Université Moulay Ismaïl
Faculté des Sciences et Techniques
Département de Géosciences

****

Filière Biologie Végétale Appliquée
Semestre S5
Module B-511

Microbiologie du Sol

Année universitaire 2020-2021

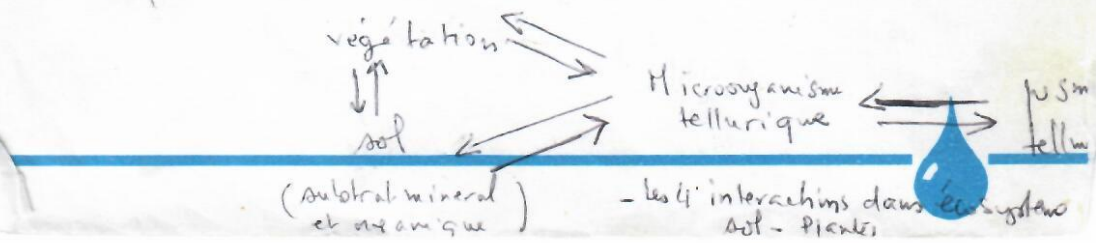
Pr. D. SAKILI

Microbiologie du sol

- Introduction -

- Dans un écosystème donné, les communautés d'êtres vivants ne sont pas seulement soumises aux facteurs de l'environnement, mais aussi modifient les caractéristiques de cet environnement. Ainsi si la composition et l'activité des communautés d'organismes qui vivent dans le sol dépendent des propriétés particulières du sol, inversement ces organismes exercent un contrôle étroit sur la nature et la forme des composés organiques du sol ainsi que sur certaines propriétés physiques essentielles (structure et texture par exemple). Il en résulte que l'étude physique et chimique des sols est indispensable à l'étude des organismes qui y vivent, qu'il s'agisse des plantes supérieures de la microfaune ou des organismes telluriques (microfaune ou microflore).

- On peut donc définir la biologie des sols comme la science des interactions dans le sens écosystème sol-plante, entre les psmes et le sol, des interactions entre les psme et la végétation et des interactions entre les psms eux-mêmes.



Pour mener à bien ses recherches, le biologiste du sol doit faire appel à plusieurs disciplines : bactériologie, mycologie, zoologie, physiophysiologie, physiopathologie et, bien entendu, pédologie et écologie. La biochimie constitue pour lui l'outil essentiel nécessaire à la mise en évidence des réactions innombrables impliquées dans les types d'interactions que nous venons d'énoncer.

chapitre I

les organismes telluriques.

I- la microflore tellurique.

- microflore vivant dans le sol composée d'espèces suivants : bactéries, actinomycètes, champignons, algues, protozoaires.
- les virus ne sont pas pris comme telluriques sensu stricto; mais font partie du sol, ideipt que nous evoquerons à la fin de ce paragraphe.

1- Bacteries

- les plus nbx des pris du sol et les plus petits
  Ø : 0,5 à 1 µm, Long = 2 µm
- les formes telluriques possèdent nette tendance aux ramifications
- sont capables de participer à des Réact° chimiques très importantes

A- classification des bacteries tellurique

Il existe dans le sol des centaines d'esp. bact°; leur classification se fait par type bacteries présentant des caractères ou des ppts identiques.

- groupes morphologiques.
  - les petits cocci d'environ 0,5 µm de Ø;
  - les bâtonnets de 0,5 µm Ø et 1-3 µm de long;
  - les " courts incurvés (vibrions);
  - les " longs;
  - les " présentant parfois des ramifications;
  - les " fins flexibles de moins de 0,5 µm Ø
  - on note également la pce de spore qui est caractéristique des genres Bacillus et clostridium

- gpes physiques
  - le gpe des fixateurs d'azote en aérobiose ; ensemble de bact qui se développent sur des milieux de culture dépourvus d'azote combiné.
  - le gpe des ammonifiateurs : Ensemble de bact. capables de dégrader jusqu'au stade ammoniacal un milieu à base d'azote org. (milieu peptoné ou à l'asparagine)
  - le gpe des cellulolytiques aérobies : Ens de bactéries capable de dégrader un milieu ou le cellulose et ~~formé~~ ssp de cellulose

D'après Clark (1967), les bactéries les plus répandus dans le sol sont les (~~Cytophagacées~~) bactéries de la famille des Cytophagacées qui représentent jusqu'à 65% de la microflore totale ; les bacilles sporulés représentent en gros 25%. Dans les 10% restants se placent les genres suivants : Agrobacterium, Azotobacter, Nitrosomonas, Nitrobacter, Rhizobium, Pseudomonas et Achromobacter.

B - Densité, biomasse et distribution.

- la densité de la microflore bactérienne totale, exprimée en nbre de G par g de sol est en général comprise entre 10^6 et 10^9. Dans des cas exceptionnels favorables (sol forestier à humus de qualité) la densité bact. peut atteindre 10^{11} bac/g de sol.

- Il est en fait plus intéressant de connaître la biomasse (masse des êtres vivants / unité de surface) que la densité ; car cette caractéristique donne une meilleure idée du protoplasme vivant dans le sol.

biomasse bactérienne = 1000 - 2000 kg/ha sol, peu peuplés
3000 - 7500 kg/ha sols riches

Dans la plupart des sols : biomasse bactérienne < biomasse fongique
> Ebiomasse (algues, protozoaires, nématodes)

- la distribution verticale des bactéries reflète fidèlement la distribution de la matière organique dans un profil topographique ce qui se conçoit facilement puisque les bact du sol sont des hétérotrophes tirant leur énergie de la matière organique. A la surface des racines les densités bact^{ies} sont très élevées que dans le sol loin des racines.

