pour tester si les bactéries intestinales ont contribué de manière significative à l'apport nutritionnel des fourmis, les chercheurs ont gardé quelques fourmis dans un laboratoire, leur ont donné un régime d'urée (le principal déchet dans l'urine) et des antibiotiques qui ont tué leurs bactéries intestinales. Le résultat est que les fourmis n'étaient pas capables d'obtenir l'azote nécessaire par rapport à quand elles étaient uniquement nourries d'urée. Le fait de découvrir que les fourmis Céphalotes gardent les bactéries productrices d'azote dans leurs intestins montre qu'elles peuvent survivre en mangeant des aliments qui sont dédaignés par d'autres insectes. Avec une utilisation apparemment réduite des capacités offensives, en conjonction avec leurs changements à ces régimes de qualité inférieure, les fourmis Céphalotes ont perdu beaucoup de traits que d'autres fourmis utilisent pour concurrencer ou attaquer leur nourriture **[Aira M et al.2009].**

8.2. Mutualismes fourmis-Champignons :

Il existe dans les écosystèmes néo tropicaux un exemple modèle de relation mutualiste entre champignon et fourmis. La tribu des Attini (sous famille des Myrmicinae) est un groupe monophylétique de plus de 220 espèces de fourmis qui cultivent un champignon comme source de nourriture **[Mueller et al.2001].** Cet échange de services, tel qu'il a été définit par Mueller chez les insectes, ne s'applique pas seulement aux fourmis Attine, mais également aux termites Macrotermitinae et aux coléoptères de la famille des Scolytinae et Platipodinae **[Farrell et al.2002].** Différentes lignées cultivent leur champignon sur différents substrats. Le substrat

utilisé par les Attine basales se compose de fleurs, de carcasses d'arthropodes, de graines, de fragments de bois alors que les Attines supérieures utilisent principalement des feuilles et des fleurs fraiches **[Mueller et al.2005].**

La protection du cultivar chez les Attines est assurée par deux mécanismes. Premièrement la protection du cultivar contre un pathogène spécialiste est assurée par un troisième symbionte mutualiste **[Little et al.2006].** Ce symbionte, une bactérie filamenteuse appartenant au genre *Streptomyces*, produit des antibiotiques ciblés spécifiquement contre un champignon parasite *Escovopsis* (Ascomycete). Nous avons de plus vu précédemment que le microbiome composant les cuticules des Attines se composait de plusieurs souches, certaines acquises horizontalement **[Bot et al.2001].** Le second mécanisme implique la production et la sécrétion d'antibiotiques au niveau de glandes exocrines spécialisées (glandes mandibulaires et métapleurales)**[Mendonca et al.2001].** Ces glandes sécrètent plusieurs molécules qui, ensemble, permettent une protection généralisée contre plusieurs bactéries et champignons pathogènes **[Mueller et al.2001].**

Les champignons associés appartiennent tous à la tribu des Leucocoprinae, à l'exception près une transition vers l'agriculture d'un champignon appartenant aux Pterulaceae chez un groupe de fourmis basales. Ces mutualismes ont une origine unique qui est apparue il y a 45-65 millions d'années. Le succès écologique de ces associations a permis une importante radiation coévolutive du champignon et des fourmis, par colonisations de niches vacantes **[Ted et al.2008].** Cinq grandes transitions évolutives sont apparues au cours des temps évolutifs **[Mueller et al.2005]**. Il est possible de discriminer deux grands groupes en fonction de leurs propriétés générales. Le premier est représenté par les Attines pratiquant soit une agriculture dite inférieure, soit une agriculture d'un groupe de champignon particulier (Pterulaceae), ou soit une agriculture d'une forme particulière de champignon (levure) [**Mueller et al.2005]**. Dans ces cas, le champignon peut vivre de manière libre alors que les fourmis ne peuvent vivre sans leur association avec le champignon. La relation n'est donc pas strictement obligatoire pour les deux partenaires.

Au contraire, il n'existe pas de forme libre du champignon chez le deuxième groupe, les Attines pratiquant une agriculture dite supérieure (genres *Trachymyrmex*, *Acromyrmex* et *Atta*). Chez les Attines, la transmission du champignon est assurée

verticalement. Les reines fondatrices récupèrent un inoculum de champignon de leur colonie natale, l'emporte pendant le vol nuptial et l'utilise comme culture de départ pour former une nouvelle colonie **[Mikheyev et al.2006].** De ce processus découle une congruence phylogénétique des cultivars et des fourmis à l'échelle des cinq groupes majeurs de la tribu des Attini. Cette congruence est une conséquence directe de la cospéciation entre groupes de cultivars et groupes de fourmis. De cette coévolution entre les attines et le champignon emerge également de nouvelles structures chez le champignon (ex: gongylidia, structure nouricière). Aucun retour vers un mode de vie sans agriculture n'est apparu chez les Attines, démontrant leur forte spécialisation et le succès écologique de ces associations. Cette congruence entre les phylogénies n'est cependant pas vérifiée au sein des différents groupes. Par exemple, les fourmis coupeuses de feuilles (Atta et Acromyrmex ; 40 espèces connues) partagent toutes une même espèce de cultivar **[Mikheyev et al.2007].** Il existe ainsi de nombreux transferts horizontaux à large échelle géographique entre les différents cultivars de ces espèces de fourmis par acquisition horizontale suivie par une transmission verticale ou par reproduction sexuée et recombinaisons génétiques. Ceci a été confirmé par **[Mikheyev et al.2007]** en utilisant des marqueurs microsatellites. A une échelle géographique plus fine, les populations du cultivar sont peu structurées par rapport aux populations de fourmis.

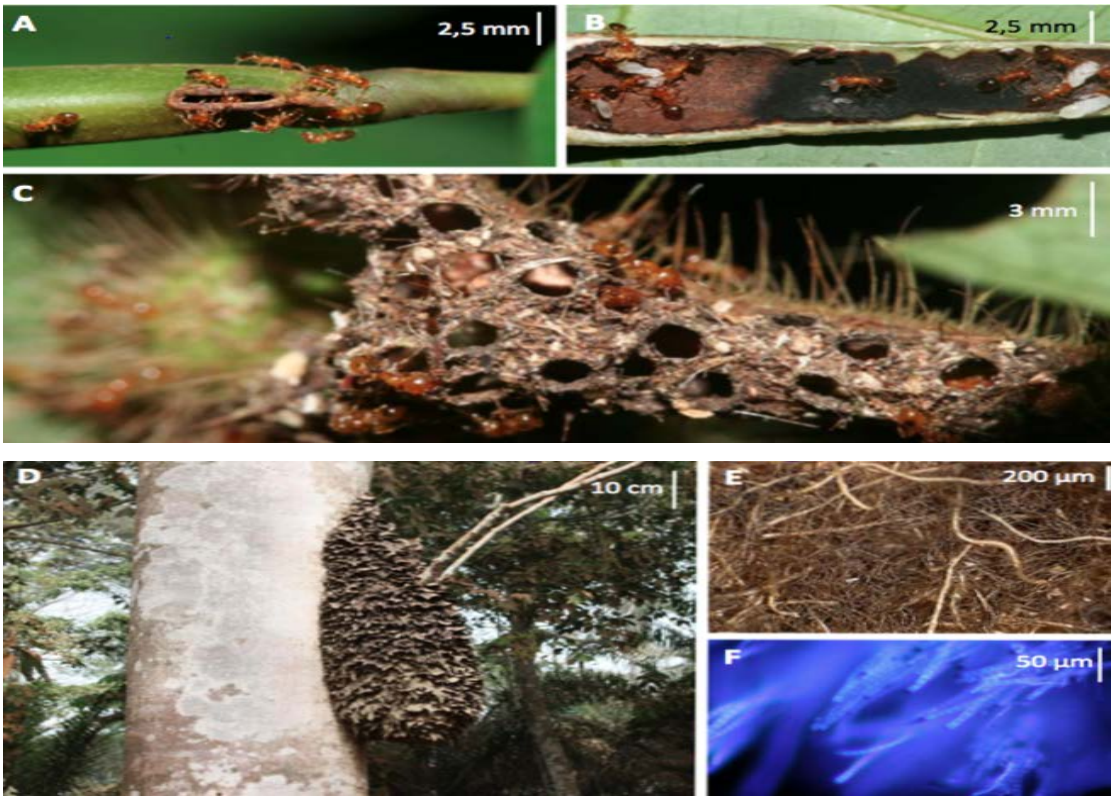


Figure 04: Exemples d'interactions entre plantes, fourmis et champignons. Domatie **(A)** et coupe longitudinale de domatie **(B)** de *Leonardoxa africana* et fourmis symbiotiques associées *Petalomyrmex phylax*. Piège en carton **(C)** des fourmis *Allomerus decemarticulatus* sur la plante *Hirtella physophora*. Nid en carton **(D)** de *Crematogaster* sp. sur un tronc d'arbre au Cameroun. Hyphes de *Chaetothyriales* issus de carton **(E)**. Hyphes de *Chaetothyriales d*e domaties de *Barteria fistulosa* associés aux fourmis *Tetraponera aethiops* **(F)** coloration au calcofluor **[Voglmayr et al.2011].**

8.3. Parasitisme fourmis-micro-organismes :

Une espèce endémique d'Andalousie est même spécialisée et a pour cette raison été appelée *Cataglyphis floricola*. Champignons ennemis des fourmis, diverses espèces de champignons se développent dans le corps de la fourmi, bien que celle-ci se lèche régulièrement. Les ouvrières infectées par des *Rickia* (Laboulbéniales) perdent plus d'eau et leur survie est diminuée **[Báthori et al.2015]**. L'ouvrière malade sort du nid pour mourir suite à une infection par des Laboulbéniales, **[Espadaler et al.2012]** ou par des *Metarhizium* **[Bos D, 2012]**. Le champignon *Ophiocordyceps* parasite des *Camponotus* peut véritablement prendre possession du cerveau de la fourmi qui se laisse tomber de la canopée et reste accrochée sur une feuille par ses mandibules où elle va mourir (comportement déjà décrit par Wallace dans les années 1850). Cela favorise la dispersion des spores du champignon. On qualifie cette fourmi de « zombie ». Le champignon secrète de nombreuses protéines et autres métabolites que l'on retrouve chez la fourmi suicidée. La sphingosine, élément de fonctionnement neuronal est l'une d'entre elles. L'acide γ-guanidinobutyrique s'y trouve aussi (connu pour être responsable d'empoissonnements par champignons en Chine) **[Hughes , 2011]**; **[Pennisi, 2014]**.

9. Le microbiote :

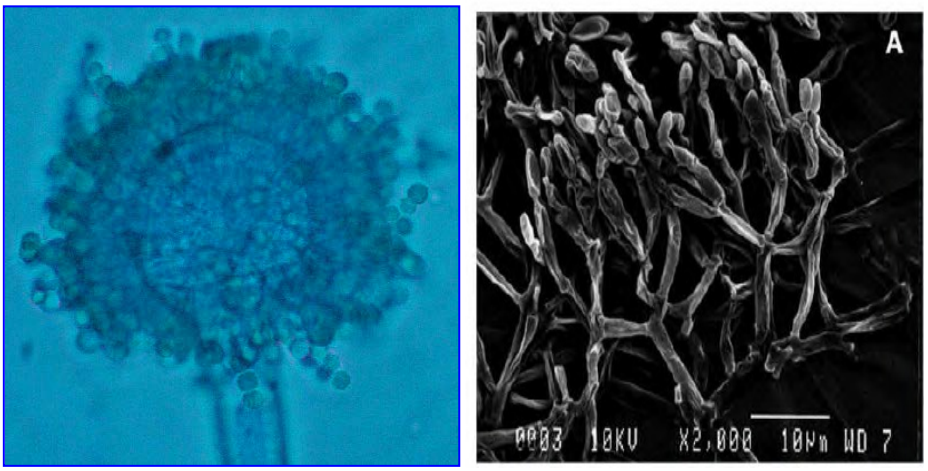
9.1. Microbiote des fourmis :

Les interactions entre les fourmis et les micro-organismes présents dans leur habitat sont complexes. La promiscuité entre les individus, l'environnement riche en micro-organismes et l'apport d'éléments étrangers à la fourmilière en son sein (proies, feuilles…) constituent des risques infectieux pour la colonie. Cependant leur diversité d'espèces et leur abondance suggère que les stratégies de défense contre les pathogènes des fourmis sont extrêmement performantes. Les principaux éléments de

ce succès s'expliquent par leur système immunitaire performant **[Hughes , 2011]**, les mécanismes d'hygiène (zone déchets, lavages/léchages « grooming » entre individus) et les associations avec des micro-organismes sur leur cuticule à but défensif. Dans ce sens, la cuticule des fourmis est à la fois une barrière physique contre l'intrusion de micro-organismes dans l'hémolymphe et un substrat pouvant être colonisé par de nombreux micro-organismes bénéfiques **[Douglas, 2015]**. L'interaction positive microbiote cuticulaire-fourmis a même conduit au développement, par processus de coévolution, à des structures morphologiques particulières chez l'hôte. On peut citer l'exemple des cryptes retrouvées sur la cuticule des attines hébergeant des actinobactéries **[Currie N et al.2005].** Certaines fourmis présentent aussi une glande métapleurale, qui assure le maintien de l'hygiène chez l'hôte **[Yek C et al.2011]**. Elle correspond à une invagination de la cuticule où sont stockées des sécrétions acides aux propriétés antibiotiques qui se répandent passivement par un orifice continuellement ouvert.

9.1.1. Les mycètes :

Diverses espèces de champignons se développent dans le corps de la fourmi, bien que celle-ci se lèche régulièrement. Des champignons de type *Aspergillus* (**Figure 03**) peuvent se développer dans une colonie de fourmis et la décimer rapidement. Les ouvrières infectées par des *Rickia* (Laboulbéniales) perdent plus d'eau et leur survie est diminuée **[Báthori L et al.2015]**. L'ouvrière malade sort du nid pour mourir suite à une infection par des Laboulbéniales **[Espadaler et al.2012]** ou par des *Metarhizium* **[**Bos A et al.2014**]**.



a) **(b)**

Figure 05 : Mycètes ((a) *Aspergillus* et (b) *Metarhizium*) développent sur les fourmis **[Bensserradj 2014].**

Les Cordiceps se développent dans les fourmis hôtes et sporulent en transformant la fourmi en véritable zombie. On connait d'autres champignons parasites sur la cuticule des fourmis. On trouve *Aegeritella rousillonensis* sur *Cataglyphis cursor* à Argelès-plage **[Balazy E et al.1986]**. Ce champignon a été retrouvé au même endroit sur les mêmes fourmis. Une nouvelle espèce *Rickia lenoirii* a été décrite récemment sur des Messor en Grèce **[Santamariaet al.1986]**.

Deux champignons sont couramment étudiés pour leurs effets sur les fourmis dans une perspective de lutte biologique : *Beauveria* et *Metharizium* qui ne sont pas des parasites spécialisés mais opportunistes **[Loreto et Hughes, 2016]**. *Beauveria bassiana* tue 60% des *Formica fusca* en Finlande. Les fourmis alors spontanément boivent du peroxyde d'hydrogène qui les soigne alors qu'il est normalement toxique, la mortalité diminue à 45% **[Bos Valle et al.2006]**, **[Herzberg, 2015].** Les reines de *Formica selysi* ont une préférence spontanée pour fonder un nid dans des sites contaminés par *Beauveria bassiana* et *Metarhizium brunneum*. Cela suggère que les parasites manipulent leur hôte ou que la présence de ces champignons est un indice de qualité du site choisi **[Brütsch , 2014]**. Les fourmis *Lasius neglectus* lèchent leurs congénères malades infectées avec du *Beauveria* et récupèrent des parasites, suffisamment pour développer leurs réactions immunitaires **[Konrad Ertli et al.2012]**; **[Abdun et Debroise 2012]**. On peut même parler de "prophyllaxie sociale" selon Alain Fraval puisque les ouvrières de *L. neglectus* détectent les nymphes infectées par *Metarhizium brunneum* par leur cocktail d'hydrocarbures. C'est le stade où le champignon ne se disperse pas. Elles vont ouvrir le cocon et l'asperger d'acide formique pour le tuer et désinfecter la cadavre **[Pull A et al.2018]**. Cela ne semble pas être une règle générale puisque **[Solá Gracia et al.2018]** ont observé que les ouvrières de *Camponotus castaneus* ne détetctent pas des individus contaminés par un *Ophiocordyceps*.

9.1.2. La microflore actinomycétale des termites :

Les actinomycètes ont été parmi les premiers organismes procaryotes à être cultivés à partir de l'intestin et de la cuticule des termites. Deux souches de *Micromonospora* (*M. propionici* et *M. acetoformici*,) ont été isolées et leurs fortes capacités cellulolytiques caractérisées. La présence de bactéries filamenteuses -caractéristiques des morphotypes actinomycétaux- est

confirmée par l'observation in situ en microscopie électronique (Figure 6) **[**Abdun et al.2012**]**.

Cette microflore serait donc relativement abondante et intimement associée au tube digestif des termites, notamment au niveau des épines cuticulaires intestinales sur lesquelles semblent s'accrocher le mycélium actinomycétal. Depuis de nombreuses souches de streptomycètes, ainsi que des souches appartenant souvent à des groupes « rares » ont pu être isolées : *Actinomadura*, *Arthrobacter*, *Aureobacterium*, *Cellulosimicrobium*, *Cellulomonas*, *Geodermatophilus*, *Isoptericola*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Microbispora*, *Micrococcus*, *Pseudonocardia*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora*, *Nocardia*. La plupart des actinomycètes cultivés montrent des potentialités enzymatiques intéressantes (cellulases, xylanases, uréases, enzymes dégradant les polymères aromatiques). Pourtant, leur implication effective dans les processus digestifs des termites n'a jamais pu être démontrée. Au contraire et selon les approches moléculaires, la représentativité des actinomycètes dans la diversité de la microflore symbiotique serait plus faible que ce que laissait penser les observations en microscopie électronique **[Brütsch , 2014]**.