2 - Actinomycètes

bactéries dont la structure mycélienne ressemble à celle des champignons, mais qui en diffèrent profondément.

- Appareil nucléaire primitif → nucléoïde.
- Paroi cellulaire : - polymère de sucre
  - amino sucre
  - aa. aminé
) Paroi bact gram+

- Paroi cellulaire champignon : revêtement cellulosique ou chitineux.

- la plupart des actinomycètes sont des organismes telluriques : 2 genres seulement se trouvent dans le sol :
  - genre Streptomyces : 70 - 90% de la flore actinomycétale tellurique
  - genre Nocardia.

- Bien qu'environ 10 fois moins nombreux que les bactéries proprement dites, les actinomycètes jouent un rôle très important dans

la dégradation de substances organiques difficilement dégradables par d'autres organismes (bactéries, champignons) et la synthèse des substances biologiques (vitamines ou antibiotiques). ce dernier caractère conférerait aux actinomycètes le pouvoir de limiter l'expansion des espèces sensibles aux antibiotiques.

3- Champignons

Les microchampignons telluriques les plus souvent mis en évidence sont : Absidia, Aspergillus, Cephalosporium, cladosporium, Fusarium, Mucor, Penicillium, Rhizopus, Trichoderma, Verticillium .... .

les genres les plus fréquents étant les suivants : Penicillium Fusarium, Mucor, Aspergillus.

- la biomasse des microchampignons est exprimée entre 100 - 1000 kg/ha.
- la distribution dans le sol des champignons est, comme celle des bactéries, liée à la présence de substrats convenables, constitués généralement par les débris des végétaux.

Ces champignons se développent sur des substrats d'animaux morts ou vivants : ceux de champignons prédateurs qui attaquent les nématodes; d'autres champignons se développent sur des débris fongiques morts ou vivants (mycoparasites).

4. les Algues.

A l'exception des sols inondés (en rizière), on connaît encore imparfaitement les espèces d'algues vivant dans les sols exondés. Il semble que la plupart des algues monocellulaires vertes ou bleues, d'eau douce et certaines espèces particulières de diatomées puissent s'y développer lorsqu'elles sont suffisamment humides.

• Biomasse algues des sols exondés → négligeable 99 kg / ha.

5 - Protozoaires.

sont des Protistes envoyés au même titre que les algues et les champignons avec lesquels ils présentent des affinités certaines. la plupart des protozoaires sont mésophiles, mais même diurnes - eux se développent parfaitement dans le sol où ils constituent des échos de la microfaune normale.

Dans le sol, on trouve des représentants des 3 classes suivantes :

- classe des Rhizopodes (Amibes et Testacés)
- classe des flagellés
- classe des ciliés
- la classe des sporozoaires, n'existent pas dans le sol, étant donné qu'ils sont exclusivement parasites.

→ La distribution des protozoaires dans le sol suit grosso modo celle des bactéries, puisque ces derniers constituent l'aliment de choix pour de nombreuses espèces de protozoaires, la densité est comprise $10^3 - 10^5$ unités / g de sol. les flagellés et les amibes sont mieux représentés que les ciliés et les testacés. la biomasse correspondante est de l'ordre de 5 à 10 kg / ha ce qui est peu / à la biomasse des bactéries et des champignons.

6 - les virus.

- ne peuvent être considérés comme des habitants normaux du sol puisque ce sont des parasites intracellulaires stricts, ceux d'entre eux intervenant cependant dans la biologie du sol sont d'une part les bactériophages et cyanophages (actinophages) / virus parasitant les bactéries et les actinomycètes et les cyanophycées, donc intervenant

dans l'équilibre biologique des sols et d'autre part la vie des végétaux et animaux auxquels le sol peut offrir des voies de conservation favorables.

suite

← Introduction

Chap II Influence de l'environnement édaphique sur microflore tellurique et son activité

Dans ce chapitre, nous examinerons le comportement et les réactions de la microflore tellurique vis à vis de l'ensemble des facteurs énergétiques, physiques, chimiques et biologiques qui règnent dans le sol, connus sous le terme global d'environnement édaphique.

I - les facteurs énergétiques.

1 - la lumière et les produits de la photosynthèse (substrats énergétique d'origine organique)

L'écosystème sol - végétation (fig. 2) capte l'énergie solaire par l'intermédiaire des organismes photosynthétiques essentiellement plantes vertes, accessoirement algues et autres organismes photosynthétiques (ex : bactéries photosynthétiques).

Ces êtres organismes que les écologistes désignent sous le nom de producteurs, transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique potentielle en synthétisant à partir des éléments minéraux présents dans le milieu, des composés organiques : hydrate de carbone (amidon, cellulose, lignine) protides, lipides.

Ces composés organiques (produits de la photosynthèse) sont utilisés comme source d'énergie soit - directement par

Les consommateurs primaires (herbivores et parasites ou symbiotes des plantes) ou indirectement par les organismes consommateurs secondaires et tertiaires (carnivores ou prédateurs et parasites des animaux), soit - directement ~~ou~~ indirectement par les organismes décomposeurs (saprophytes) qui vivent au dépens des débris végétaux (litière racinaire, exsudats racinaires) ou animaux, débris connus sous le nom de matière organique fraîche. Les décomposeurs dégradent la mat. org. fraîche sous forme de composés minéraux dont une partie est assimilée par les plantes et les mycorhizes, ou bien sous forme organique dont une partie se condense pour donner naissance à la matière organique humifiée appelée généralement humus. La mat. org humifiée, tout comme la matière organique fraîche, sert de substrats énergétiques aux microorganismes, mais elle est résistante à la biodégradation ce qui fait d'elle dans le sol, une forme de réserve d'énergie inutilisée captée autrefois par les organismes photosynthétiques de l'écosystème.

2- Substrats énergétiques minéraux.

En dehors des microorganismes hétérotrophes qui utilisent l'énergie ~~hétérotrophes~~ (algues et bac. photosynthétisants) et ceux, les nombreux, qui utilisent les composés organiques (hétérotrophes ou chimioorganotrophes), il existe un nombre restreint d'espèces se procurant l'énergie dont elles ont besoins des réactions d'oxydations de substrats minéraux : ce sont les microorganis

Chimiolithotrophes : bactéries nitrifiantes (utilisant les composés azotés réduits), bactéries sulfooxydantes (utilisant les composés soufrés réduits); Ferrobactéries (utilisant le fer ferreux), les bactéries hydrogéno-oxydantes (utilisant l'hydrogène gazeux). La plupart de ces microorganismes sont des autotrophes : ils sont capable d'utiliser le carbone du gaz carbonique (CO_2) ou des carbonates comme seule source de carbone.

3- la température.

- exerce une influence primordiale sur le comportement de tous les organismes vivants : elle agit sur la composition et l'activité de la microflore.

Schématiquement on peut distinguer

- les organismes mésophile T° optimale 25-40°C
- " psychrophile T° optimale ≈ 10°C.
- " thermophile T° optimale 45-65°C

- Les effets de comportement vis à vis de la T°, sont à l'origine de perturbations curieuses de l'équilibre biologique du sol conduisant à l'accumulation ou la disparition de cets produits de métabolisme dans le sol.

exple : Aux faibles T° de l'ordre de 5°C, se manifeste une nette tendance à l'accumulation d'azote ammoniacal, car la flore ammonifiante est encore active à cette T° alors

Chimiolithotrophes : bactéries nitrifiantes (utilisant les composés azotés réduits), bactéries sulfooxydantes (utilisant les composés soufrés réduits); Ferrobactéries (utilisant le fer ferreux), les bactéries hydrogéno-oxydantes (utilisant l'hydrogène gazeux). La plupart de ces microorganismes sont des autotrophes : ils sont capable d'utiliser le carbone du gaz carbonique (CO_2) ou des carbonates comme seule source de carbone.

3- la température.

- exerce une influence primordiale sur le comportement de tous les organismes vivants : elle agit sur la composition et l'activité de la microflore.

Schématiquement on peut distinguer

- les organismes mésophile T° optimale 25-40°C
- " psychrophile T° optimale ≈ 10°C.
- " thermophile T° optimale 45-65°C

- Les effets de comportement vis à vis de la T°, sont à l'origine de perturbations curieuses de l'équilibre biologique du sol conduisant à l'accumulation ou la disparition de cets produits de métabolisme dans le sol.

exple : Aux faibles T° de l'ordre de 5°C, se manifeste une nette tendance à l'accumulation d'azote ammoniacal, car la flore ammonifiante est encore active à cette T° alors

1- oxygène et gaz carbonique.

La solution du sol est caractérisée par une concentration en oxygène beaucoup plus faible et une concentration en CO_2 beaucoup plus élevée que l'atmosphère du sol avec laquelle elle est en contact.

A- Influence de $l'O_2$:

les germes peuvent se classer en 4 groupes suivant leur comportement vis-à-vis de l'oxygène.

- groupes 1° aérobies obligatoires : O_2 indispensable pour développement et survie
2/ aérobies facultatifs :
3/ anaérobies obligatoires : O_2 inhibe leur cr, leur enzyme ne sont actifs à l'état réduit par échange actif
4/ microaérophiles : cr favorisée par de faible $[O_2]$

- la diminution de la concentration en O_2 de l'atm. sol est propice aux germes des gpe 3 et 4 et stimule le dppt des processus d'anaérobie.

- Dans les sols bien aérés (non excessivement humides), la teneur en O_2, bien qu'inf à celle de l'atmosphère libre, est suffisante pour permettre le dppt des processus aérobies tels que la nitrification.

- lorsque la teneur en O_2 baisse au dessous de 1% en volume, la dénitrification commence à apparaître, ce processus atteint une grande ampleur lorsque la teneur en O_2 est de l'ordre de 0%. Parallèlement on observe la réduction biologique des Fer ~~ill~~ Il faut atteindre que l'oxygène soit complètement disparu du milieu pour que la sulfato-réduction commence à se manifester.

B/ Influence du gaz carbonique.

- la teneur en gaz carbonique de l'atmosphère du sol varie de 0,3 à 5,0 % ; elles sont 10 à 150 fois plus élevés que la teneur de l'atmosphère libre (0,03%).

- ces pgmes sont favorisés par des teneurs élevés ou tout au moins y sont insensibles : sondes de Fusarium ; chpgns adapté aux horizons profonds où certains formes sont de redoutables pathogènes.

- D'autres pgmes sont inhibés par le CO_2 : Sclerotinia minor chpgn parasite attaquant le pied, au niveau du lieu collet c'est à dire une région du sol parfaitement aérée où le CO_2 est faible.

2- Les éléments majeurs : azote (N), phosphore (P), potassium (K) calcium (Ca) et soufre (S).

- la teneur des cs ≠ 5 elt joue un rôle ds la répartition et l'activité des microorganismes. Mais dans la plupart des sols, ce rôle est réduit en raison de l'aptitude de pgmes à extraire du sol les elements qui leur sont nécessaires.