9.1.2.1. Les Actinomycètes :

Les actinomycètes (ou Actinobacteria, Lynn Margulis) sont un groupe à part dans le monde bactérien qui a longtemps été classé parmi les champignons. Ce sont des bactéries Gram-positifs à taux élevé en bases GC (70%) pouvant former des hyphes à l'un de leur stade de développement. Le mot "actinomycètes" signifie en grec "champignons rayonnants", expression également utilisée en anglais (ray fungi), en allemand et en russe. Ainsi ont-ils été désignés en référence soit à la morphologie des jeunes colonies dont les hyphes ramifiées rayonnent à partir du centre de la croissance, soit à la disposition radiée des hyphes épaissies en massues que l'on trouve dans les concrétions que produisent les formes pathogènes. Les formes les plus évoluées des actinomycètes rivalisent en complexité morphologique avec les moisissures (champignons imparfaits) mais en diffèrent radicalement puisque, comme toutes les autres bactéries, ce sont des procaryotes. Un corollaire de leur structure cytologique est le diamètre de leurs hyphes qui est de l'ordre de 0,5 mm, soit approximativement un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques **[Brütsch , 2014]**.

9.1.2.2.Taxinomie et diversité :

Leur taxinomie a évolué avec le développement des techniques. En 1970, Le chevalier propose une classification des actinomycètes fondée sur des caractères morphologiques et chimiques qui permet de grouper les actinomycètes en genres faciles à caractériser. Les critères chimiques utilisés utilisent surtout la nature de leurs parois cellulaires et des lipides.

Actuellement, la classification des actinomycètes repose sur la composition des constituants pariétaux, selon la présence/absence de l'acide Di Amino Pimélique (DAP) et de sa forme isomérique (méso ou L). Les groupes représentant la forme méso sont différenciés entre eux par la présence de certains sucres après l'hydrolysat des bactéries. Plus récemment, le séquençage de l'ARNr 16S a permis de distinguer 7 groupes majeurs qui sont en accord avec les résultats obtenus avec les groupements chimiques **[Abdun et Debroise 2012]**.

9.1.2.3. Ecologie des actinomycètes :

On trouve des actinomycètes presque partout dans la nature. Ils sont présents dans des sols polaires gelés en permanence comme dans des sols désertiques, dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés. Par contre, ils semblent être absents des eaux minières très acides (pH < 1) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique. La fonction écologique des actinomycètes au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques. Les actinomycètes, fort nombreux dans les sols, se joignent aux autres bactéries et aux champignons comme "nettoyeurs" de la nature et formateurs d'humus. Ils prolifèrent surtout quand l'action des bactéries ordinaires touche à sa fin, on pourrait dire qu'ils terminent leur action **[Matarrita et al.2017]**.

9.1.2.4. Intérêts biotechnologiques :

Les actinomycètes sont les producteurs d'antibiotiques les plus efficaces du monde vivant. Plus des deux tiers des quelques six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par cet ordre de bactéries -actinomycine, streptomycine, néomycine, candicidine,… **[Brütsch , 2014]**.

. Les actinomycètes sont également de gros producteurs d'enzymes intervenant dans la décomposition des macromolécules végétales **[Matarrita et al.2017]**. Certaines sont utilisées dans l'industrie alimentaire (isomérase du glucose) et dans celle des détergents (protéases). De même, certaines enzymes peuvent avoir des applications médicales (neuraminidases, estérases et oxydases des stérols) et être utilisées en biologie moléculaire (endonucléases de restriction). Non seulement les actinomycètes sont une riche source d'enzymes mais, inversement, ils produisent aussi de nombreux inhibiteurs d'enzymes. Ainsi, beaucoup d'actinomycètes, producteurs d'antibiotiques, élaborent des enzymes inactivant les antibiotiques pour se protéger de leur action toxique. En plus des antibiotiques antimicrobiens, les actinomycètes sont la source de substances antitumorales -actinomycine, adriamycine, rebeccamycine- , insecticides –nikkomycine-, miticides - tétranactine-, antihelminthiques -avermectines-, piscicides -antimycine A-, herbicides - phosphinothricines- et de substances ayant des activités biologiques les plus diverses (immunosuppressives,

immunostimulantes). C'est pourquoi, les grands groupes pharmaceutiques recherchent activement de nouvelles souches en milieu naturel **[Matarrita et al.2017]**.

9.1.2.5. Production d'enzymes :

Les actinomycètes synthétisent des chitinases, des glucanases, des peroxydases et des glutaminases . Des espèces de *Streptomyces* produisent des amylases, des cellulases et des hémi-cellulases. D'autres sont capables de dégrader la lignine. *Streptosporangium* sp. isolé à partir des feuilles de maïs produit des glucoamylases exploitées en industrie afin de dégrader l'amidon **[Matarrita et al.2017]** . Les lipases sont aussi produites par certaines souches actinomycètales, ces enzymes catalysent l'hydrolyse des triglycérides en diglycérides, en monoglycérides, en glycérol et en acides gras **[Matarrita et al.2017]**. La production d'enzymes chitinolytiques (chitinases et cellulases) par *Streptomyces albovinaceus*, *S. caviscabies*, *S. griseus*, *S. setonii* et *S. virginiae* est considérée comme l'action antagoniste la plus efficace dans le contrôle de certaines maladies fongiques en raison de leur action directe sur les chitinases.

Les protéases sont parmi les enzymes les plus importantes, elles constituent plus de 65% des applications industrielles totales comme agents blanchisseurs dans les détergents ou dans la synthèse des peptides. *Nocardiopsis* sp. NCIM 5142 et *Streptomyces pactum* DSM 40530 sont parmi les actinomycètes les plus exploitées dans la production des peptides **[Matarrita et al.2017]**.

9.1.2.6.Dégradation de la lignine :

La lignine est un complexe biopolymérique résistant à la dégradation microbienne, cependant quelques espèces de champignons et bactéries dont les actinomycètes sont capables de la dégrader **[Pull A et al.2018]**.

Certains composés polymériques aromatiques ligneux sont catabolisés par *Streptomyces setonii* 75Vi2, *S. sioyaensis* P5 et *S. viridosporus* T7A (Pometto et Crawford, 1985). Une potentielle importance de ce groupe microbien intéresse de nombreux chercheurs pour son aptitude de dégrader la lignine en composés phénoliques très utiles **[Lavelle et al.2001]**.

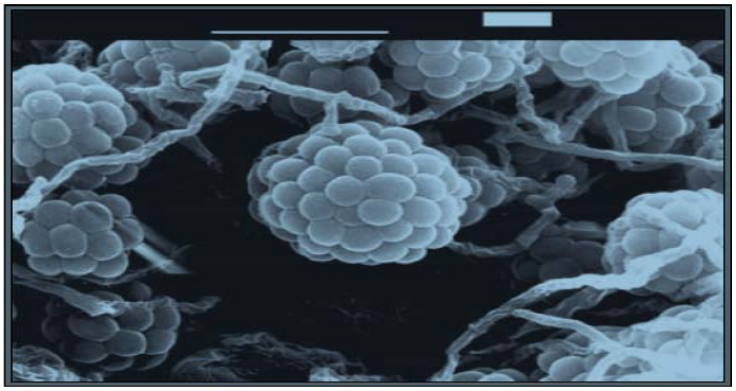


Figure 06 : Morphologie d'actinobactéries (*Micromonospora* sp.) au microscope électronique.

10. Localisation des matières organiques et des activités microbiennes

10.1. Conséquences pour le fonctionnement du sol :

Les matières organiques assurent de nombreuses fonctions dans les sols : source d'éléments et d'énergie pour les organismes vivants du sol, elles sont un facteur essentiel de la présence de végétaux, d'animaux et de micro-organismes nombreux et divers. Elles contribuent à la biodiversité des sols ainsi qu'à leur fertilité physique, chimique comme biologique (organismes auxiliaires). En étant biodégradées et minéralisées par les organismes vivants, les matières organiques fournissent des nutriments minéraux ; leurs capacités d'adsorption leur permettent également d'en retenir temporairement : elles contribuent donc à la fertilité chimique des sols. Elles agrègent les particules de sol en agrégats et permettent une meilleure infiltration de l'eau et circulation de l'air entre ces agrégats, ainsi qu'une bonne résistance des sols à la dégradation physique : battance, érosion, tassement. Leur grande capacité à retenir l'eau leur permet de contribuer significativement à la réserve utile des sols. Elles jouent un rôle de premier plan dans la dynamique des contaminants dans les sols, qu'elles retiennent, tout en étant à l'origine, par leur minéralisation, de composés qui affectent la qualité de l'eau lorsqu'en excès (nitrates et phosphates). Enfin leurs transformations affectent les bilans de gaz à effet de serre : si leur minéralisation produit CO_2, N_2O ou méthane, elles représentent un stock de carbone important de notre planète, trois fois plus important que le carbone contenu dans l'atmosphère, et peuvent donc contribuer à limiter l'effet de serre. Véritable plaque tournante du cycle des éléments à la surface de notre planète, les matières organiques sont précieuses, à la fois par leur présence et par leur biodégradation. Elles rendent de nombreux services écosystémiques. Les interactions entre matières organiques et biodiversité

sont étroites : l'abondance et la diversité des organismes vivants dépendent de l'abondance et de la nature de leur nourriture, les matières organiques présentes ; en retour ces organismes biodégradent et minéralisent les matières organiques, leur abondance et diversité affectent donc la nature et la vitesse des biotransformations.

L'agroécologie remet les sols au centre des pratiques agricoles et les matières organiques sont le carburant de la vie du sol. Comprendre les mécanismes et facteurs de la biodégradation des matières organiques est donc essentiel.

10. 2. Biodégradation des matières organiques :

Le rôle des micro-organismes dans la biodégradation des matières organiques du sol est établi depuis les travaux de Sergueï Nikolaïevitch Winogradski (un microbiologiste russe considéré comme l'un des fondateurs de l'écologie microbienne) et a fait l'objet de nombreuses recherches et écrits. La faune et les micro-organismes hétérotrophes concourent à la biodégradation des matières organiques, mais les micro-organismes sont responsables de l'essentiel des flux de C minéralisé **[Lavelle et al.2001]**. La biodégradation dépend de la nature des matières organiques, de l'abondance et diversité des micro-organismes, de la satisfaction de leurs autres besoins nutritionnels (N, P, S..) et des conditions de leur environnement. Les travaux de ces deux dernières décennies montrent que si la nature biochimique des matières organiques explique largement leur devenir à court terme (semaines, mois ; ainsi du glucose disparaît en quelques heures alors qu'une aiguille de pin mettra quelques années à se décomposer), la nature biochimique ne semble pas jouer un rôle de premier plan à long terme (décennies, siècles), hormis le cas de carbonisats (charbons) **[67]**. La diversité microbienne est considérable dans les sols et la plupart des travaux montrent une absence de relation entre la diversité microbienne dans les sols et la vitesse de minéralisation des matières organiques **[Griffiths et al.2002]**; **[Wertz S et al.2006]**; **[Juarez R et al.2013]**, ce que l'on explique par la grande redondance fonctionnelle des micro-organismes. Les principaux facteurs environnementaux affectant l'activité des micro-organismes décomposeurs des matières organiques sont la température, la disponibilité de l'eau et de l'air, le pH, lesquels dépendent non seulement du climat à l'échelle régionale, mais également du type de sol, du mode d'occupation et des pratiques culturales **[Lavelle A et Spain D, 2001]**; **[Calvet et al.2004]**. A l'échelle pluriannuelle, outre ces facteurs environnementaux, c'est l'interaction des matières organiques avec les surfaces

minérales sur lesquelles elles s'adsorbent et la limitation de l'accessibilité des matières organiques aux micro-organismes à l'échelle très locale qui expliquent la persistance des matières organiques. A ces échelles temporelles, les protections physicochimiques et physiques apparaissent plus importantes que la récalcitrance intrinsèque des molécules organiques, ce qui est un véritable changement de paradigme **[Balesdent et al.2000]**. C'est à une échelle spatiale microscopique que ces contrôles et processus agissent.

10.3. Un contrôle de la biodégradation à l'échelle de l'habitat microbien :

En effet, à l'échelle même de leur habitat, pour que la biodégradation ait lieu un contact est nécessaire entre les micro-organismes ou leurs enzymes extracellulaires et les substrats organiques. La biodégradation dépend donc de la localisation respective des micro-organismes et des matières organiques, et des possibilités de transferts entre ces sites des substrats, des produits de la réaction, des micro-organismes ou de leurs enzymes. L'importance de la structure a été mise en évidence de manière empirique : en effet, la destruction de la structure du sol par des expérimentations de broyage a pour effet général de stimuler la minéralisation des matières organiques, les conditions locales de l'habitat ou l'accessibilité limitant la biodégradation **[Balesdent et al.2000]**.

Le sol est un milieu hétérogène, complexe et structuré. La distribution spatiale des matières organiques y est très hétérogène, depuis des échelles métriques à micrométriques, comme le montrent de nombreux travaux basés sur la séparation d'agrégats de sol, selon leur taille ou leur stabilité, la séparation de zones externes ou internes des agrégats du sol **[Smucker F et al.1998]**; **[Chenu D et al.2001]**, ou encore par observation en microscopie électronique **[Villemin R et al.1995]**; **[Chenu L et Plante F, 2006]**; **[Chenu M et Merhi, M., 2008]**. Il en est de même pour les microorganismes, qui occupent moins de 1% du volume poral des sols **[Chenu et Stotzky, 2002]**. Ils sont donc très nombreux (de l'ordre du milliard par gramme de sol), mais ne sont pas répartis de manière homogène et ne sont donc pas partout à une échelle micrométrique. Différentes approches ont permis de montrer l'hétérogénéité de cette distribution spatiale, laquelle reste encore largement méconnue **[Dechesne et al.2007]**; **[Nunan et al.2001]**. Il a été montré que l'hétérogénéité spatiale de distribution des micro-organismes capables de minéraliser un herbicide, le 2,4-D (acide 2,4- dichlorophénoxyacétique), était plus importante à l'échelle millimétrique (agrégats séparés, pris comme petits volumes élémentaires du sol) qu'à l'échelle décimétrique ou métrique **[Vieublé Gonod , Joffin, N., 2003]**. Des approches de séparation physique ont permis de montrer une localisation préférentielle des micro-organismes dans les fractions de particules correspondant à des débris végétaux en cours de décomposition et aux argiles granulométriques, et leur distribution par rapport à des agrégats

de différente taille et stabilité ou par rapport à la surface ou à l'intérieur d'agrégats **[Hattori A et al.2006].** Des méthodes de visualisation, comme l'observation de lames minces de sol en microscopie à fluorescence après marquage des microorganismes, ont montré que la distribution des bactéries n'était pas aléatoire, mais structurée et agrégée **[Nunan et al.2002]**, dépendante de la proximité de macropores et de débris végétaux **[Nunan et al.2003]**. Analysant 744 images issues de l'observation de lames minces de sol, **[Raynaud et Nunan ., 2014]** ont trouvé que la distance moyenne entre deux cellules bactériennes était de 12,46 µm, quantifiant ainsi la dispersion des bactéries dans le sol (n'oublions pas que les bactéries ont une taille inférieure au micromètre). Des pores de taille différente (0,3-3 µm, 1-100 µm et 10-300 µm) hébergent des micro-organismes différents, qui minéralisent un substrat apporté, le fructose, à des vitesses différentes **[Ruamps et al.2008]**: non seulement les micro-organismes sont répartis de manière hétérogène, mais leur activité est également spatialement hétérogène. A ces hétérogénéités de distribution des molécules organiques et des microorganismes s'ajoutent celles des conditions de l'environnement : pH, disponibilité de l'eau, aération **[Chenu et Stotzky, 2001]**. La taille, la forme, l'interconnexion entre les pores du sol et le degré de saturation de la porosité réguleront la vitesse des transferts, en particulier par diffusion **[Moyano et al.1997]**.

Des expérimentations en conditions contrôlées ont permis de quantifier l'effet de la distribution spatiale respective des substrats et microorganismes sur les vitesses de minéralisation. Ainsi, **[Pinheiro E et al.1996]** ont montré que la Co-localisation de l'herbicide 2,4-D et de microorganismes dégradants à l'échelle millimétrique augmentait fortement la vitesse et la proportion du 2,4-D minéralisé lors d'incubations en laboratoire, en réduisant la distance microorganisme-substrat. A une échelle spatiale plus fine, il apparaît que la vitesse de minéralisation d'un substrat apporté (ici le fructose) ou des matières organiques du sol dépend de la taille des pores considérés : des pores de diamètres différents correspondraient à des habitats différents, hébergeant des microorganismes contrastés, et caractérisés par des conditions physiques différentes **[Ruamps S et al.2010]**. **Les bactéries**, qui sont des organismes aquatiques, sont beaucoup plus sensibles que **les actinobactéries** et **les champignons** à leur environnement local et à l'inaccessibilité des substrats organiques. En effet, **les actinobactéries et les champignons**, grâce à leur forme filamenteuse ont la capacité à accéder à des ressources trophiques distantes et à « traverser » des pores non saturés **[Harris R et al.2005]**. Ces expérimentations ne prennent cependant pas en compte un autre processus qui pourrait être également très dépendant des constituants présents localement et des conditions physicochimiques : de nombreux substrats ne peuvent être assimilés et minéralisés par les microorganismes lorsqu'ils sont adsorbés (ce que l'on nomme la protection physicochimique). Les composés organiques doivent donc être accessibles (protection physique) et biodisponibles (protection physicochimique) pour être biodégradés.