- cette aptitude est beaucoup + élevée chez les pgmes que chez les plantes. de sorte qu'ils exercent une concurrence très active vis-à-vis de ces dernières surtout si l'element considéré est faible dans le sol, ou si la microflore tellurique s'est multipliée activement à la suite d'un ~~apport~~ de l'apport d'un substrat énergétique abondant.

Ainsi à la suite de l'enfouissement de paille (substrat énergétique de choix pour les bact.) dans un sol pauvre en azote minéral ou minéralisable, les pgm utilisent entièrement à leur profit cet élément ~~ce qui~~ bien que les plantes souffrent d'une carence ~~en cet élément~~ azotée caractéristique : on dit qu'il y a immobilisation (ou réorganisation) de l'azote minéral du sol.

La composition minérale du sol exerce cpdt une action marquée sur pgms lorsque le sol est fortement carencé ou, au contraire, trop riche en un élément donné : ainsi les sols très pauvres en phosphore sont dépourvus d'Azotobacter.

3_ Salure et éléments toxiques : Aluminium (Al) et Manganèse (Mn)

Les sols salés (sols halomorphes) qui sont caractérisés par des teneurs élevées en Ca^{2+}, Na^{+}, Na^{+}, Cl^{-}, SO_4^{2-}, sont des milieux défavorables pour le pgms en raison de la ~~tension~~ pression osmotique élevée du sol, de la pt d'ions toxiques, du pH excessivement basique, de la st asphyxiante.

• De tous les processus biologiques la nitrification est généralement le plus sensible à l'influence toxique de la salure. D'autres processus, au contraire sont, au contraire favorisés : c'est en particulier le cas de la

sulfato-réduction en raison de 2 cas particulièrement favorables : anaérobioses (état asphyxiant) et grande abondance des ions SO_4^{2-} ; la tolérance de ces germes à la salure est parfois considérable ; ainsi Brevibacterium halotolerans supporte une concentration de 15% de chlorure de sodium (Wacl), soit cinq fois plus que la concentration de ce sel dans l'eau de mer.

La toxicité aluminique (Al^{3+}) apparaît lorsque la teneur en Al^{3+} échangeable est très élevée : certains micro-organismes y sont très sensibles (Azotobacter) ; mais la plupart y résistent parfaitement.

La toxicité manganique qui résulte d'une teneur excessive des ions Mn^{2+} est gênante pour les cultures de légumineuses car elle nuit aux Rhizobium.

4- Réaction du sol.

Le comportement en culture pure des germes vis-à-vis du pH est très variable : ceux sont indifférents : c'est le cas des chimiques. D'autres sont acidophiles (Azotobacter, nitrobacter etc...). D'autres enfin sont acidophiles. (Thiobacillus thiooxidans).

Le comportement dans le sol des mêmes germes est souvent très différent pour plusieurs

raisons ; ~~[illegible]~~ autres distributions hétérogènes des ~~[illegible]~~ Ht ~~[illegible]~~ et interférences ~~de plusieurs~~ de divers facteurs sur le pdt en particuliers les facteurs biologiques :

- $\rightarrow H^+ \rightarrow$ pH_s (sol) — pH_6 : microflore neutrophile)
  (microparasite) P_4 : ~~[illegible]~~ tr. acidophile
- fact. biologique : champignons — très tolérants au pH – Cultures ~~[illegible]~~ – acidophile – du sol

apparente : Pas d'attaque par bactéries ~~[illegible]~~ minéraux (matrogille dans le sol acide.

III – Le Facteur eau

- H_2O libre indisponible + transport
- H_2O liée à l'altération → chaînes
- Hydrate C
- ac. am
- microbes

Forces de rétention
- forces matricielles (attraction H_2O sur particule + capillarité)
- forces osmotiques : pression subie diminue H_2O

= Potentiel hydrique (tension ou succion)

- terme adopté = Tension ≈ hauteur ~~[illegible]~~ la colonne d'eau dont – bars la pression équilibre ces forces.
- Comme la tension croît rapidement lorsque le sol se dessèche la ~~tension exprimée en cm~~ et ces pF élevés dans les sols secs ; on utilise souvent son log décimal que l'on désigne par le symbole pF.

$$pF = \log T_{cm}$$

- la plupart des plts utilisent l'eau du sol dont que celle-ci (tension) ne dépasse pas retenue avec une tension sup. à 15 bars ($pF = 4,2$)
- cette tension correspond à des teneurs en eau très variés suivant les sols : sol sableux 3 à 5 %
  : sol argileux ~~[illegible]~~ riche en mat. organique 10 %
- Tension maximale limite de l'activité plasmique ≈ 4000 bars ($pF = 5,6$)
- capacité au champ (capacité de rétention) = on entend l'humidité d'un sol préalablement saturé, ayant subi un ressuyage de 2 à 3 jours ($pF = 1,8$)
  T = 0,01 bar

1 - Comportement de la microflore tellurique en fonction de l'humidité.

11 - Aux fortes humidités, le sol est submergé d'eau, ses ppts physiques, chimiques et biologiques sont profondément perturbées : on dit qu'il acquiert un caractère hydromorphe. L'activité pbne est influencée par ces ppts et retentit à son tour sur les ppts physiques et chimiques du sol et en particulier sur la teneur en O_2 et en gaz carbonique, le pH et la teneur en Fe^{2+}, Mn^{2+}, S^{2-}.

Contrairement à ce que l'on pourrait croire, la submersion n'induit pas obligatoirement au sein du sol le dppt exclusif de processus anaérobies ; en fait dans le sols submergés tous les types de métabolisme microbien existent depuis le métab. aérobie typique jusqu'au métabolisme anaérobie strict. Schématiquement, on peut distinguer 3 types d'activité biologique : une activité du type aérobie, une activité du type anaérobie modéré et une activité du type anaérobie strict.

- Hydromorphie aérobie : est favorable à l'activité des pbnes aérobies de tous les types, en particulier de ceux qui interviennent dans la nitrification et la fixation de l'azote atm. (cyanophycées et bactéries fixatrices aérobies)

- Hydromorphie anaérobie modéré : c'est le type d'anaérobie le plus répandu avec ± tous degrés. La dénitrification se manifeste avec intensité même si l'anaérobiose est discrète. Aussi et a mesure que l'anaérobiose s'accentue, apparaissent d'abord les processus de réduction du manganèse oxydé et ceux du fer ferrique (indice de l'environnement anaérobie modéré). Hydr. ana. modéré est défavorable à la plus part des champs et aux Rhizobium

• hydromorphie anaérobie stricte.

Ces sols sont caractérisés par une grande abondance de la mat. organique fraîche faiblement renouvelée des horizons réduits et un potentiel d'oxydo-réduction très bas (Eh : 0 - 200 mv).

- les sulfates sont réduits en Hydrogène sulfuré par bac. sulfato-réducteurs (P. 69)
- Parallèlement à la pdt° H_2S, on observe une pdt° importante de méthane d'hydrogène résultant de la fermentat° d'ac. gras formés aux dépens des substrats carbonés.

1.2 - Aux humidités moyennes (1/100 - 4 bars ; pF 1,0 - 3,6)

- ces humidités caractérisent la plupart des sols exondés pendant la phase de végétation active, sont favorable à l'activité des pers aérobies ou microaérophiles dt le plus ipt sur le plan agronomique sont ceux qui interviennent dans la cellulolyse, l'ammonification et la nitrification, la minéralisation des composés organiques phosphorés ou soufrés la sulfo-oxydation.

1.3 - Aux faibles humidités (Tension : 4 - 400 bars ; pF : 3,6 - 5,6)

Alors que les plts sup. flétrissent, pour la plupart, lorsque au cours du dessèchement du sol, la tension atteint le seuil de 15 bars (pF = 4,2) dit pt de flétrissement permanent, de nbx pers telluriques peuvent encore présenter une activité non négligeable qui correspond à des tensions élevées, de l'ordre de 400 bars (pF = 5,6).

cette ≠ de comportement entre plte sup. et pers telluriques

peut s'expliquer

+ Pression osmotique >> à l'intérieur des poils
+ les plantes mycorhizées prélèvent par évapotranspiration, une partie non négligeable de leur eau qui elle absorbent alors que les parties de ce type sont très faibles par les poils.
+ la surface d'absorption de l'eau par une même mycorhize est plus élevée pour les poils que pour les plts.

L'accroissement de la tension de l'eau au delà du seuil de 15 bars se traduit par l'appel préférentiel des actinomycètes et de champignons par rapport aux bact. qui ont des exigences hydriques plus élevées.

- les bactéries les plus exigeantes en eau sont les bactéries cellulolytiques, les azotobacter, les bactéries nitrifiantes dont l'activité cesse à peu près complètement en même temps que celle des plts mycorhizés (c'est à dire 15 bars).

- D'autres groupes microbiens sont peu sensibles : tel est le cas des poils responsables de l'ammonification (entre double eau et les oligos) ou de la dégradation des hydrates de C à faible pds moléculaire.

- La réduction de l'activité entre les poils tellement peu faibles humidités ont parfois des conséquences négligeables : la persistance de la microflore ammonifiante qui est peu exigeante en eau et de la microflore nitrifiante, qui est plus exigeante, entraîne une accumulation importante d'azote ammoniacal (fig. 4) qui s'observe couramment in situ dans les sols en cours de dessèchement.

2. Comportement de la microflore tellurique pendant et après la dessiccation.

• Au fur et à mesure que le sol se dessèche, il atteint ou dépasse même, le seuil hydrique d'activité pour qui est de 40 bars (pF = 5,6).

Ce seuil marque le point de départ d'une série de transformations de nature physique et chimique, ainsi que de l'arrêt de toute activité biologique et de la destruction plus ou moins prononcée de certains secteurs de la microflore tellurique (c'est l'effet primaire de la dessiccation).

Lorsque le sol se réhumidifie (irrigation, pluie), on constate qu'il acquiert de nouvelles caractéristiques différentes de celle qu'elle possédait avant la dessiccation : ces modifications de nature secondaire se traduisent par une stimulation de certains secteurs biologiques ou inhibitions d'autres secteurs.

• sur le plan physique et chimique, les effets primaires de la dessiccation se traduisent par des modifications telles que l'augmentation de la teneur en azote ammoniacal, en oligoéléments échangeables, ou polymérisation d'acides humiques.

• sur le plan biologique, ces effets consistent dans la destruction d'une partie de la microflore tellurique (50-80%) la résistance à l'action létale de la dessiccation dépendant non seulement de la nature des germes considérés mais aussi de la présence dans le sol de substances protectrices (colloïdes argileux ou humiques)

Les effets secondaires de la dessiccation du sol consistent principalement en une stimulation considérable des processus de minéralisation du carbone organique et de l'azote org du sol, dues probablement à une multiplication et à repeuplement rapide des micropopulations ou encore à l'élimination des germes antagonistes.