La complexité des processus à l'œuvre, physiques, chimiques et biologiques rend précieuse une approche par modélisation assez fine. Cependant les modèles actuels de la dynamique du carbone et de l'azote considèrent le sol comme un milieu homogène localement. Une nouvelle génération de modèles se démarque fortement de cette approche en représentant, de manière explicite et exhaustive la complexité de la structure du sol et des processus mis en jeu à l'échelle même de l'habitat microbien. Ces modèles s'appuient sur une représentation de la structure du sol à des échelles centimétriques à micrométriques, en utilisant la visualisation de la phase solide et de la porosité du sol en 3-D permise par la microtomographie aux rayons X. L'espace est représenté en 3-D, soit avec des approches de type primitive géométrique (en modélisation, formes géométriques de base) **[Monga F. Fdil, 2008]**, soit en utilisant directement les voxels (pixels en 3D) de l'image 3D **[Pajor M et al.2004]**; **[Vogel F ,2008]**. Dans ces modèles, les pores y sont saturés d'eau ou non, selon les conditions hydriques choisies. Les bactéries, champignons et matières organiques sont placés dans cet espace. A l'avenir, leur placement pourra se faire en se basant sur des observations telles que décrites au paragraphe précédent. Dans chaque unité spatiale (primitive géométrique ou voxel), un modèle simple permet de prédire la minéralisation du substrat, en tenant compte de l'abondance des microorganismes, de leur physiologie et mortalité. Le transfert des substrats entre ces unités spatiales a lieu en simulant leur diffusion. Les équations de transfert sont soit résolues par les techniques classiques de résolution d'équations aux dérivées partielles **[Monga N et al.2008]** ou par des approches de type méthode Boltzmann sur Réseau *(Lattice-Boltzmann method* ; méthode de dynamique des fluides permettant de reproduire le comportement de fluides complexes) comme décrit dans **[Vogel L et al.2015]**. Ces approches de modélisation, couplées aux possibilités récentes et en plein développement de visualisation de la structure du sol et de ses constituants, ouvrent des perspectives qui permettront de prendre en compte la complexité des processus à l'œuvre et interagissant dans les sols à l'échelle spatiale même des micro-organismes.

10.4. Les processus à l'échelle microscopique affectent les flux à une échelle macroscopique :

La variabilité incomplètement comprise de plusieurs processus serait en fait expliquée par les processus mis en jeu à l'échelle locale et par l'hétérogénéité des sols. Ainsi, même dans des sols bien aérés il existe des microsites anaérobies, dans des pores de petite taille, au centre de mottes ou agrégats ou encore à proximité de débris végétaux en cours de décomposition. Ceux-ci expliquent pourquoi de tels sols peuvent émettre du N_2O, puissant gaz à effet de serre résultat de transformations microbiennes de l'azote en conditions anaérobies.

La grande variabilité de la minéralisation des pesticides dans les sols pourrait également être en partie expliquée par ces processus. Ainsi, **[Monga F. Fdil, 2008]** ont mesuré la capacité

d'agrégats d'un sol cultivé à minéraliser le 2,4-D et calculé que si l'herbicide appliqué entrait en contact avec les 10% d'agrégats présentant la plus faible capacité de minéralisation, alors 12,3% du 2,4-D apporté serait minéralisé en cinq jours, alors que s'il entrait en contact avec le décile minéralisant le plus, 62% du 2,4-D serait minéralisé. L'hétérogénéité de répartition des microorganismes capables de dégrader le 2,4-D à une échelle millimétrique peut donc avoir des effets très importants à une échelle macroscopique. Une application de ces phénomènes se retrouve dans les techniques de biorémédiation des sols contaminés : que l'on soit *in situ* ou *ex-situ*, un travail du sol fréquent et intensif vise à favoriser le contact microorganismes-contaminants, ainsi que l'aération du milieu. La persistance de matières organiques, pourtant décomposables dans les sols pendant des décennies à des siècles, (par les interactions entre matières organiques, microorganismes et matrice solide du sol) : protection par adsorption, protection par accessibilité réduite. Quel est l'effet des modes de gestion des sols sur ces processus ? L'absence de labour s'accompagne, dans certaines situations, d'un stockage additionnel de carbone dans les sols cultivés **[Angers R et al.2008]**; **[Virto L, Devez, 2008]**. La protection physique des matières organiques a été avancée pour expliquer ce stockage **[Balesdent R, Desbordes. A, 2000]**; **[Six et al.2000]**. En effet, en l'absence de travail du sol, la structure du sol étant moins fréquemment perturbée et les agrégats souvent plus stables vis-à-vis de l'action destructrice de l'eau, les matières organiques peu accessibles aux micro-organismes le restent. Cependant divers processus, aux effets parfois opposés, affectent la dynamique des matières organiques en non labour. Ainsi, pour que les matières organiques soient protégées de la biodégradation dans la structure du sol, comme nous l'avons décrit ici, il faut qu'elles soient incorporées au sol. Or, on peut s'attendre à une moindre incorporation des résidus de culture en non labour par rapport au labour, même si les vers de terre anéciques (qui font des galeries verticales dans le sol), plus abondants en non labour, y contribuent. Les résidus de culture, non incorporés, forment un paillis (encore appelé *mulch* en anglais) à la surface du sol. Leur décomposition est pilotée par les cycles d'humectation-dessiccation liés aux conditions climatiques (pluies et évaporation) et peut alors être limitée par la colonisation microbienne, et la disponibilité de l'azote minéral qui doit diffuser du sol vers le mulch pour que les microorganismes l'assimilent **[Coppens S et al.1990]**, favorisant alors le stockage de carbone. La température du sol est généralement plus basse et le sol plus humide en non labour, ce qui tend à réduire les vitesses de minéralisation, donc là aussi à favoriser le stockage de matières organiques. Cependant les conditions climatiques, hydriques en particulier, ont un fort impact sur la vitesse de décomposition des mulchs **[Iqbal M et al.2015]**. Ces multiples processus et facteurs intervenant dans le profil de sol et à l'interface entre le sol et le mulch pourraient contribuer à la grande variabilité des taux de stockage de carbone dans les sols en non labour, variabilité encore inexpliquée.

11. La matière organique et rôle de la microflore dans les cycles biogéochimiques de l'écosystème (pédogenèse):

Les détritus animaux et végétaux qui arrivent au sol, qu'on appelle « **matières organiques fraîches** », subissent un ensemble de transformations du fait de l'activité biologique et de l'environnement physique. Ces transformations sont différentes suivant l'endroit où se trouvent les détritus. En effet, le microclimat et les organismes (micro-organismes, faune) à l'origine de ces transformations sont très différents pour une litière végétale située à la surface du sol, pour des exsudats émis dans la rhizosphère, ou pour des résidus enfouis à 30 cm de profondeur, par exemple.

On peut citer les processus suivants qui participent à la décomposition :

- **La lixiviation**
- **La fragmentation**
- **L'incorporation**
- **Le catabolisme enzymatique**
- **La stabilisation**

a. La lixiviation :

Les flux d'eau qui traversent les litières et le sol peuvent entraîner avec eux des sucres solubles : on parle alors de lixiviation de carbone organique dissous.

b. La fragmentation :

Les détritus, qui peuvent être initialement de grande taille, sont fragmentés progressivement par des effets mécaniques (piétinement par exemple) et par l'action de différents organismes de la faune du sol. Ces organismes se nourrissent en ingérant et en assimilant partiellement des fragments de matière organique, qu'ils découpent avec leurs pièces buccales et/ou dans leur tube digestif. Cette activité saprophage a généralement aussi pour effet de déplacer la matière organique dans le profil de sol et donc de l'incorporer dans le sol, à cause des déplacements des animaux pendant le transit digestif. On peut ainsi retrouver des boulettes fécales de différents animaux, très riches en fragments de matière organique de différente taille, à différents niveaux dans le sol.

On parle d' « **ingénieurs des litières** » pour qualifier les organismes qui réalisent cette fragmentation et redistribution dans les horizons de litières.

On appelle ces matières organiques fragmentées les « **matières organiques particulaires** ». Elles ont encore une structure similaire aux matières organiques fraîches d'origine (on peut encore y reconnaître par exemple au microscope les parois cellulaires), mais elles ont une plus grande surface développée par unité de masse que les matières organiques fraîches de départ **(Figure 07).**



Figure 07 : Fragmentation de la matière organique dans la nature.

c. Incorporation :

Certains organismes de la macrofaune qu'on nomme « ***ingénieurs du sol*** », notamment les vers de terre anéciques, les termites et les fourmis, ont un impact majeur sur l'incorporation de matières organiques particulaires issus de la surface dans les premiers horizons du sol **(Figure 08).**



Figure 08 : Incorporation de la matière organique.

d. Catabolisme enzymatique :

Les matières organiques particulaires (MOP) sont également la source d'énergie pour les micro-organismes saprotrophes du sol. Ces micro-organismes : bactéries, actinomycètes, champignons, archées, se trouvent dans le sol sous forme de filaments, colonies isolées ou biofilms à la surface des matières en décomposition.

Ils produisent des enzymes extracellulaires capables de lyser certaines liaisons chimiques des MOP, et donc d'en détacher des sucres solubles.

Certaines de ces molécules pourront diffuser jusqu'à un micro-organisme qui pourra alors les absorber et en tirer l'énergie nécessaire à son métabolisme, en rejetant une partie du **C** sous forme de $\mathbf{CO_2}$. Les micro-organismes, ainsi que la faune, peuvent également synthétiser et émettre dans le sol différent types de molécules organiques : polysaccharides, glycoprotéines...

Ces composés, qu'on ne nomme alors plus MOP (car ils ne portent plus aucune ressemblance aux détritus d'origine) jouent un rôle important dans la structuration du sol, et sont également des substrats potentiels pour les micro-organismes.

Différents micro-organismes sont capables de produire différentes enzymes, et donc de dégrader différents types de matières organiques.

On appelle tous ces micro-organismes les « ***décomposeurs*** ».

La libération de molécules inorganiques ($\mathbf{CO_2}$, mais aussi différents ions nutritifs comme l'ammonium, les phosphates...) par l'action des micro-organismes et de la faune sur les matières organiques est appelée « **minéralisation** » : c'est un processus majeur dans le cycle du carbone, mais aussi des nutriments.

e. La stabilisation

Aux différentes étapes de la décomposition, les matières organiques peuvent être stabilisées, c'est-à-dire que leur minéralisation peut être freinée. Certaines molécules s'adsorbent sur les minéraux du sol (notamment ceux de la fraction fine argileuse), et une fois adsorbées elles sont moins sensibles à la dégradation enzymatique. On parle alors de **stabilisation physico-chimique de la matière organique**.

D'autre part, les MOP et les composés d'origine microbienne peuvent être piégés à l'intérieur d'agrégats par des gangues de particules minérales : on parle alors de **stabilisation physique ou de stabilisation par la structure du sol**. Ces matières organiques piégées peuvent se retrouver dans des conditions peu propices à la minéralisation, pauvres en oxygène par exemple, et surtout elles peuvent être

inaccessibles aux microorganismes et aux enzymes et donc protégées de la décomposition. Tant que les agrégats protecteurs persistent, ces matières organiques piégées ne seront pas minéralisées et resteront dans le sol : elles ont donc un temps de résidence plus important que les matières organiques libres **(figure 08).**

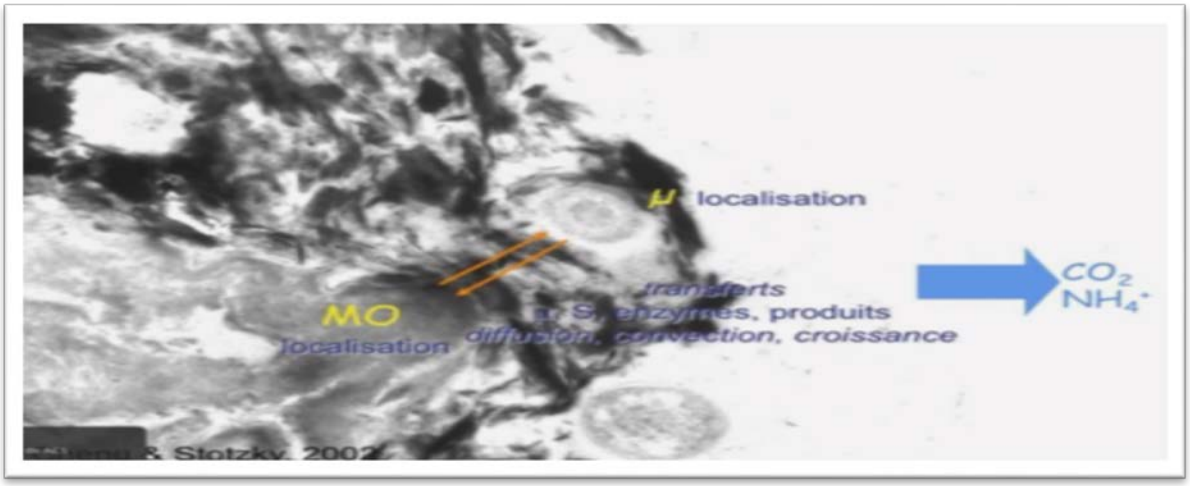


Figure 09 : Stabilisation de la matière organique **[Iqbal M et al.2015]**.

La dégradation microbienne de la matière organique fraîche produit des composés organiques d'origine microbienne, qui favorisent la création d'agrégats stables dans lesquels des matières organiques sont piégées ; et la stabilité de ces agrégats protège de la minéralisation ces matières organiques piégées.

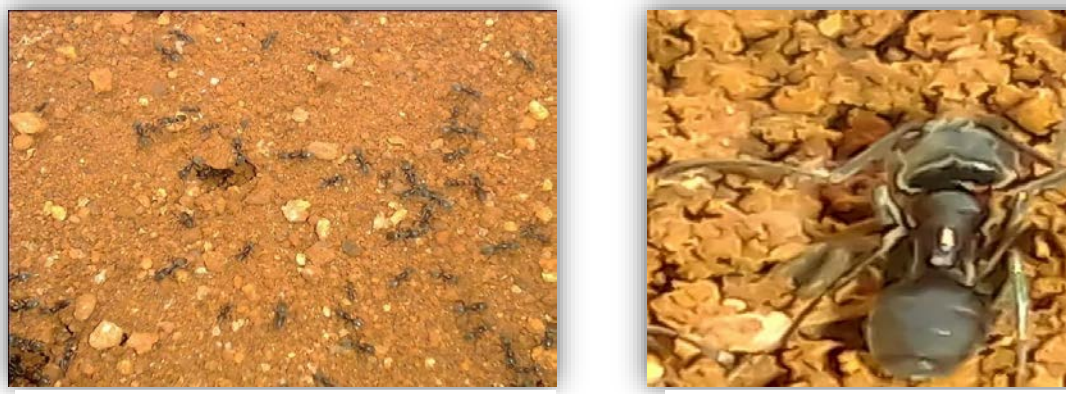
La vitesse de la dégradation enzymatique de la matière organique, mais aussi l'importance des phénomènes de stabilisation, sont déterminées par un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques. De ce fait, les flux de CO_2 et de nutriments minéralisés sont très variables. Pour pouvoir estimer la quantité de nutriments minéralisés dans le sol à chaque instant, et le flux de gaz à effet de serre produit, il faut comprendre comment les processus sont régulés par ces facteurs**[Iqbal M et al.2015]**.

XIII- Matériel et méthodes.

A. Matériel :

A.1.Collectes des fourmis

Toutes les fourmis de l'espèce : Canponotus foleyi (fourmis algériennes) ont été collectées lors d'une mission d'élevage en date (12- février -2018), en site du prélèvement de Sidi Naaman : autour de Médéa. L'espèce étudiée au sein de cet échantillonnage colonise un type d'habitat terricole **(Fig. 10)**



a ***b***

Figure 10 : Présentation de la zone du prélèvement des fourmis. **a :** Parcelle d'échantillonnage **; b :** Individu d'échantillon prélevé dans une colonie**.**

A.1.1. Site de prélèvement:

Les fourmis ont été prélevées dans un sol jaune rougeâtre de la région Sidi Naaman, qui se situe à la partie Est de la massive de Titeri.

A.1.2. Fiche technique de la zone :

Les principales caractéristiques de la parcelle d'échantillonnage sont reportées dans la fiche parcellaire :

- lieu de prélèvement : Sidi Naman.
- code de la parcelle : N° NP SSN
- date de prélèvement : 12 /02/2018 à10.h ;
- surface de la parcelle : 100 m^2 (10 x 10 m) ;
- nombre d'unités : 05 unités (hétérogènes) ;

- profondeur de colonie: entre (5 .5 à 9cm) ;

- coordonnées Lambert :

. Longitude : X= 3.1239367E (E : Est) ;

. Latitude : Y= 36.2150557″ N (N : Nord) ;

. Altitude : Z= 900 m.

•Critère d'unité :

- Couleur : jaune rougeâtre
- abondance de matière organique dans le sol : oui

•culture précédente : céréales.

•nombre de colonies : 6 colonies / parcelle

A.2-Les milieux de culture, la solution tampon et les réactifs utilisés :

Les milieux de culture, la solution tampon et les réactifs utilisés figurent en **Annexe I.**

B. Méthodes :

B.1- Localisation du site d'essais : Nous avons effectué nos essais au laboratoire de biologie de la faculté des sciences, université Yahia Farès de Médéa.

B.2-Méthodes appliquées à l'insecte:

Le préalable à toute expérimentation est de connaître en premier lieu le but de l'opération afin de constituer les différentes déterminations à effectuer sur les échantillons de fourmis et les méthodes appliquée qui leur sont affectées .De ce fait, on distingue selon les objectifs visés, trois types d'analyses :

a -Analyse de caractérisation de microbiote cuticulaire.

b -Analyse de caractérisation de microbiote interne (le tube digestif).

c-Analyse de caractérisation totale

Parmi ces trois types d'analyses, nous avons choisi la première car elle est la moins difficile vue à nos données expérimentales.

B.2.1.Analyse de caractérisation du microbiote cuticulaire :

Elle est réalisée pour connaître les caractéristiques microbiologiques de l'insecte. Cette analyse apporte suffisamment d'informations pour dresser un état de symbiose entre les actinobactéries et l'hôte.

B.2.1.1. Etape pré-laboratoire :

C'est une étape de terrain qui consiste en une caractérisation du site d'élevage au moyen d'une fiche parcellaire pour le prélèvement d'un ou de plusieurs échantillons.

a-Prélèvement dans une unité de sol :

La technique consiste à répartir les prélèvements en un endroit précis sur une surface de 100 à 200 m^2 dans l'unité (surface homogène).

- L'échantillonnage est un mélange de 6 prélèvements effectués à l'intérieur de chaque unité homogène.
- Les prélèvements seront réalisés de manière à éviter les lieux particuliers tels qu'un ancien chemin, les bordures, les bas fonds, entrée de champ, près des endroits de stockage des engrais et des amendements.

b- Recommandation pour le prélèvement :

-Le prélèvement n'excède pas les fourmis de 5 à 10 colonies.
-L'échantillonnage pourra se faire dans la saison de printemps.

-Après le mélange des échantillons, nous avons prélevé le nombre (quantité) nécessaire destinée aux :

- Isolement des micro-organismes.
- Analyses microbiologiques.

Avec une quantité du sol de la station d'élevage (300 g de terre humide) dans une boite en plastique propre qui doit être soigneusement étiqueté et accompagné de la fiche du site (**Figure 11**).



Fourmis dans une boite+sol de la colonie mère +source de nutrition des fourmis (saccharose)

Isolement des fourmis destinées au laboratoire

Figure 11 : collecte des fourmis prélevées dans la parcelle d'élevage (SSN) incubé dans une température de 20C° au laboratoire.

La nouvelle colonie des fourmis a été incubée à 20°C avec une quantité de saccharose afin de garder les insectes et la microflore totale cultivable à l'état naturelle fiable **[111]**.

B.2.1.2. Etape au laboratoire :

Le prélèvement des fourmis est réalisé à l'aide de pinces stérilisées en les chauffant au rouge au bec benzène puis trempées dans de l'alcool à 70% entre chaque récolte d'individus. Les fourmis sont ensuite introduites dans des tubes stériles directement sur le terrain. Une dizaine d'individus appartenant à la caste des ouvrières sont collectées par colonie. Six individus sont utilisés ensemble pour le lavage de la cuticule, et deux à trois individus sont conservés pour l'identification des espèces à posteriori.

B.3-Méthodes appliquées à la microflore:

B.3.1. Isolement des actinobactéries :

a. Lavage :

Les fourmis sont ramenées le plus rapidement possible au laboratoire (Figure 11). Si le lieu éloigné de la collecte ne le permet pas, un laboratoire de microbiologie de terrain (becs électriques pour travailler dans une zone de stérilité) est mis en place pour traiter les échantillons sur le lieu de collecte. Afin de faciliter leur manipulation, les fourmis sont endormies à -20°C quelques minutes, ce qui permet d'éviter le relargage de venins ou

d'autres substances issues des glandes exocrines sous l'effet du stress pendant le lavage cuticulaire. Six fourmis de la même colonie sont insérées dans un tube contenant 1 mL d'une solution tampon (stérilisée par filtration à 0.20 µm) à l'aide de pince stérilisées. La solution tampon comprend différents sels minéraux qui évitent la détérioration des bactéries par choc osmotique et un surfactant (tween 80) en faible concentration ce qui optimise le décollement des micro-organismes de la cuticule **[Sinclair Ret Boxall F, 2003]**. Les fourmis dans la solution sont ensuite mélangées 30 secondes afin d'optimiser le décollement mécanique des bactéries présentes sur la cuticule.

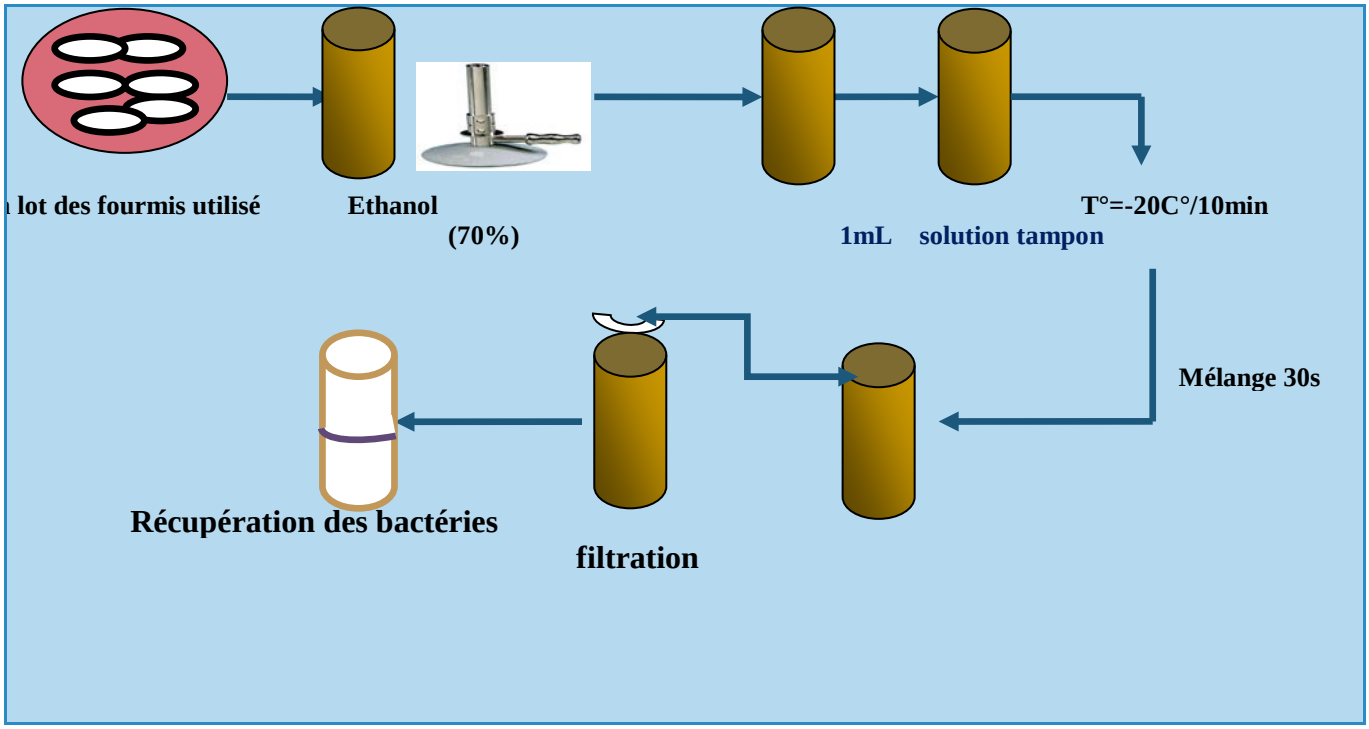


Figure 12: Les étapes de l'isolement des micro-organismes :

b. Mise en culture

100 µL de la suspension bactérienne issue du lavage cuticulaire sont étalés sur une boite de Pétri. Trois boites de milieux gélosés sont ensemencés, (milieu chitine), et chacun de ces trois ensemencements est répliqué une fois. Les boites sont incubées à température ambiante (28°C à 30°C) pendant plusieurs semaines, et observées régulièrement afin de suivre l'apparition des actinobactéries **(figure 13).**

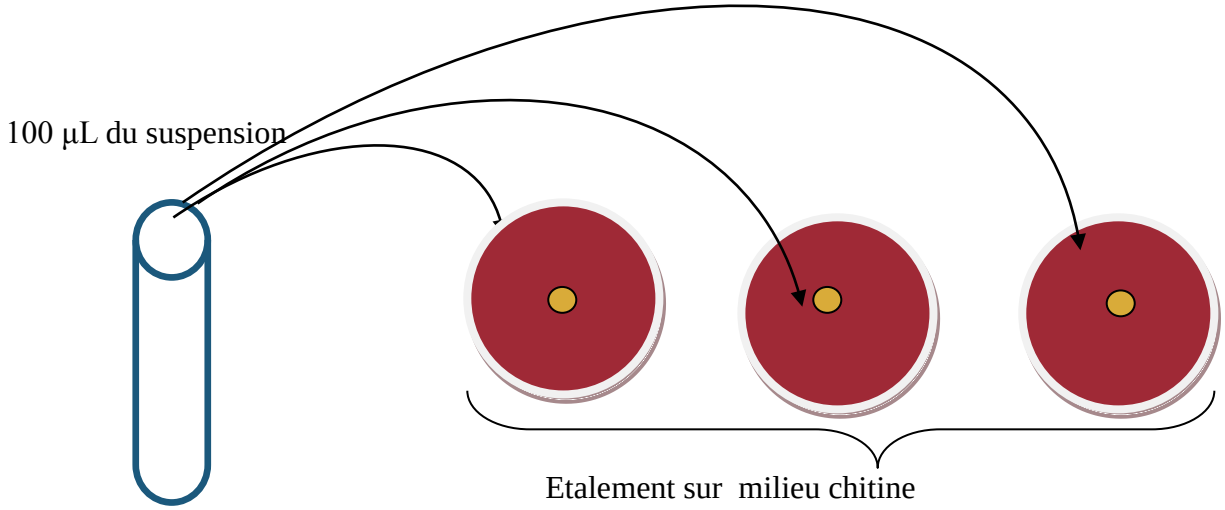
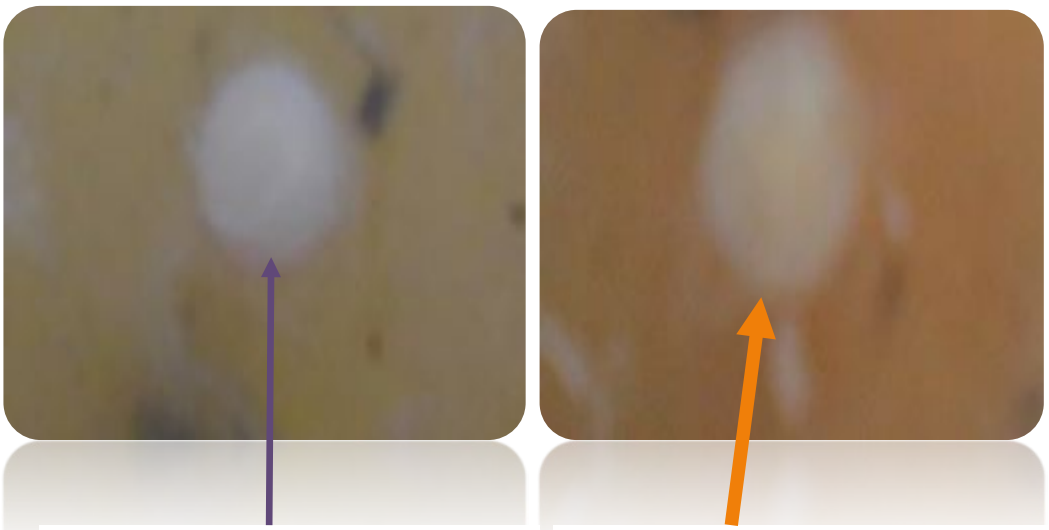


Figure13 : Mise en culture sur milieu chitine à une température de (28°C à 30°C) pendant plusieurs semaines.

B.3.2.purification des actinobactéries :

A l'aide de critères morphologiques principalement, certaines souches sont choisies et isolées sur un milieu gélosé riche favorisant la croissance des actinobactéries, le milieu YMEA **[Marsh C, Chafik N , 2002]**. Les actinobactéries sont reconnaissables à leur aspect visqueux qui apparait avec le temps, elles sont incluses dans la gélose, et créent des cercles d'inhibition clairs autour d'elles en dégradant la chitine. Les souches isolées sont observées au microscope afin d'éliminer des levures ou champignons isolés par erreur. Les actinobactéries ressemblent fortement à des moisissures et il est parfois difficile de les différencier avec une simple observation macroscopique. Toutes les cultures sont incubées à 30°C. Les souches d'actinobactéries sont conservées au congélateur à -20°C, avec deux aliquotes par souche constitués de plusieurs oses d'actinobactéries mises dans une solution de conservation à base de glycérol ce qui permet à la souche d'être conservée durablement **(Figure 14).**



Colonie d'actinobactérie isolée S1 *Colonie d'actinobactérie isolée S2*

Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies de deux actinobactéries purifiées sur milieu YMEA après 7jours d'incubation à une température de 30°C.

B.3.3. Identification des souches isolées :

B.3.3.1. Examen macroscopique (aspect morphologique):

L'observation de l'aspect macroscopiqure des colonies isolées permet d'effectuer une première caracterisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

D'après **[Joffin et Leyral, 2001]**, les élements d'identifications macroscopiques sont:

- **La forme des colonies :** punctiforme, irrégulières,…etc.
- **La taille des colonies** par la mesures du diamètre : petite ; moyenne ou grande taille.
- **La pigmentation** : couleur de la colonie.
- **L'élévation** : bossue, convexe, plane.
- **L'opacité** : opaque, translucides, transparente
- **Aspect** : lisse, rugueuse, sèche.
- **L'aspect macroscopique** des colonies purifiées sur le milieu GN est noté.

B.3.3.2. Examen microscopique :

- **Observation microscopique:**

L'observation de l'aspect microscopique des colonies obtenue est effectuée par l'examen à l'état frais et la coloration de Gram.

- **Examen a l état frais :**

L'état frais est une étape qui permet de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement **[Bousseboua L, 2002]**. L'observation est réalisée comme suit :

Une petite goutte d'eau distillée stérile est déposée au centre d'une lame stérile ; une partie d'une colonie bactérienne pure est prélevée à l'anse et dissociée dans la goutte ; une lamelle stérile est ensuite appliquée sur la goutte en évitant la formation de bulles d'air ; l'observation microscopique est réalisée à l'objectif X40 puis X100, **[Joffin et Leyral, 2001]**.

• **Coloration de Gram** : La coloration de gram est réalisée selon la méthode classique.

On prélève une colonie bien isolée sur laquelle on effectué une coloration de Gram. Une observation microscopique permet de noter le Gram, la taille, la forme et le mode d'association de chaque souche**.**

B.3.3.3.Caractérisation biochimique:

•Test Mannitol mobilité :

Les tubes mannitol sont ensemencés par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur, puis incubés à 300 C pendant 24h, l'utilisation du mannitol se manifeste par le virage de la couleur de l'indicateur de pH, du rouge au jaune et la mobilité se manifeste par un trouble toute au tour de la piqure centrale **(Tableau I). [Joffin et Leyral, 2001]**.

•Utilisation de Citrate comme seule source de carbone :

La pente du milieu Citrate de Simmons **(Tableau I)** est ensemencée par des stries à l'aide d'une pipette pasteur, puis incubées à 30 °C pendant 24h. L'utilisation de

citrate comme seule source de carbone se traduit par un virage de couleur du vert vers le bleu. **[Joffin et Leyral, 2001]**.

• **L'hydrolyse de l'urée :** L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée et conduit à la formation d'ammoniac et de dioxyde de carbone. En solution, le produit final de la réaction est le carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu selon la réaction suivante:

CO (NH2)2+ H2O → 2NH3+CO2 CO2+2NH3 + 2H2O → CO3 (NH4)2

Le milieu urée indole**(annexe)** est ensemencé puis incubés à 30 °C pendant 24h. La présence de l'uréase se traduit par une coloration rose à rouge violacée **(Tableau I). [Joffin et Leyral, 2001].**

• **Recherche de la catalase :** La catalase est une enzyme catalysant la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène), selon la réaction suivante :

$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$.