Les sols soumis à des alternances de multiples de dessiccation, réhumectation, submersion sont en général marqués par une activité biologique intense pendant les périodes favorables à cette activité ; c'est-à-dire lorsque l'humidité est suffisante. Cette activité biologique intéresse non seulement les processus de biodégradation (minéralisation de la matière organique fraîche et humifiée) mais aussi les processus de biosynthèse (ex : fixation de N_2 moléculaire).

IV - Les facteurs argile et structure du sol

- Le sol se distingue de son milieu où prolifèrent les pcsms par le fait qu'il est composé de particules élémentaires de certains s'avèrent physiquement très actives (colloïdes argileux) et par le fait que ces particules sont assemblées en agrégats de taille et de forme très variables laissant entre eux des microsites plus ou moins favorables à l'activité biologique.

1) - Argile : Parmi les modifications de l'activité biologique induits directement ou indirectement par les argiles, les plus importantes sont celles qui mettent en :

- l'adsorption des composés organiques.
  - Argile : sble chargée électro négativement, ayant un pouvoir adsorbant considérable qui s'exerce vis-à-vis des composés organiques du sol ; cette adsorption se traduit par une protection de ceux-ci vis-à-vis de l'érosion enzymatique ou microbienne.
  - Adsorption des composés biologiquement actifs (enzymes, antibiotiques, toxines divers) par les argiles entraîne très généralement une réduction de leur activité.

exp^ce de Skinner ; met bien en évidence ce phénomène de la cas des Aantibio -.

(Streptomyces albidoflavus / Fusarium culmorum) → milieu de culture → s'éliminent respectivement par les AAS qu'ils synthétisent

+ Argile → les pcsms prolifèrent car il y a inactivation des Aff. par l'argile.

- Abaissements du plt au voisinage des particules argileuses.

Argile : - particule chargé ⊖ attirent préférentiellement les ions H^+ de solution qui [H^+] à leur voisinage est + élevée que de la solution du sol
- les pcsms ou enzymes adsorbés se trouvent à plt plus bas que les pcsms libres ; il en résulte une élévation importante (une demi à une unité plt) du plt optimum moyen d'activité des pcsms adsorbés / pcsms libres.



→ Adsorption et fixation des ions NH_4^+.

- si les ions NH_4^+ sont à l'état fixé c'est entre les feuillets de argile, leur accessibilité aux pmos est difficile ; leur nitrification est discrète.
- Si NH_4^+ est échangeable ou en solution, ils sont parfaitement utilisés par la microflore.

- Pouvoir tampon.

- les sbces argileuses ou humiques, pour leur pouvoir tampon (atténuation des fluctuations du pH), contribuent à maintenir l'activité biologique à un niveau assez constant au cours du développement de la micropopulation tellurique.

- Adhésion des microorganismes.

adhésion des pmos au particules argileuses se fait par :
- forces d'adhésion physiques
- forces chimiques liées à l'activité
- liaisons physiques microbiennes

- effet inhibiteur des pmos dû à l'alcalinisation local du pH ou à une concentration plus élevée en sbces toxiques adsorbés au niveau des argiles.
- Possibilité de stimulation des pmos en contact avec de l'argile, qui par adsorption, a concentré à sa surface des substrats favorables.

- Effet protecteur vis-à-vis de certains agents létaux.

les argiles protègent assez efficacement les pmos telluriques contre certains agents létaux : notamment la dessiccation ou une T° élevée.

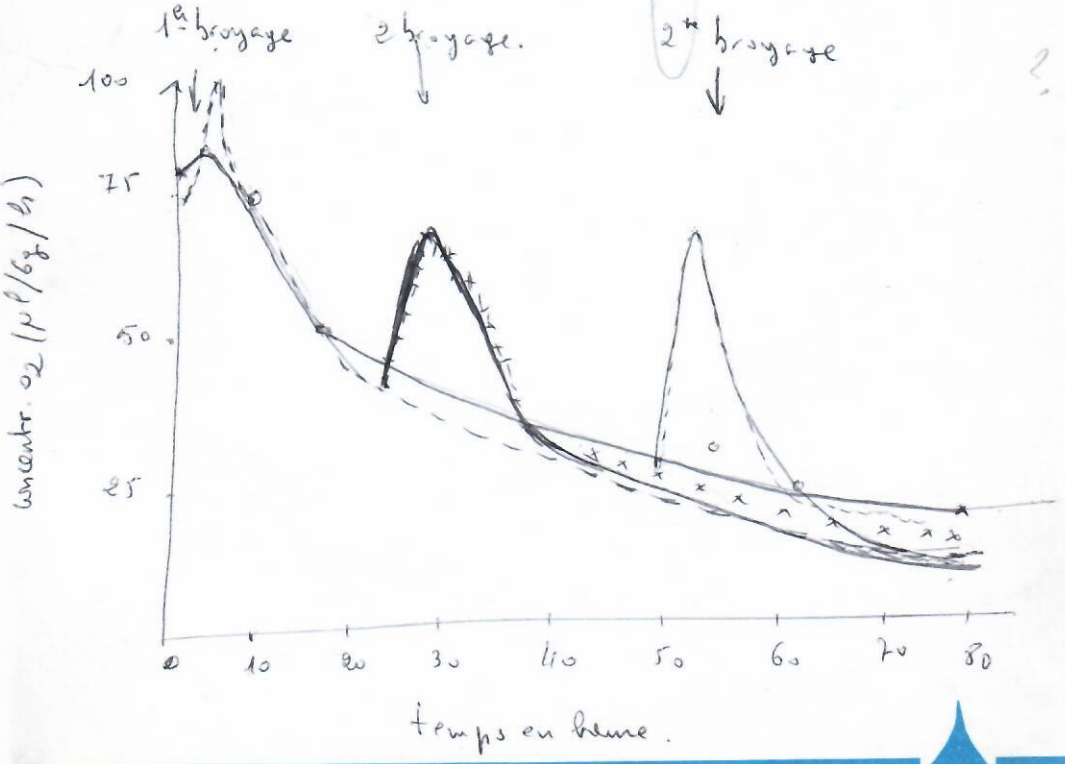
l'intensité de l'effet du facteur argile sur l'activité microbienne dépend de la nature de l'espèce d'argile et de la nature des cations adsorbés.