Elle est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraiche d'eau oxygénée. Pour chaque souche, une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame stérile, sur laquelle quelques colonies sont réparties. Un dégagement gazeux abondant sous formes de mousse ou de bulles d'air traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase **[Joffin et Leyral, 2001].**

Tableau I : Tests biochimiques effectués **[Joffin et Leyral, 2001].**

Milieux de culture	Test recherché	Ensemencement	Incubation Réactif ajouté	Résultats positif	Résultats négatif
1-Mannitol mobilité	Fermentation Du Mannito Mobilité	Piqure Central	24ha37°C	Rouge→jaune Formation d'un axe centrale	**Rouge** Absence de voile
2-Citrate de Simmons	Utilisation du citrate De sodium comme source De Carbone et d'énergie	Stries longitudinales de la pente	24ha37°C	Vert→bleu	Vert
3-Recherche de la catalase	Enzyme catalysant l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène formé lors de réactions en aérobiose.	Déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame et émulsionner directement une partie de la colonie prélevée avec l'anse. - ou verser 1ml d'H2O2 dans une culture de 24h en bouillon ou sur une gélose inclinée		Dégagement de Gaz	Pas de dégagement de gaz
4-Urée-indole	Hydrolyse de l'urée	Quelques gouttes de suspension bactérienne	24h à 37°C	orange→rouge violet	Orange

B.3.4. Tests de biodégradation de la matière organique *in vitro*:

B.3.4.1. Décomposition de la Matière Organique par les souches isolées :

a-Sur milieu Chitine : Nous avons utilisé le milieu chitine qui est pauvre en nutriments (pas de sucres ou de protéines) contenant des sels minéraux et de la chitine. La chitine est le composant principal de la cuticule des fourmis, et des insectes en général. Certaines actinobactéries ont la propriété de dégrader la chitine en hydrolysant les sucres, en formant des cercles clairs autour des colonies **[Marsh F, Calvet R., 2003]**. C'est une technique d'identification des actinobactéries. Ce milieu favorise également le développement des actinobactéries qui ont une croissance lente par rapport aux autres micro-organismes **[Hanshew D et al.2015]**.

b-Sur milieu d'amidon [Marchal L, et Bourdon S, 1973]

Les souches d'actinobactéries sont ensemencées sur milieu gélose nutritif contenant 1% (w/v) d'amidon soluble. Après 14 jours d'incubation à 30°C, la culture est recouverte d'une solution de Lugol. L'hydrolyse de l'amidon est mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies.Les zones contenant de l'amidon se colorent en bleu**.**

C- Sur milieu Tween 80 (ester d'acides gras) [Sierra H., 2002]

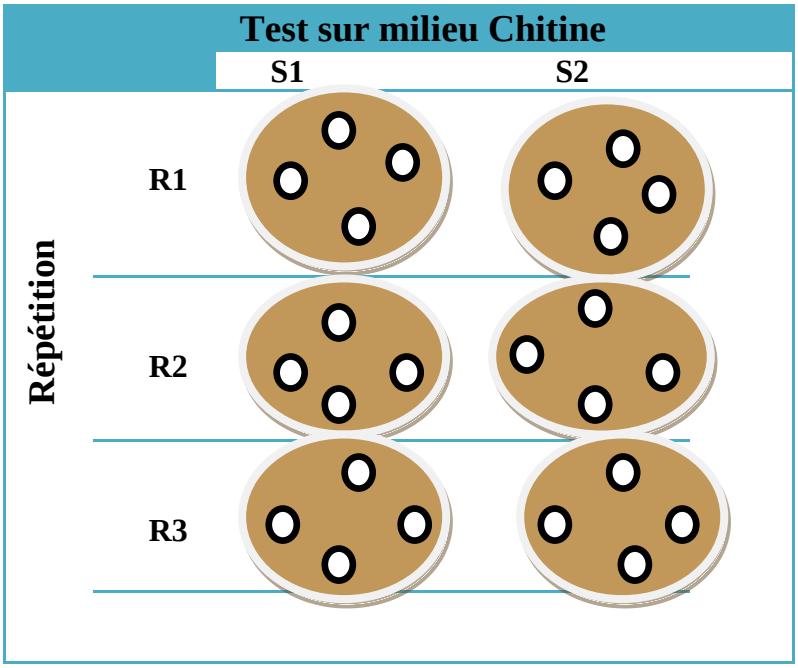
La dégradation du Tween 80 se manifeste par une auréole opaque autour des colonies.

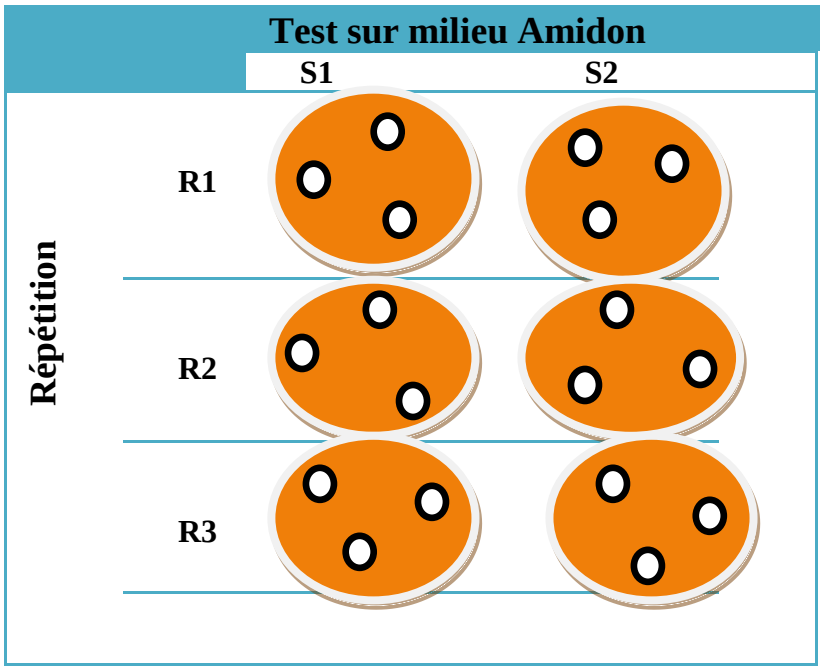
B.3.4.2. Application de technique des disques : .

a. Quantité d'inoculum utilisé: Nous avons utilisé une concentration de 10^8 Bactéries/mL d'inoculum (dans les suspensions bactériennes), pour chaque bactérie, en utilisant une numération spectrophotométrique directe à une DO=0.5.

b. Mode opératoire :

A l'aide d'une pince stérile, on place les disques ont un diamètre de 8mm préalablement inoculés dans des suspensions bactériennes sur les boites de pétri (pour les 3 milieux de culture). Dans chaque, boite de Pétri on place 3 à 4 disques provenant de tubes de dilutions **(figure 15).**


Test sur milieu Chitine
S1
S2
Répétition
R1
R2
R3


Test sur milieu Amidon
S1
S2
Répétition
R1
R2
R3

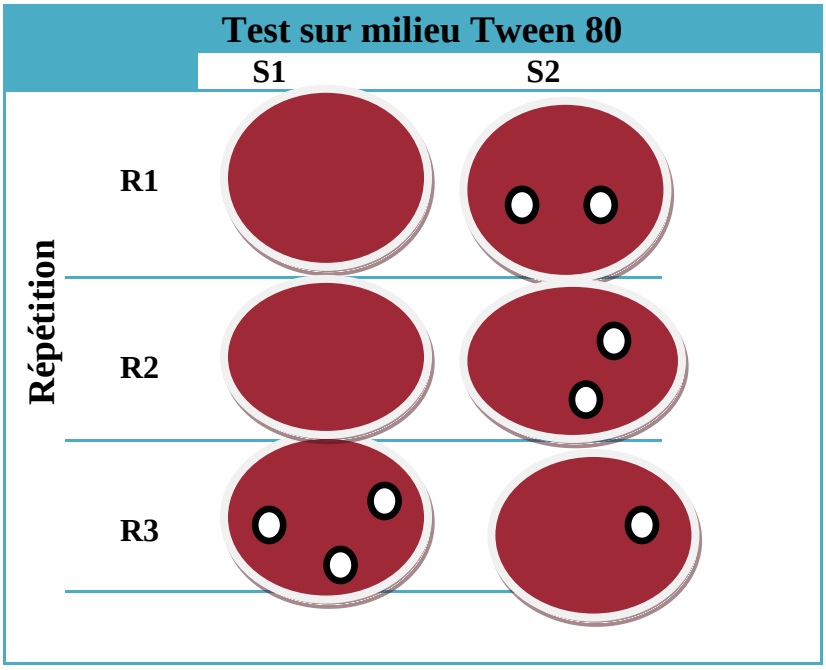


Figure 15: Dispositif expérimental renferment les différents traitements effectués dans le test de décomposition *in vitro* de la matière organique par les deux souches sélectionnées S1 et S2.

c. Incubation :

Les boites de pétri sont incubées dans l'étuve à 30°C pendant 11 jours pour les milieux chitine , tween 80 et amidon

d. Lecture:

Elle consiste à mesurer les diamètres des zones de solubilisation à l'aide d'une règle graduée, la formation d'un halo clair autour des disques est considérée comme indicateur de l'activité de décomposition de la matière organique par les cellules bactériennes.

L'indice de décomposition **(Id)** est déterminé en utilisant la formule suivante **[Edi-Prémono , 1996]** :

$$Id\% = \frac{Diamètre\ halo\ (mm) - Diamètre\ disque(mm)}{Diamètre\ disque\ (mm)} X100$$

B.3. Analyse statistiques des données :

Une méthodes a été effectuée pour nos expériences : Pour chaque série d'analyses, sont calculés la moyenne $\overline{(x)}$ **,** l'écart type **(ε)**, l'intervalle de confiance (**IC**), la variance (**s²), et** le degré de liberté **d.d.l**. . La comparaison des moyennes s'applique par le "**test de Student",** la valeur de **« t calculé »** est donnée par l'expression : t= $\bar{x}$ 1- $\bar{x}$ 2 / $\sqrt{s^2/N1 + s^2/N2}$

Pour un d.d.l. de (N1+N2)-2 et à 5% d'erreur, la valeur de" **t table** ", nous donne le degré de signification (P) lu sur la table de Student **(Annexe II).**

IV. Résultats et discussion :

1. Isolement et sélection des souches différentes :

1.1. Isolement :

Pour chaque tour d'enrichissement, des prélèvements sont effectués, puis ensemencé sur le milieu chitine solide et incubés en 30°C pendant 3 à 7 jours (3 boites pour chaque repiquage).

D'après les résultats représentés dans le **Tableau II**, le nombre des boites qui présentent une croissance microbienne a augmenté de 2/3 durant les deux premiers repiquages avec un nombre de colonies égal à 4 à 3/3 vers le dernier repiquage où le nombre total de colonies est diminue vers 2 colonie seulement.

Cela peut être du à une adaptation des micro-organismes avec les composante du milieu.

Les colonies obtenues du dernier repiquage et ayant une bonne croissance sur le milieu chitine sont purifiées et pré-identifiées en se basant sur des caractères morphologiques et biochimiques.

Tableau II: Dénombrement des colonies isolées de différents repiquages dans un milieu chitine.

Période d'incubation (jours)	**Nombre de boites (répétions)**	**Nombres des boites qui présentent une croissance microbienne**	**Nombre de colonies différentes /boite**
3- 7 jours	**03**	**2**	**2 + 2 moisissures**
3-7jours	**03**	**2**	**2**
3-7jours	**03**	**3**	**2**
3-7jours	**03**	**3**	**2**

1.2. Purification des souches capables de l'utiliser la chitine comme source de carbone et énergie :

La culture finale sur milieu chitine est repiqué en série de boites (jusqu'à la deuxième semaine), et ensemencée sur le milieu chitine.

Les colonies présentant une bonne croissance sont repiquées sur le milieu YEM trois fois, et les boites sont incubées à 30°C pendant 3 jours. L'aspect macroscopique des souches isolées est représenté sur la **figure 16.**

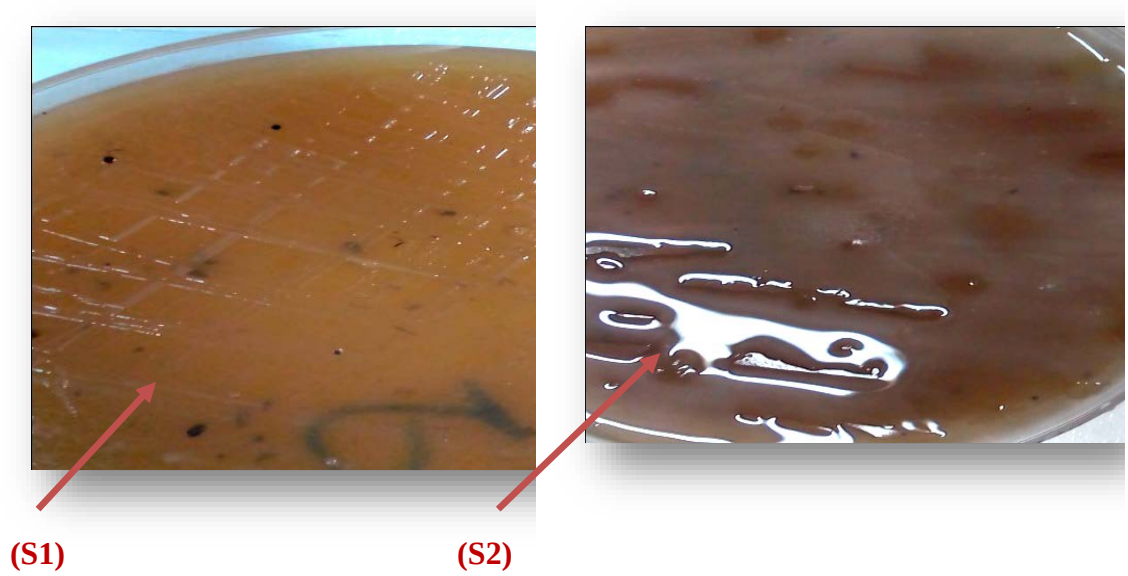


Figure 16: Aspect macroscopique des deux bactéries isolées sur milieu de culture solide **, S1 : souche 1 ; S2 :souche 2**

2. Identification des souches isolées :

2.1. Aspect macroscopique :

La description morphologique des souches bactériennes isolées et purifiées sur milieu YEM est représentée dans le **Tableau III**:

Tableau III : Caractéristiques macroscopiques des deux actinobactéries isolées.

Caractères morphologiques	Germes isolés (souche)	
	S1	S2
La forme	Ronde	Ronde
Le relief	Plate	Plate
Le contour	à bord régulier	à bord régulier
Le diamètre	1 à 2 mm	2 à 3 mm
La taille	Petite colonie	Petite colonie
Aspect	Lisse	Brillante
La couleur	Blanche	Colonies blanches entourée d'un halo rose
Elévation	Bombée	Plaine
Bord	Régulier	Régulier
Consistance	Crémeuse	Muqueuse
Opacité	Opaque	Translucide

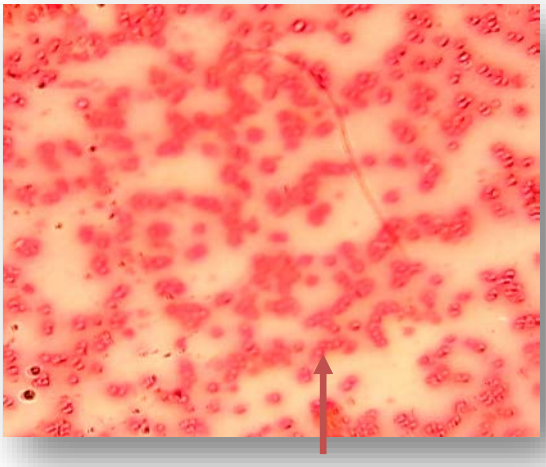
2.2. Observation microscopique :

• **Etat frais :** Les résultats de l'aspect microscopique de l'état frais sont représentés dans le **Tableau IV.**

Tableau IV: Aspect microscopique des bactéries isolées.

Souches	Forme	Regroupement	Mobilité
S1	**Cocci**	**En paire**	**Immobile**
S2	**Cocci**	**En Chainette**	**Immobile**

• **Coloration de Gram :** Le type de Gram des bactéries isolées est représenté dans la figure 17 et Tableau V.



S1



S2

Figure17: Aspect microscopique des isolats après coloration de Gram (Gx100).**Tableau V:** Résultats du test de coloration Gram des deux isolats S1 et S2.

Aspect	**Germes**	
	S1	**S2**
Coloration Gram	Positive(+) Coloration violet	Positive (+) Coloration violet

2.3. Caractérisation biochimique: Les caractères biochimiques des souches

Tableau VI: Caractères biochimiques des souches bactériennes isolées.

Test biochimique	Souches	
	S1	**S2**
Manitol	-	-
Citrate	+	+
Hydrolyse de l'urée	-	-
Catalase	+	-

• Les différentes caractéristiques réunies sur les isolats nous a permis de classer les souches en deux groupes :

Pour la souche 1 : selon les résultats obtenus, il s'agit d'une bactérie à Gram + (Tableau V) qui a une forme de cocci, regroupée en paire, immobile (Tableau IV) , catalase positive et citrate positive (Tableau VI); De ce fait, cette souche peut être classé dans la famille des Micrococcaceae, ces caractères nous permettent de la rapprocher au genre *Micrococcus.*

Pour la souche 2 : Le mode de regroupement de la souche 2 En Chainette (Tableau IV) , catalase négatif (Tableau VI) élimine les Micrococcaceae et Staphylococcaceae donc la souche 2 est rapprochée au genre *Streptococcus*.

3. Etude, *in vitro*, de la cinétique de dégradation de la matière organique par les souches sélectionnées :

Dès leur application, les matières organiques sont soumises à des processus de dégradation abiotique (physico-chimiques) ou biotique (biologiques). Les processus de dégradation abiotique plus courants sont l'hydrolyse, l'oxydation, la réduction, la décarboxylation, l'isomérisation et la photodégradation et la thermodégradation. La biodégradation des matières organiques peut être aérobie ou anaérobie et conduit à la production de métabolites jusqu'à la minéralisation **[Coli et al.1988]**. La représentation des cinétiques de dégradation des matières organique *in vitro* est généralement fondée sur une loi de décroissance exponentielle avec un pas de temps

journalier, où le temps est une propriété déterminée en laboratoire en conditions standardisées et au champ dans le cadre de la procédure d'homologation des matières organiques. La dégradation s´accompagne de l´apparition de métabolites, avec changement de la structure chimique, ce qui provoque des modifications de leur nature et de leur comportement par rapport á celui de la molécule mère. Les réactions de dégradation sont sensibles à différents paramètres environnementaux et dépendent de la structure chimique des matières organiques.

Donc la cinétique de dégradation des matières organiques « MOs » par les souches sélectionnées est étudiée *in vitro*, par la mesure de l'indice de dégradation **(Id)** sur milieu solide.

3.1. Cinétique de biodégradation des matières organiques :

3.1.1. Mesure de «Id » des deux souches bactériennes sur milieu chitine:

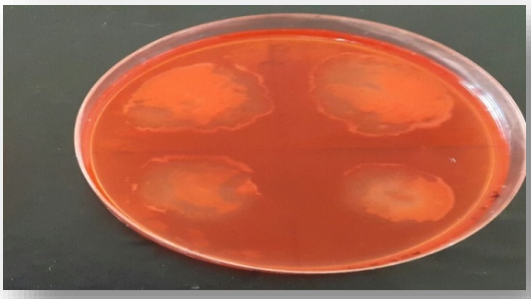
Les deux souches (S1 et S2) de point de vue croissance sur milieu chitine sont choisies pour l'étude *in vitro* de la dégradation de ce même substance. La variation de l'activité bactérienne, des deux souches sélectionnées, au cours des 11 jours d'incubation sur milieu chitine.

Dans le but d'isoler des souches bactériennes capables de dégrader la chitine une méthode d'isolement est utilisée. Cette méthode a été utilisée dans plusieurs recherches : par **[Ying F et al.2001]** pour l'isolement de bactéries dégradantes fenoxaprop-ethyl, par **[Minghua G et al.2011]** pour l'isolement de micro-organismes dégradants bensulfuron-methyl, ainsi que par **[ji-ping , 2009]** pour l'isolement de micro-organismes dégradants chlorimuron-ethyl. C'est une méthode qui permet une meilleure adaptation des micro-organismes aux substances utilisés comme seule source de carbone et d'énergie, en augmentant progressivement la concentration de ces herbicides dans le milieu de culture, ce qui permet l'isolement du maximum de micro-organismes ayant des capacités de résistance et de dégradation des molécules étudiés et qui peuvent de ce fait utilisées dans les procédés de dépollution biologique et la minéralisation des sols pauvres .

La Figure ci-dessous montre l'apparition d'une zone de dégradation de la chitine par les deux souches sélectionnées (Figure 18).



Souche 2



Souche S1

Figure 18 : Recherche du pouvoir chitinolytique des deux souches testées. Mise en évidence des zones de lyses après 11jours d'incubation à 30°C.

D'après les résultats représentés dans le **Tableau VII et la Figure 19** , la souche S1 présente une activité moyennement faible de solubilisation de la chitine qui caractérisée par un indice Id de (65 ± 4.67) % dès le 3ème jour, par contre la valeur enregistrée par la souche S2 été de (47.5± 4.65) % à partir du 1ier jour d'incubation dans les même conditions, la capacité à été élevée de (135 ± 5.43) % pour la souche S1 et (135 ±4.72) % pour la souche S2 durant le 11ème jour ce qui indique à une exadaptation de ces micro-organismes notamment la **S2** à la chitine dans le milieu avec le temps.

Plusieurs travaux portant sur l'étude de la dégradation biologique de la chitine ont rapporté le rôle important joué par des enzymes chitinolytiques d'origine bactérienne, **[Chet et al.1991]**. **[Campbell et al.2005]** ainsi que **[Campbell et Ephgrave , 1983]** ont montré que les bactéries chitinolytiques peuvent être considérées comme de bonnes compétitrices telluriques dans la rhizosphère des plantes.

[Mavingui P, 1992] a évalué la capacité chitinolytiques des souches de *Bacillus polymyxa* par la mesure de l'activité chitobiase. L'activité chitobiasique de divers

gènes bactériens a été corrélée avec leur aptitude à dégrader la chitine sur milieu gélosé **[O'Brien F et Colwell H, 1987]**. De plus, ces auteurs ont montré que le test chitobiasique était plus sensible, puisque des souches incapables de dégrader la chitine en milieu gélosé se sont avérées positives pour l'activité chitobiasique.

[Singh S et al.1992] ont montré que la suppression de la fusariose vasculaire du concombre par l'actinobactérie *Streptomyces* sp. 385 est réalisée par la conjonction de deux enzymes : la chitinase et la β-1,3-glucane, enzymes ayant la capacité de dégrader les constituants de la paroi cellulaire du *F.o*.f.sp.*cucumerinum*.

Tableau VII: Variation de l'activité bactérienne des deux souches testées S1 et S2, au cours des 11 jours d'incubation, sur milieu chitine.

Les moyennes sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiances sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

Temps d'incubation à 30°C	Id (S1) (%)	Id (S2) (%)
24h	0	**47.5±4.65**
48h	0	52.5±5.08
72h	65 ± 4.67	65±4.66
4j	67.5 ± 4.65	67.5±4.66
5j	69.25 ± 4.57	69.25±4.65
6j	80 ± 4.72	80±4.72
7j	90 ± 4.72	90±4.72
8j	100 ± 4.72	100±4.72
9j	110 ± 4.72	110±4.72
10j	120 ± 4.72	120±4.72
11j	**135 ± 5.43**	**135 ±4.72**

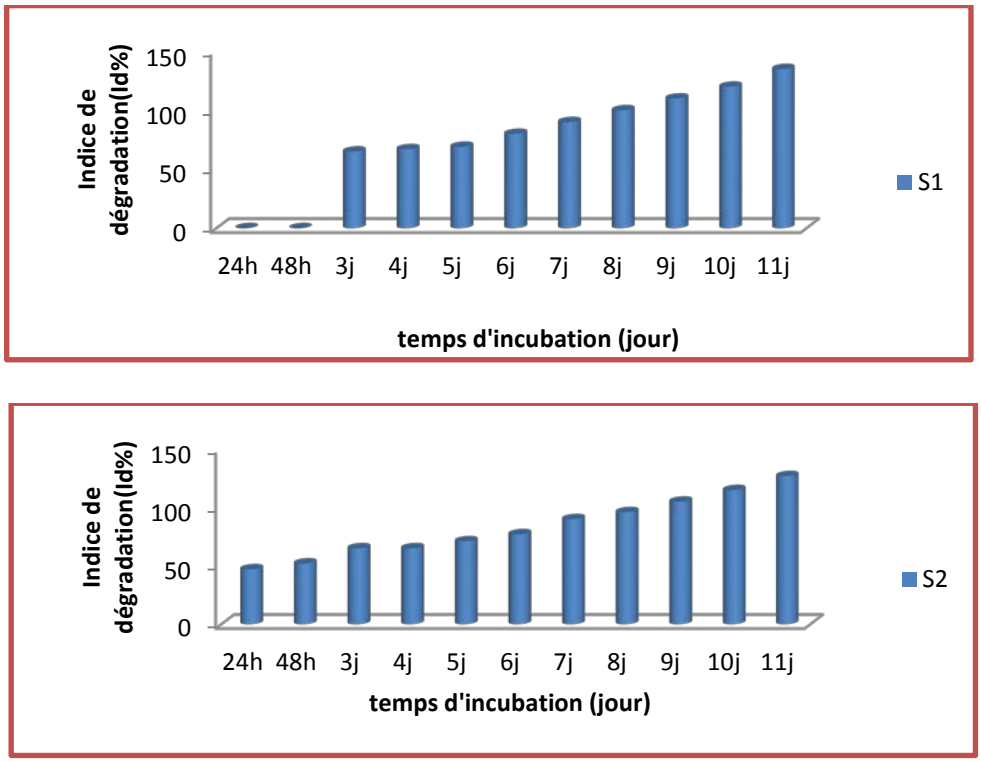


Figure 20 : cinétique de la biodégradation de la chitine par les souches (S1) et (S2).

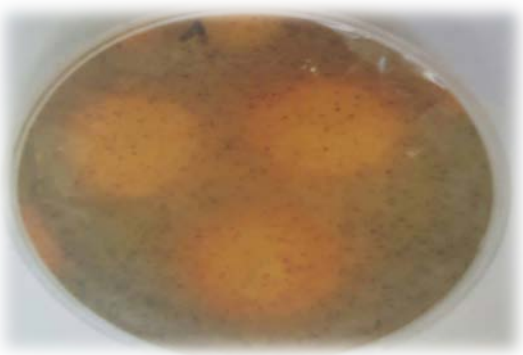
3.1.2. Mesure de «Id » des deux souches bactériennes sur milieu tween80:

En plus du rôle joué par les actinobactéries dans la biodécomposition de la chitine, les deux souches bactériennes étudiées développent presque les mêmes comportements par rapport à l'activité enzymatique ciblée.

La **Figure 21** montre l'apparition d'une zone de dégradation importante sur milieu Tween 80 par les deux souches sélectionnées.

Les enzymes hydrolytiques sont utilisés comme des molécules clés dans le phénomène de compétition développé par les micro-organismes producteurs vis-à-vis de la flore de l'écosystème qu'ils occupent **[Beneduzi D et al.2000]**.

Dans ce travail, les deux souches sélectionnées montrent une activité importante de dégradation de la matière organique en développant sur milieu Tween 80 des zones jaune-orange (Figure 21).



Souche S2



Souche S1

Figure 21 : Recherche du pouvoir lytique sur milieu Tween 80 des deux souches testées. Mise en évidence des zones de lyses après 11jours d'incubation à 30°C.

Au bout de 4 jours d'incubation sur le milieu Tween 80, une action inhibitrice solubilisatrice exercée par S2 où Id atteint 70±6.51 %, par contre la zone de solubilisation de la S1 n'occupe que 40 ±5.75 %.

La souche S2 solubilise 100 ±7.67 % au maximum durant le 11ème jour de culture mais la souche S1 caractérisée par un **Id** enregistré dans ce temps est presque la moitie (55±4.60 %) (Tableau VIII, Figure 22).

Tableau VIII : Variation de l'activité bactérienne des deux souches testées S1 et S2, au cours des 11 jours d'incubation, sur milieu chitine.

Les moyennes sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

Temps d'incubation	Id S1 (%)	Id S2 (%)
24h	0	0
48h	0	0
72h	0	0
4j	0	0
5j	40±5.75	**70±6.51**
6j	40±5.75	**70±6.51**
7j	40±5.75	**70±6.51**
8j	43.75±5.70	**75±6.86**
9j	47.5±5.55	**80±7.13**
10j	55±5.42	**90±7.67**
11j	55±4.60	**100 ±7.67**

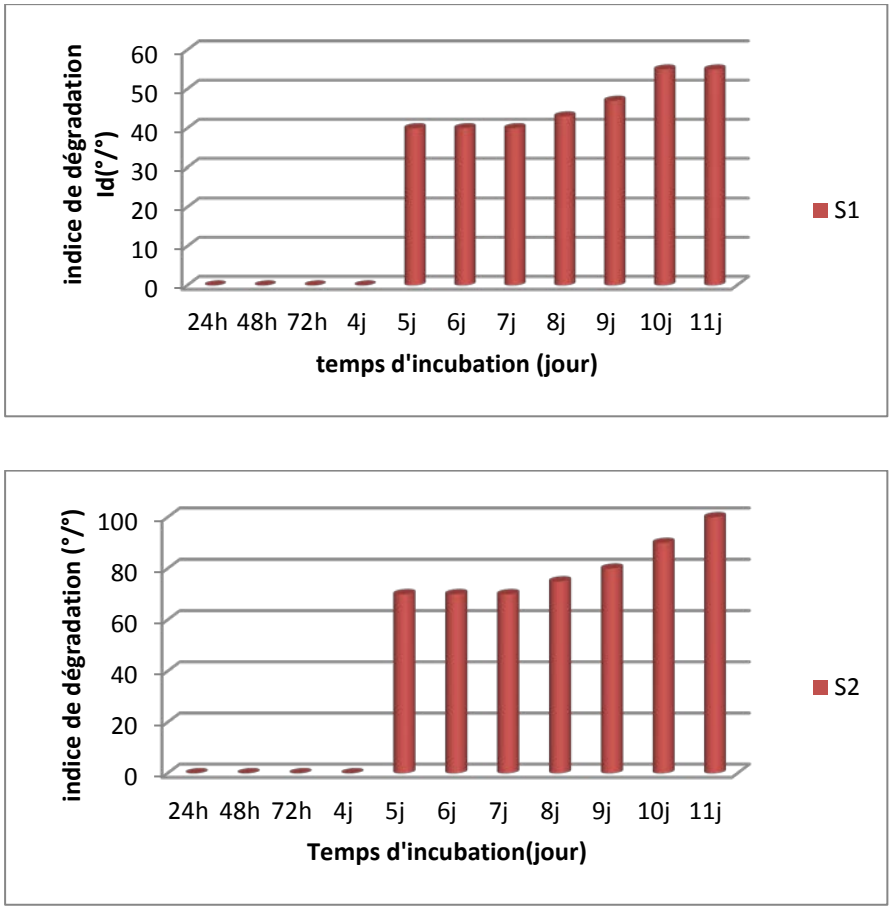


Figure 22 : cinétique de la biodégradation de Tween 80 par les souches (S1) et (S2).

3.1.3. Mesure de «Id » des deux souches bactériennes sur milieu d'amidon:

L'observation quotidienne direct, et sous la loupe binoculaire réalisées sur la zone de contact entre les colonies bactériennes (disques) et le milieu (amidon) sur boîtes de Petri, montrent que ces souches bactériennes ne rassemblent pas des halos de solubilisation autour des disques. Pourtant que l'amidon **[Hagedorn C, 1976],** la chitine et l'acide humique constituent des substrats sélectifs pour isoler les actinomycètes rares **[Cho et al.1994]**.

Le milieu Amidon-Caséine est utilisé par de nombreux auteurs pour l'isolement de *Streptomyces* à partir des sols arides **[Hagedorn C, 1976].** Le milieu Amidon-Caséine est considéré un milieu de choix permettant un bon développement du mycélium aérien et est considéré come étant le milieu le plus approprié pour la sélection et la croissance des actinomycètes **[Küster E et al.1964].** Selon **[Jignasha et al.2007],** la croissance de *Streptomyces clavuligerus* est faible sur milieu ISP5 par comparaison au milieu amidon.

D'un autre part, la modification de la répartition spatiale et de la physiologie des micro-organismes des termites est sans doute l'aspect le plus accessible de la formidable coévolution entre les symbiontes (microbiote) et leur hôte. Tout semble avoir été développé pour accueillir les micro-organismes dans des conditions optimales, tant par des structures physiologiques adaptées que des environnements physico-chimiques contrôlés. De même le long du tractus intestinal, les micro-organismes ne se répartissent pas de manière aléatoire ; ils colonisent des micro-habitats distincts qui leur offrent les meilleures conditions de croissance.

L'intestin moyen (mésentéron) est, comme chez la plupart des insectes, un lieu important de la digestion, caractérisé par l'existence des espèces d'actinomycètes et des protozoaires flagellés (endobiontes : microbiote interne**)** assurant la sécrétion d'enzymes digestives. C'est là que se ferait la dégradation de la cellulose, des hémicelluloses et d'autres polysaccharides comme l'amidon **[Bignell DE , 2000]**. Cela rejoint nos résultats qui suggèrent que les deux souches isolées ne peuvent pas dégrader l'amidon car elles appartiennent au type de microbiote (épibiontes : microbiote associé à la surface externe ou cuticulaire)**,** qui traduit par l'absence de l'activité amylolytique de deux souches.

Tableau IX : Production des enzymes dégradant la matière organique (chitinase, amylase et lipase) par les deux souches testées S1 et S2.

Souches	**Activité enzymatique**		
	Chitinase	**Lipase (Tween 80)**	**Amylase**
S1	++	+	-
S2	++	++	-

- Activité enzymatique : (+) présence d'une activité.
- Activité enzymatique : (-) absence d'une activité .

▪ A la lumière des résultats récapitulés dans le Tableaux IX, nous pouvons conclure que :

▪ Les deux souches ont un comportement différent selon les métabolites testés.

▪ Les analyses statistiques ont révélé une différence significative de ces paramètres chez les deux souches testées pour le décomposition de la chitine et Tween 80.

▪ Pour le traitement ‹‹amidon››, aucun effet significatif n'a été noté pour les deux germes sur l'activité solubilisatrice de ce métabolite.

Selon les résultats obtenus par une autre étude montre que L'ISB des composts est de 0,43 et 0,36 pour bp et dv respectivement. Autrement dit, il devrait rester 43% et 36% de la matière organique apportée à la terre. Au bout de deux ans, environ 22% et 47% de la matière organique de bp et dv respectivement ont disparu, les stocks de matière organique peuvent donc encore diminuer. La dégradation de la matière organique "non stable" peut durer plusieurs années quand l'apport initial est important (Jenkinson, 1977). Cependant dans notre étude, l'essentiel des variations et des processus de stabilisation semble avoir été réalisé pendant la première année : la minéralisation potentielle 2 Chapitre 9. Synthèse des résultats et discussion générale 168 des mélanges à base de compost n'est pas significativement différente, et l'analyse de la composition biochimique montre que les variations sont minimales entre le début et la fin de la deuxième année. Pour les mélanges à base de tourbe, le stock de matière organique a diminué de 25%, alors qu'avec un ISB de 1, il ne devrait pas varier. Une fois extraite de son milieu naturel, les changements dans l'environnement physico-chimique de la tourbe peuvent contribuer à diminuer sa stabilité (Laiho, 2006).

VI. Références et bibliographie :

[1] : **Caroline .B, 2017 -** Le microbiote bactérien cuticulaire des fourmis de Guyane : pouvoir antibiotique et écologie des communautés, 112 P, these de Doctorat.
[2] : **Davail S, Mako L, 2003-** Les Actinomycètes, Source de biomolécules d intérêt industriel. Rev eco-bio 154-190.

[3] :http://www.fondationlamaporg/sites/default/files/upload/media/minisites/HandiSciences/Fiche_14_141.

[4] : Müller R, 2005- Les Fourmis : Comportement, Organisation Sociale et Évolution
[5] : **Gaston F,2012-** Mille milliards de fourmis 9 mars 2016 > 27 février 2017

[6] : Altieri M.A., 1999- The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agriculture, Ecosystems & Environment, 74(1-3), 19-31.

[7] : Sanders S. et Van Veen D., 2010 -The impact of an ant-aphid mutualism on the functional composition of the secondary parasitoid community. Ecological Entomology 35(6): 704-710.

[8] : Oliver, T. H., A. Mashanova, S. R. Leather, J. M. Cook and V. A. A. Jansen 2007- Ant semiochemicals limit apterous aphid dispersal. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 274(1629): 3127-3131.