2 - structure.

le sol est constitué de particules élémentaires (argile, limons, sable), liées entre unes avec autres pour former des agrégats plus ou moins volumineux qui sont eux-même eux en unités structurales de plus grande dimension (macroagrégats ou grumeaux) pour donner l'édifice structural qu'on appelle sol.
les types de structures sont variées : en agrégats fins, grumeleuse, grenue

orientionnée, nuciforme, polyédrique, en plaquette, prismatique, feuilletée, spongieuses, mais l'unité fondamentale est type l'agrégat.

Sur le plan biologique, les agrégats constituent des microhabitats caractérisés par une activité microbienne réduite en raison d'une part d'un ralentissement de la diffusion de O_2 à l'intérieur de ces unités structurales, d'autre part d'une protection mécanique des substrats qu'ils renferment. Lorsque l'on détruit le agrégats d'un sol par un broyage (énergique) ou un labour énergique on observe une augmentation de l'activité respiratoire qui résulte de la mise à la disposition de la microflore des substrats auparavant inutilisables en raison de leur mauvaise aération ou de leur inaccessibilité.



Chapitre III - Transformations d'origine microbienne des caractéristiques physiques et chimiques des sols.

I. Intervention simultanée des microorganismes et des complexes enzymatiques telluriques.

La mat. org et minérale du sol subit des transformations par des processus
- chimiques ou physico-chimiques.
- biologiques |- microorganismes du sol
|- complexes enzymatiques telluriques

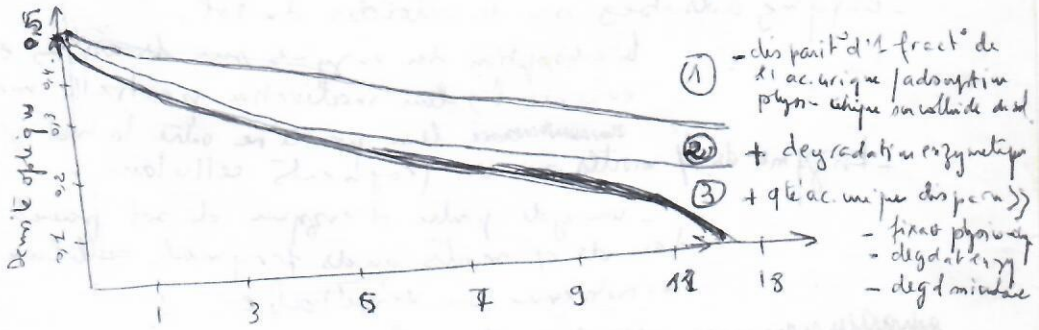
La coexistence

- L'expérience de Durand (1966) met bien en évidence les 3 types de phénomène qui régissent le cycle des ts ds sols. Le facteur étudié est la disparition de l'acide urique du sol.

E. du sol + stérilisation par la chaleur ① → destruction des enzymes et µsmes.

E. sol + stérilisation par le toluène ② → Inhibition des µsme sans affectation des enzymes (uricase).

E. sol + Temoin ③ → pte des µsmes et des enzymes.



Disparition de l'acide urique dans le sol en fonction du temps

Parmi les enzymes du sol qui ont fait l'objet d'études approfondies citons, entre autre, les suivants:
des hydrolases : saccharase, amylase, phosphatase, uréase, asparagin
; des oxydo-réductases : peroxydase, déshydrogénase.

1) origine des enzymes telluriques.

* provenant non seulement de la microflore mais aussi de la végétation et de la microfaune.

- Enzymes d'origine microbienne : 2 types
  - intracellulaires : intimement liés au corps microbien, ne sont libérés dans le milieu qu'après lyse de la cellule
  - extracellulaires : qui diffusent spontanément dans le milieu
- Enzymes d'origine végétale
  - enzymes contenus dans les résidus des tissus végétaux (litière, racines etc) et dans les exudats racinaires.

Dans le sol on trouve les 2 types d'enzymes, mais les enzymes d'origine microbiennes sont les mieux représentés.

2) Etats des enzymes dans le sol.

- Enzymes libres : Il semble qu'à cet état, les enzymes ne persistent pas longtemps, ils subissent une biodégradation rapide.
- Enzymes adsorbés sur les colloïdes du sol.
  L'adsorption des enzymes sur les argiles entraîne en général, leur inactivation partielle mais protège leur protéine contre la biodégradation.
- Enzymes des cf mortes ou des fragments cellulaires.
  - une grde partie d'enzyme du sol provient se trouver dans des cf mortes ou des fragments cellulaires d'origine microbienne ou végétale.

II- Transformations microbienne des éléments dans le sol ; cycles biologiques sous l'effet

- débris animaux
- débris végétaux
  } ⟹ Mat. org. fraîche (- composés organiques (hydrates de C + dérivés), protéines + dérivés) —Attaque MSms + complexes→ Humus de Mat. org. humifiée

— L'ensemble des réactions de biodégradation de la mat. org. fraîche et des processus de biosynthèse aboutit dans des chaînes partiellement fermées qu'on appelle cycles biologiques

1- Cycle de l'azote.