[9] : **Ebbers, B. C. and E. M. Barrows, 1980 -** Individual ants specialize on particular aphids herds (Hymenoptera: Formicidae; Homoptera: Aphididae). Proceeding of the Entomological Society Washington 82: 405-407.

[10] : **Völkl, W., J. Woodring, M. Fischer, M. W. Lorenz and K. H. Hoffmann ., 1999** - Ant-aphid mutualisms: the impact of honeydew production and honeydew sugar composition on ant preferences. Oecologia, Springer Berlin / Heidelberg. 118**:** 483-491.

[11] Fischer, C., Lognay G, Detrain C, Heil M, Grigorescu A, Sabri A, Thonart P, Haubruge E and Verheggen F., 2015- Bacteria may enhance species association in an ant–aphid mutualistic relationship. Chemoecology: 1-10.

[12] : **Grinath, J. B., Inouye B. D. and Underwood N., 2015 -** Bears benefit plants via a cascade with both antagonistic and mutualistic interactions. Ecology Letters 18(2): 164-173.

[13] :Gómez, C. and Espadaler X, 2013 - An update of the world survey of myrmechorous dispersal distances. Ecography 36: in press.

[14] : Malé, P.-J. G., J.-B. Ferdy, C. Leroy, O. Roux, J. Lauth, A. Avilez, A. Dejean, A. Quilichini and J. Orivel., 2013- Retaliation in Response to Castration Promotes a Low Level of Virulence in an Ant–Plant Mutualism. Evolutionary Biology: 1-7. Quintero, C., K. E. Barton and K. Boege (2013). The ontogeny of plant indirect defenses. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics.

[15] : Frederickson, M. E., M. J. Greene and D. M. Gordon., 2005- 'Devil's gardens' bedevilled by ants. Nature 437: 495-496.

[16] : Dejean, A., C. Leroy, B. Corbara, O. Roux, R. Céréghino, J. Orivel and R. Boulay., 2010 - Arboreal ants use the "velcro principle" to capture very large prey. PLos One 5: 331.

[17] : Dejean, A., P. J. Solano, J. Ayroles, B. Corbara and J. Orivel (2005)- Arboreal ants build a trap to ambush and capture prey. Nature 434: 793.

[18] : Ruiz-González, M. X., P.-J. G. Malé, C. Leroy, A. Dejean, H. Gryta, P. Jargeat, A. Quilichini and J. Orivel., 2011- Specific, non-nutritional association between an ascomycete fungus and Allomerus plant-ants. Biology letters 7(3): 475-479.

[19] : Corbara, B, 2011 - L'arbuste, les fourmis et le champignon. Espèces 1: 66.
Portrait d'une chercheuse : Céline leroy. Espèces 1.

[20] : De Vega, C., C. M. Herrera and S. Dötterl., 2014 - Floral volatiles play a key role in specialized ant pollination. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics in press.

[21] : De Vega, C. and C. M. Herrera., 2012 - Relationships among nectar-dwelling yeasts, flowers and ants: patterns and incidence on nectar traits. Oikos.
[22] : Corbara, B. 2011 - L'arbuste, les fourmis et le champignon. Espèces 1: 66.

[23] : Biven S., Menasseri S., Chenu C., 2009- The effects of organic inputs over time on soil aggregate stability—A literature analysis. Soil Biology and Biochemistry, 41(1), 1–12.

[24] : Bardgett R.D., Chan K.F., 1999- Experimental evidence that soil fauna enhance nutrient mineralization and plant nutrient uptake in montane grassland ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, 31(7), 1007-1014.

[25] : Balvanera P., Pfisterer A., Buchmann N., He J.-S., Nakashizuka T., Raffaelli D., Schmid B., 2006- Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. Ecology Letters, 9(10), 1146-1156.

[26] : Arditi R., Michalski J., Hirzel A.H., 2005- Rheagogies: Modelling non-trophic effects in foodwebs. Ecological Complexity, 2(3), 249-258.

[27] : Aira M., Piearce T.G., 2009- The earthworm Lumbricus terrestris favours the establishment of Lolium perenne over Agrostis capillaris seedlings through seed consumption and burial. Applied Soil Ecology, 41(3), 360-363.

[28] : Mueller, U. G., T. R. Schultz, C. R. Currie, R. M. M. Adams, and D. Malloch., 2001- The origin of the attine ant-fungus mutualism. Quarterly Review of Biology 76:169-197.
[29] : Farrell, B. D., A. S. Sequeira, B. C. O'Meara, B. B. Normark, J. H. Chung, and B. H. Jordal. Aanen, D. K., P. Eggleton, C. Rouland-Lefevre, T. Guldberg-Froslev, S. Rosendahl, and J. J. Boomsma., 2002- The evolution of fungus-growing termites and their mutualistic fungal symbionts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **99**:14887-14892. 2001. The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). Evolution **55**:2011-2027.

[31] : Mueller, U. G., N. M. Gerardo, D. K. Aanen, D. L. Six, and T. R. Schultz. 2005 - The evolution of agriculture in insects. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics **36**:563-595.

[32] : Currie, C. R., J. A. Scott, R. C. Summerbell, and D. Malloch., 1999- Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. Nature **398**:701-704.

[33] : Little, A. E. F., T. Murakami, U. G. Mueller, and C. R. Currie., 2006- Defending against parasites: fungus-growing ants combine specialized behaviours and microbial symbionts to protect their fungus gardens. Biology Letters **2**:12-16

[**34] : Bot, A. N. M., M. L. Obermayer, B. Holldobler, and J. J. Boomsma. 2001a-** Functional morphology of the metapleural gland in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus*. Insectes Sociaux **48**:63-66.

[35] : Mendonca, A. D., C. E. da Silva, F. L. T. de Mesquita, R. D. Campos, R. R. Do Nascimento, E. Ximenes, and A. E. G. Sant'Ana., 2009- Antimicrobial activities of components of the glandular secretions of leaf cutting ants of the genus Atta. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology **95**:295-303.

[36] : Mueller, U. G., T. R. Schultz, C. R. Currie, R. M. M. Adams, and D. Malloch., 2001- The origin of the attine ant-fungus mutualism. Quarterly Review of Biology **76**:169-197.

[37] :Ted, R. S. and G. B. Seán., 2008- Major evolutionary transitions in ant agriculture. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **105**:5435-5440.

[38] : Mueller, U. G., N. M. Gerardo, D. K. Aanen, D. L. Six, and T. R. Schultz. 2005 - The evolution of agriculture in insects. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics **36**:563-595.

[**39] : Mikheyev, A. S., U. G. Mueller, and P. Abbot., 2006-** Cryptic sex and many-to-one colevolution in the fungus-growing ant symbiosis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **103**:10702-10706.

[40] : Mikheyev, A. S., U. G. Mueller, and J. J. Boomsma., 2007- Population genetic signatures of diffuse co-evolution between leaf-cutting ants and their cultivar fungi. Molecular ecology **16**:209-216

[41] : Mikheyev, A. S., U. G. Mueller, and J. J. Boomsma., 2007- Population genetic signatures of diffuse co-evolution between leaf-cutting ants and their cultivar fungi. Molecular ecology **16**:209-216

[42] : Voglmayr, H., V. Mayer, U. Maschwitz, J. Moog, C. Djiéto-Lordon, and R. Blatrix., 2011- The diversity of ant-associated black yeasts: insights into a newly discovered world of symbiotic interactions. Fungal Biology **115**:1077-1091.

[43] : Báthori N Adamczewski A.,Praczyk T., Paradowski A., 2015 –Ocena nowychherbicydów zgru pysulfonyl omoczni kowej.Materiały 28.SesjiNauk. Inst. Ochr.Roślin, cz. 2: 299–304.

[44] :Espadaler R et Santamaria M., 2012- Modélisation stochastique du transfert des pesticides dans les sols et les eaux souterraines. Application à la vulnérabilité des puits. Thèse (docteur d'INRSEau du Québec). Chapitre 3 (25-26).

[45] : Bos D, 2012- Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorant. Université de Toulouse (France).P.4.

[46] : Hughes , 2011- Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorant. Université de Toulouse (France).P.4.

[47] :Pennisi, 2014-Recent advances in sulfonylurea herbicides In : Chemistry of Plant Protection, Herbicides inhibiting Branched-Chain Amino Acid Biosynthesis – Recent Developments. J. Stetter (ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 10: 48.

[48] : **Douglas, 2015 -**Microbiologie Technique. Tome 1 Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et crdp d'Aquitaine, 171-189.

[49] : Currie N., Abrous O. & Aïd F., 2005-. Effets du sulfosulfuron sur la germination et la croissance des plantules de Soja (Glycine max L). annales de l'institut national agronomique, El Harrach. 24 : 1 et 2.

[50] : Yek C et Mueller C, 2011-Contamination des sols - Transferts des sols vers les animaux. EDP Sciences/ADEME, 19-20.

[51] : **Báthori L et Robert, M., 2015-** Le Sol: interface dans l'environnement: ressource pour le développement.

[52] : Espadaler et Santamaria, 2012- Transferts des produits phytosanitaires vers l'atmosphère, Mécanismes de transfert des produits phytosanitaires. Document provisoire de la Cellule Régionale d'Etude des Pollutions des Eaux par les Produits Phytosanitaires (CREPEPP), Pays de Loire,.

[53] : Bos A, Monsato Europe N. V., 2014 -Produit commercial Apyros, fiche de sécurité. Anvers, Belgique. P. 10.

[54] : Bensserradj, 2014- Variation de la teneur en résidus de pesticides dans les sols de la zone cotonnière duBurkina Faso. Journal Africain des Sciences de l'environnement, 1,2007: 29-39.

[55] :**Balazy E, Schäfer R.B., Caquet T., Siimes K., Mueller R., Lagadic L., Liess M.,1986 -** .Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. Sci. Total Environ., 382, , 272–285.

[56] : Santamaria et Espadaler, 2015- Pesticide occurrence and distribution in fog collected near Monterey, California. Environ.Sci.Tech., 25:155-160.

[57] : **Loreto et Hughes, 2016-** Fungal degradation of an acetolactate synthase (ALS) inhibitor pyrazosulfuron-ethyl in soil. Chemosphere.In print.

[58] : Bos Valle, A., Boschin, G., Negri, M., Abbruscato, P., Sorlini, C., D'Agostina, A., andZanardini, E. , 2006 -The microbial degradation of azimsulfuron and its effect on the soilbacterial community.J. Appl. Microbiol. 101, 443–452.

[59] : Herzberg, 2015 -Organophosphore utilization by the wild-type strain of Pseudomonas fluorescens.Appl Environ 58 :2993-2999.

[60] : Brütsch , 2014- Study ofbiochemical pathway and enzyme involved in metsulfuron-methyl degradation byAncylobactersp. XJ-412-1 isolatedfromsoil. Curr. Microbiol. 62, 1718–1725.

[61] : Konrad Ertli .T., A. Marton, R. Földényi, 2012-. Effect of pH and the role of organic matter in the adsorption of isoproturon on soils.Chemosphere, 57 :771-779.

[62] :Abdun et Debroise 2012- Study ofbiochemical pathway and enzyme involved in metsulfuron-methyl degradation byAncylobactersp. XJ-412-1 isolatedfromsoil. Curr. Microbiol. 62, 1718–1725.

[63] : Pull A, Zamy, C., Mazellier, P., Legube, B., , 2018- Phototransformation of selected organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions.Water research 38: 2305-2314.

[64] : Solá Gracia, Ertli .T., A. Marton, R. Földényi, 2018 - Effect of pH and the role of organic matter in the adsorption of isoproturon on soils.Chemosphere, 57 :771-779.

[65] : **Matarrita-Carranza., Stephanie A. E., John A. B., Thomas M. S., 2017** - Isolation and characterization of soil Bacteria That Define Terriglobus gen. nov; in the phylum Acidobactria. Applied andenvironmental microbiology, 73: 2708-2717.

[66] : Lavelle et Spain, Singh BK, Kuhad RC, Singh A, Lal R &TriapthiK K., 2001- Biochemical andmolecular basis of pesticide degradation by microorganisms.Crit Rev Biotechnol, 19: 197–225.

[67] :Schmidt L, Lu, P., Jin, L., Liang, B., Zhang, J., Li, S., Feng, Z., and Huang, X. 2011-. Study ofbiochemical pathway and enzyme involved in metsulfuron-methyl degradation byAncylobactersp. XJ-412-1 isolatedfromsoil. Curr. Microbiol. 62, 1718–1725.

[68] : Griffiths et Merhi, M., 2002- Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorant. Université de Toulouse (France).P.4

[69] : Wertz S; Minghua X, Chunyan L, Junbo P, Xiaosong C and Chuanwu X. (2006). Isolation and characterization of Rhodococcussp.BX2 capable of degrading bensulfuron-methyl.African journal of microbiology research. 5(25):4296-4302.j

[70] : Juarez R, Nourouzi, M.M., Chauh, T.G.,Choong, T.S.Y. and Lim, C.J., 2013-. Glyphosate utilization as the source of carbon: isolation and identification of new bacteria. E-Journal of Chemistry8(4) : 1582-1587.

[71] :Lavelle A et Spain D, 2001 - Dictionnaire encyclopédique des pollutions. Ediscience international. Paris (France), 58-365

[72] : Calvet , Richard Y., GIROUX I., 2004 -Impact de l'agriculture sur les communautés benthiques et piscicoles du ruisseau Saint-Georges (Québec, Canada), Québec, Ministère de l'Environnement,Direction du suivi de l'état de l'environnement, ,28 p.

[73] : Balesdent , Pochon J. et Tradieux P., 2000 -Techniques d'analyses en microbiologie du sol .Edition de la tourelle, St Mandé.p.110-111.

[73] :Balesdent , Pipke, R., Amrhein, N., Jacob, G.S., Kishore, C.M. and Schaefer J., 2000-. Metabolism of glyphosate in aArthrobactersp.GLP-1. Eur J Biochem165: 267-273.

[74] :**Smucker F, Perry J. J., Staley J. T., Lory S., 1998-** Microbiologie.DUNOD (France), 848.

[75] :Chenu D , Palm H.L., Allison D. A. 2001-. Worldwide review of new cereal herbicide – DPX 4189.The BCPCConference – Weeds 1:1–6.

[76] :**Villemin R, Perrin .R, J.P. Scharff, 1995-** Chimie industrielle. 2ème édition, Paris. Chapitre 7 (p 873-897).

[77] :Chenu L et Plante F, 2006 - Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. Environ Res., 93, :264-271.

[78] :Chenu M et Merhi, M., 2008 -Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorant. Université de Toulouse (France).P.4

[79] : **Chenu et Stotzky, 2002-** Application et validation des échantillonneurs passifs de type POCIS pour l'échantillonnage passif des pesticides dans les eaux du bassin versant charentais. In: Thèse de Doctorat: Université de Poitiers.

[80] : **Dechesne , Lányi, K., Dinya, Z., 2007 -** Photodegradation study for assessing the environmental fate of some triazine-, urea-and thiolcarbamate-type herbicides.Microchemical journal 80 :79-87 .

[81] :Nunan , Klimek , M., Lejck , B ., Kafarski , P . andForlani , G ., 2001-. Metaboilism of the phosphonate herbicide glycophosate by a non-nitrateutilising strain of *penecillium chrysogenum*.PestMangSci 57:815-821.

[82] : **Vieublé Gonod , Joffin, N., 2003 -**Les techniques de laboratoires utilisées en mycologie,p. 1-20. http.

[83] : Hattori A, Joffin, J.N and Layeral,G., 2006 -Microbiologie technique. Tom 1. Dictionnaire des techniques. Bordeaux, France: Centre Régional De Documentation Pédagogique, 368.

[84] : **Nunan , Ji-ping M, Zhe W, Peng L, Hui-jie W, Shinawar W, Shun L and Xing H. 2002.-**Biodegrdation ofthe sulfonylurea herbicide chlorimuron-ethyl by the strain pseudomonassp.LW3.FEMSMicrobiol. 296:203-209.

[85] : **Nunan , Jean-baptistebraquenier., 2003-** Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés : Analyse comportementale de la souris CD1 –thèse présente pour l'obtention de grade de doctorat).

[86 :Raynaud et Nunan ., 2014 - Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. France.

[87] : **Ruamps , Jan kucharski ,jadwigawiszkowska., 2008-** Biological properties of soil contaminated with the herbicide Apyros 75 WG, chair of Microbiology University of Warmia and in Olsztyn. J. Elementol,(13)3: 357-371.

[88] : **Chenu et Stotzky, 2002 -**Sulfounylurea herbicide esterification esterase from HansschlegliaZhihuaiae S113.Appl. Environ. Microbiol.78,1962-1968.

[89] :Moyano , Gendron A., Branchaud A., 1997 - Impact potentiel de la contamination du milieu aquatique sur la reproduction du suceur cuivré (Moxostomahubbsi) : synthèse des connaissances,Ministère de l'Environnement et de la Faune, Service de l'aménagement et del'exploitationde la faune, Rapport technique, 16-02. Direction régionale de laMontérégie (France),.

[90] : Pinheiro E, GregorD.J., Gummer W.D., 1996-. Evidence of atmospheric transport and deposition oforganochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Canadian arctic snow.Environ.Sci.Tech., 23:561-565.

[91] : **Ruamps S, Gatignol C., Étienne J.-C., 2010 -** Pesticide et santé. Paris, Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques.

[92] :**Harris R, Gans J., Wolinsky M., Dunbar J., 2005-.**Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. Science, 309 :1387-90.

[93] :Otten , Flogeac K., 1999- Etude de la capacité de rétention de produits phytosanitaire par deux solides modèles des sols. Influence de la présence des cations métalliques. Thèse doctorat (université de Reims Champagne-Ardenne). Chapitre 1 (p10-20).

[94] : **Monga F. Fdil, 2008-** Etude de la dégradation des herbicides chlorophénoxyalcanoïques par desprocédés photochimique et électrochimique. Applications environnementales. Thèse (Docteur de l'Université de Marne-La-Vallée). Chapitre 1 (p 8-25).

[95] : **Pajor M, Edelahi D. M.C, 2004-** Contribution à l'étude de dégradation un situ des pesticides parprocédés d'oxydation avancés faisant intervenir le fer. Application aux herbicides phénylurées. Thèse (docteur de l'Université de Marne la Vallée). Chapitre 1 (p22-25).

[96] :Vogel F ,2008- California department of pesticide regulation, (.Active IngredientSulfosulfuron. Public report. California. P. 8.

[97] : **Monga N, Dorval, J, Leblond V., Deblois C., Hontela A., 2008**-"Oxidative stress and endocrine endpoints in white sucker (Catostomuscommersoni) from a river impacted by agriculturalchemicals", EnvironmentalToxicology and Chemistry, vol. 24, no. 5: 1273-1280.

[98] : Vogel L, Downing A.L., DeVannaK.M., Rubeck-SchurtzC.N., Tuhela L., Grunkemeyer H., 2015- Community and ecosystem responses to a pulsed pesticide disturbance in fresh water ecosystems.Ecotoxicology, 17:539-548.

[99] : Angers R, Dick,R.e. and Quin, J.P., 2008- Glycophosate-degrading isolates from environmental sample: occurrence and pathway of degradation. ApplMicrobiolBiotechnol43 : 545-550.

[100] :Virto L, Devez, 2008- Caractérisation des risques induits par les activités agricoles sur les écosystèmes aquatiques. Thèse (docteur de L'ENGREF, Centre de Montpellier). Chapitre 1 (p 2-4).

[101] : **Balesdent R, Desbordes. A, 2000-** La pollution des eaux souterraines en Picardie. Mémoire. Maîtrise B6, Faculté des Sciences, Amiens, 50 p A.

[102] :Six , Day, K.E., Maguire, R.J., 2000- Acute toxicity of isomers of the pyrethroid insecticide deltamethrin and its major degradation products to Daphnia magna.Environmental toxicology and chemistry 9, 1297-1300.

[103] : Coppens S Brown H. M., 1990- Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. Pestic. Sci. 29: 263-281.

[104] : Iqbal M, Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit C., Charnay M.-P. et Coquet Y., 2015- Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Éditions FranceAgricole, 637 p.

[105] : Calvet et Charny, 2002 - Le devenir dans le sol des substances phytopharmaceutiques. In : Pesticide et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris : ACTA,p. 805-833.

[106] : Ecrin, 2002 –Assessment of the impact of agriculture practices on the quality of the ground waterresources in South Africa. Water research commission, Pretoria, South Africa. Report 641/1/99.86.

[107] : Zamy L et Davet P, 1996 - Le milieu « sol ». Dans Vie microbienne du sol et production végétale. INRA, Paris, 21-87.

[108] : **Day G, Coulibaly .H, 1990 -** Le SCV (Semis direct sous Couverture Végétale), un élément stratégique de gestion durable des terres agricoles : une expérience française comme base de réflexion pour le Mali. Mémoire (DEPA. France). Chapitre 2 (p13-20).

[109] : **Lanyi S et Dinya n, 2005 -** Les herbicides et le sol. ACTA,143 p

[110] : **Sinclair Ret Boxall F, 2003 -** Approche spatiales de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires cas de l'atrazine dans le bassin versant du sousson (GERS, France). Thèse (docteur de l'ENGREF. Montpellier). Chapitre 1(p 6-10)

[111] : **Hamouni F, Chassin P., Baize D., Cambier Ph. et Sterckeman T., 1996-** Les éléments traces métalliques et la qualité des sols : impact à moyen et à long terme. Forum « le sol un patrimoine menacé ?». Paris (France), 297-303.

[112] : Marsh C, Chafik N , 2002- contribution à l'étude du comportement de l'herbicide triflusulfuronmethyle dans les milieux aquatiques : Etude de la photo dégradation en milieux aqueux Préparation et étude de nouvelles formulations à libération contrôlée. Université Hassan II Maroc Ainchock, Thèse de doctorat,. Chapitre 2 , p 10-31.

[113] : Joffin et Leyral, 2001 - Biodégradation des herbicides en sols tempérés – Contrôle des communautés bactériennes dégradantes par la bioturbation du sol thèse présentée devant

l'université de rennes 1 pour obtenir le grade de docteur de l'université de rennes 1 Chabasse, D., Bouchara, J.P., Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., Penn, P. (2002). Les moisissures d'intérêtmédical. (edn) Bioforma. Paris. p.160.

[114] : **Bousseboua L, 2002 -** Le Sol. Propriétés et fonctions. Phénomènes physiques et chimiques. Applications agronomiques et environnementales. Tome 2. Ed France Agricole - Dunod, 381-391.

[115] : **Marsh F, Calvet R., 2003-** Le Sol. Propriétés et fonctions. Constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Tome 1. Ed France Agricole - Dunod, 82 - 93.

[116] : **Hanshew D, Bujacz,B.,Wieczorek,P., Krzysoko-Lupicka,T., Golab,Z., Lejczak, b. and Kavafarski, P., 2015-** organophosphonate utilization by the wild-type strain of *Peniciluim natatum*. ApplEnvironMicrobiol61:2905-2910.

[117] : Marchal L, et Bourdon S, 1973 - Introduction générale. Dans : Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion (rapport n= 42). Ed Technique & Documentation lavoisier Pari, XXXVII.

[118] : Sierra H., 2002- Techniques d'étude des bactéries. Dans Microbiologie générale.Ed de l'université Mentouri, Constantine (Algérie), 145-157.

[119] : **Edi-Prémono , 1996-** « L'intoxication par les pesticides chez l'enfant au Maroc : profil épidémiologique et aspects pronostiques (1990-2008) », SantéPublique. 23 :195-205.

[120] : Coli, Beyer E.C., Goodenough D. A., Paul D. L., 1988- The connexins : a family of related gap junction proteins .In : Gap junctions, ed., E. L.Hertzberg and R. G. Johnson, New York : Alan R. Liss,167-175.

[121]Ying F, Bliefert, C., Perraud, R., 2001- Chimie de l'environnement: air, eau, sols, déchets. De Boeck Université.

[122] :Minghua G, Bourdon,J.-L.etMarchal,N., 2011- Les milieux de cultures pour l'isolement etl'identification biochimique des bactéries. Edition Doin, Paris.

[123] :ji-ping , 2009 -Chimie de l'environnement: air, eau, sols, déchets. De Boeck Université.

[124] :**Chet , Blair M., Martin T. D., A., 1991-.**Review of the Activity, Fate and Mode of Action of Sulfonylurea Herbicides.Pestic. Sci. 22: 195-219.

[125] : Campbell , BérubéV.E., BoilyM.H., Deblois C., Dassylva N., Spear P.A., 2005- "Plasma retinoid profile in bullfrogs, Ranacatesbeiana, in relation to agricultural intensity of sub-watersheds inthe Yamaska River drainage basin, Québec, Canada", Aquatic Toxicology, 71:109-120.

[126] :Campbell et Ephgrave , 1983- Barriuso Les pesticides et les polluants organiques des sols. Forum « le sol, un patrimoine menacé? » numéro spécial: 279-295.

[127] :**Mavingui P, 1992** -AubertotJ.N., J.M. Barbier, A. Carpentier, J.J. Gril, L. Guichard, P. Lucas, S. Savary, I.

[128] : O'Brien F et Colwell H, 1987 -Agence régionale pour l'environnement et le dévloppement soutenable en Bourgogne. Pesticides au quotidien Rapport technique .

[129] : Singh S, Atlas R. M. &Bartha R., 1992 -Microbial ecology.Fundamentals and applications.3rdedition.The Benjamin/Cummings Publishing Company.San Francisco, California (USA), 563.

[130] : **Beneduzi D, Amatrop. C. G., 2000-.** Les herbicides. Agro écologie.cirad .fr/2007/docs 1015714804. P.1.

[131] : **Hagedorn C, 1976-**Influences of soil activity on Streptomyces population inhabiting forest soils. Appl Environ Microbiol 32: 868- 375.

[132] : Cho. S. H., C. W. Hwang, H. K. Chuang et C. S. Yang. 1994- A new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. J. Appl. Microbiol. Biotech. **22**: 561- 563.

[133] : Hagedorn C, 1976-Influences of soil activity on Streptomyces population inhabiting forest soils. Appl Environ Microbiol 32: 868- 375

[134] : Küster E.et S. T. Williams. 1964- Selection of media for isolation of streptomycetes. Nature, London. 202: 928.

[135] : Jignasha, T. T.et S. P. Singh. 2007-Secretion of an alkaline protease from a salttolerant and alkaliphilic, Streptomyces clavuligerus strain Mit-1. Braz. J. Microbiol., **38**: 766-772.

[136] : Bignell DE , 2000- Introduction to symbiosis In: Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology (Eds: Abe T, Bignell D, Higashi M). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 189-208.

.

Annexe I :

Les milieux de culture, la solution tampon et les réactifs utilisés :

1. Les milieux de culture

1. **solution tampon :** comprend différents sels minéraux qui évitent la détérioration des bactéries par choc osmotique :

K_2HPO_4…….0,7g ,

MgSO4…….. ……... 0,5 g

KH2PO4……....0.3g

FeSO4……...0.02g

ZnSO4…….0.001g

tween 80……0.05%

Eau distillée……...qsp 1 L

2. milieu Chitine :

Chitine……..…5.33g

K_2 HPO_4……..0.76g

KH_2 PO_4……...0.36g

$MgSO_4$…….0.24g

$FeSO_4$……..0.01g

$ZnSO_4$…….0.001g

, pH= 8,5 NaOH,

Eau distillée……..qsp 1L.

3. Milieu YMEA:

Yeast extract…….…..4g

Malt extract……..…10g

Dextrose……..…10g

Eau distillée……qsp 1 L

4. milieu Tween 80 :

$NaNO_3$……. ……1 g

Extrait de levure……..5 g

Solution saline…….. 50 ml

$CaCl_2$,$2H_2O$…… ……..0,1 g

Tween 80……..10 mL

Eau distillée……..…q.s.p. 1L

Agar…….... 18 g.

pH = 7,2.

5- Solution saline:

K_2 HPO_4……0,25 g;

$MgSO_4$ $7H_2O$……...…0,125 g;

NaCl……...150 g;

$FeSO_4$, $7H_2O$……..... 0,001 g;

$MnSO_4$……..0,001 g;

Eau distillée ……..…..qsp. 50 mL.

6. Solution de conservation :

$CaCl_2$……..…….11.1g

Glycérol……..150ml

Eau distillée …….850mL

7. Milieu d'amidon :

Amidon …….. .10g

Gélose nutritive …… 100mL

NaCl…….150g.

Annexe II :

Table statistique de t

La table donne la probabilité **P** pour que **t** égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté (**d.d.l**.).

P / ddl	0.90	0.50	0.30	0.20	0.10	*0.05* ↓	0.02	0.01	0.001
1	0.158	1.000	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	636.619
2 →	0.142	0.816	1.386	1.886	2.920	**4.303**	6.965	9.925	31.598
3	0.137	0.765	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	12.924
4	0.134	0.741	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	8.610
5	0.132	0.727	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	6.869
6	0.131	0.718	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.959
7	0.130	0.711	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	5.408
8	0.130	0.706	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	5.041
9	0.129	0.703	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.781
10	0.129	0.700	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.587
11	0.129	0.697	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.437
12	0.128	0.695	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	4.318
13	0.128	0.694	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	4.221
14	0.128	0.692	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	4.140
15	0.128	0.691	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	4.073
16	0.128	0.690	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	4.015
17	0.128	0.689	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.965
18	0.127	0.688	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.922
19	0.127	0.688	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.883
20	0.127	0.687	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.850
21	0.127	0.686	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.836	3.819
22	0.127	0.686	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.792
23	0.127	0.685	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.767

24	0.127	0.685	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.745
25	0.127	0.684	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.725
26	0.127	0.684	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.707
27	0.127	0.684	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.690
28	0.127	0.683	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.674
29	0.127	0.683	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.659
30	0.127	0.683	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.646
∞	0.126	0.674	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.291

Exemple : avec **d.d.l.** =2, pour **t**=4,303 la probabilité est **P**=0.05.

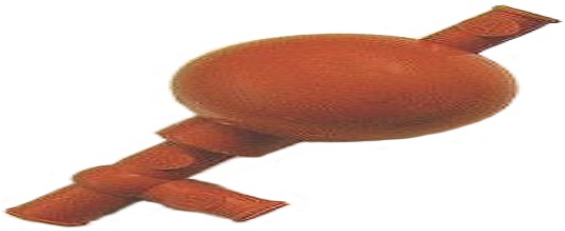
Annexe III

1-Liste du matériel utilisé durant les étapes du traitement:

Instruments	Utilisation	Type d'appareillage
1- Bec bensène	Pour assurer une stérilisation instantanée.	
2- Bain marie	pour la transfusion des milieux de culture	
3-Autoclave	stérilisation á la vapeur	
4-Réfrigérateur	conservation des souches et des réactifs	
5-Microscope optique	Microscope optique	

2-Verrerie :

1-Pipettes Pasteur et en plastique	-pour l'inoculation et l'ensemencement -coloration de Gram	
2-Micropipette	pour une prise très précise	
3-Becher á différents volumes	Contenir les solutions, les suspensions	
4-Verre á pied (200cc, 60cc)	Utilisation pendant la filtration	
5-Lames et lamelles	Faciliter l'observation microscopique	
6-Tubes à essai	Préparation des dillutions des suspensions bactériennes	
7-Boites de Pétri	Mise en culture dans des milieux nutritifs	

8-Anse de platine	Ensemencement des colonie bactériennes	
9-Portoirs	Porte les tubes à essai	
10-Poires	Aspirer les solutions	

V. Conclusion et perspectives :

Les matières organiques sur les surfaces agricoles ou plus généralement sur tout type de sol, sont plus ou mois rapidement dégradés. La dégradation biologique, catalysée par les micro-organismes telluriques ou de la faune terrestre, représente un thème très sollicité par les chercheurs, en raison de son avantage économique important par rapport aux procédés physico-chimiques classiques, souvent plus complexe dans leur réalisation et souvent onéreux.

•Ce travail avait pour objectif l'utilisation agro-écologique de deux micro-organismes isolées à partir de la cuticule des fourmis. L'application d'inoculum doit participer à une amélioration des pratiques agronomiques : augmentation en qualité et en quantité (rapport C/N) de la production (complexe argilo-humique CAH) , diminution des coûts et des risques de pollution.

• En termes de rentabilité de la culture, les facteurs limitant économiques sont surtout l'appauvrissement des sols en MO, des traitements phytosanitaires et des engrais azotés.

• Notre travail est basé sur trois objectifs principaux, **le premier** est un isolement des micro-organismes capables d'utiliser la matière organique source de carbone et d'énergie. L**e second objectif** est la caractérisation morphologique et biochimique de ces isolats. L**e troisième objectif** est l'étude de la cinétique de biodégradation des molécules organiques. .

•L'agriculture intensive, qui s'est développée ces dernières décennies, a entraîné des problèmes d'environnement :

a) l'appauvrissement des sols et la pollution des nappes phréatiques par les nitrates lessivés est devenue une préoccupation pour les pouvoirs publics ;

b) l'introduction de molécules toxiques rémanentes dans les sols, comme celles contenues dans les herbicides et les engrais est également un facteur de pollution important ;

c)l'érosion de certains sols peu structurés, est devenue très critique et contribue à un appauvrissement parfois irréversible de ces sols.

Les résultats que nous avons obtenus avec les deux isolats suggèrent que la réponse des différents tests biochimiques la matière organique à l'inoculation de la souche S1 ne sera pas la même que la réponse à l'inoculation avec la souche S2,

Nos résultats ont révélé une différence significative des paramètres étudiés chez les deux souches testées pour la biodégradation de la chitine et Tween 80.

Les résultats les plus significatifs ont été obtenus par la souche S2 avec la chitine et Tween 80. Les réponses de la souche S1 a été significatif sur la chitine qui traduit l'activité enzymatique « chitinase » de ces souches pour la biodégradation de la chitine.

A court terme, les perspectives de ce travail seraient :

1) Confirmer l'identification de ces souches par des analyses phylogénétiques.

2) Caractérisation *in vitro* des molécules impliquées dans la décomposition d'autres molécules organiques comme : la cellulose, l'hémicellulose, la pectine, les phénols et les pesticides industriels.

3) Caractérisation *in vivo* de l'activité enzymatique des deux isolats sur terrain (utilisation de souches actives en biotechnologie).

4) Production d'un inoculum de ces deux isolats. L'obtention d'un inoculum doit répondre à plusieurs exigences : contenir un grand nombre de germes viables, assurer la survie de ces micro-organismes pendant un temps assez long, être utilisable au champ et dans différents types des sols.

5) La première exigence des expériences au champ est leur bonne rentabilité. Des essais d'inoculation répétés et élargis à divers régions permettraient de connaître le potentiel que représentent ces deux souches dans des situations variées, en particulier dans les régions de culture ouvertes aux progrès techniques comme les zones sahariennes. .

6) Quelle sera la conséquence de l'introduction ces isolats sur la diversité structurale et fonctionnelle des communautés microbiennes indigènes ? Il s'agit de comparer, à l'aide d'outils moléculaires, la diversité des communautés indigènes avant et après inoculation par les deux isolats et de cerner l'effet de

cette inoculation sur l'expression de fonctions microbiennes impliquées dans les cycles de la matière organique et minérale.