- A l'exception des légumineuses et de diverses non-légumineuses fixatrices d'azote moléculaire en symbiose avec des MSms, les plantes supérieures absorbent l'azote principalement sous forme minérale (nitrique ou ammoniacale) et très accessoirement sous forme organique (ac. a et vitamines).

Les formes minérales proviennent de l'action des MSms et des engrais azotés minéraux pour la mat. org. fraîche, et de la matière organique du sol ainsi que de l'azote ammoniacal fixé sur les argiles.

— Les réactions biologiques conduisant à la formation de l'azote nitrique et ammoniacal sont connues sous le thème général de minéralisation brute. La minéralisation brute de l'azote organique comprend elle-même des chaînons suivants :

- Ammonification brute : Ens des processus de dégradation biologique de l'azote org. du sol qui aboutissent à la libération de l'azote ammoniacal ;
- nitrification brute : Ens de réactions microbiologiques dues à des MSms autotrophes ou hétérotrophes qui consomment dans

l'oxydation de l'ammoniac en azote nitreux (nitritation - nitrosation) et son oxydation ultérieure en azote nitrique (nitratation).

. L'azote ammoniacal et nitrique va être absorbé normalement par la plante, mais il se trouve que de nombreux pbms tellurique en besoin de cet élément pour satisfaire leur exigence nutritive. L'absorption d'azote minéral par les pbms est appelé immobilisation brute (allusion à l'effet de concurrence vis-à-vis de la plante) ou réorganisation brute (allusion à la transformation de l'azote en protéine microbienne).

qd processus d'immobilisation brute >> minéralisation : azote diminue dans le sol : il y a immobilisation nette on parle aussi d'ammonification nette et de nitrification nette.

- on désigne, sous le terme de cycle interne d'azote, les ffmt cycliques qui font intervenir successivement ou simultanément les processus d'ammonification, de nitrification et d'immobilisation
- Sous le terme de cycle biogéochimique, on désigne le cycle externe de l'azote ; ce cycle part de l'azote ammoniacal et nitrique, passe par les plantes et aboutit au stock d'azote de la mat. organique fraîche (fig. 9)
- Le double cycle de l'azote n'est pas fermée : Aux processus que nous venons de définir se superposent des processus qui entraînent : (processus de gains et de pertes)

d'une part, des gains.

gains de nature microbienne

- fixation d'azote moléculaire par les pbms vivant en symbiose avec les plantes supérieures appartenant essentiellement, mais non exclusivement, à la famille des légumineuses.

- fixation d'azote moléculaire par les plantes fixateurs libres c.à.d non symbiotiques;

  germes de nature non microbienne;
- apport par les eaux météoriques et d'irrigation.
- apport par les engrais et semences
- adsorption de l'ammoniac atmosphérique.

d'autre part des pertes:

pertes de nature microbienne:
- dénitrification;

Pertes de nature non microbienne.
- volatilisation de l'ammoniac;
- réaction chimique diverses;
- exportation par les récoltes ou mise à feu;
- pertes par l'intermédiaire des plantes;
- parfois lessivage.

Parmi les ~~th~~ processus impliqués dans le cycle de l'azote, nous allons examiner ceux qui sont de nature microbienne.

A- Ammonification.

La fig. 10 montre les principales étapes de la dégradation des protéines en précisant le devenir multiple de l'azote aminé et de l'azote ammoniacal.
les germes qui interviennent appartiennent à une très grande diversité d'espèces de bactéries, d'actinomycètes ou de champignons, de sorte que l'ammonification est un phénomène sans exigence écologique particulière, puisque quelles que soient les conditions de l'environnement, des espèces ammonifiantes sont présentes dans le sol, sauf lorsqu'il s'agit des milieux incompatibles avec la vie.

B- Nitrification.

a) Nitrification autotrophe : se fait en 2 étapes :

Nitrosation/nitritation (bact. responsable : Nitrosomonas)

$$NH_4^+ + \frac{3}{2} O_2 \longrightarrow NO_2^- + 2H^+ + H_2O$$

Nitratation (bact. resp. : Nitrobacter).

$$NO_2^- + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NO_3^-$$

Les bact. nitrifiants autotrophes (genre Nitrosomonas et Nitrobacter) présentent des exigences écologiques très strictes : in vitro, elles sont aérobies et neutrophiles ; mais dans le sol, l'interaction de divers processus physico-chimiques et biologiques permet à ces bactéries de se développer à des pH moyens inf. à 6,0 ou même à 5,0 (cf p. 79).

b) Nitrification hétérotrophe.

A côté des bact. nitrifiants autotrophes, il y a dans le sol des champignons nitrifiants hétérotrophes (ex : Aspergillus flavus) dont les exigences écologiques sont beaucoup moins strictes mais dont le rendement est bien inférieur.

C- Dénitrification

On désigne par dénitrification les processus microbiens par lesquels les nitrates sont réduits à l'état de produits gazeux (azote moléculaire, oxyde nitreux) qui sont ainsi perdus pour le sol.

Ces processus apparaissent lorsque les germes se trouvant en anaérobiose, utilisent les nitrates comme accepteurs d'électrons à la place de l'oxygène qui fait

défaut;

Sur le plan agronomique, ce sont évidemment les processus de dénitrification aboutissant effectivement, à la perte d'azote qui représentent le plus d'importance. La chaine de réactions de dénitrification se présente schématiquement comme suit:

$$HNO_3 \rightarrow HNO_2 - (17\,WO) - H_2N_2O_2 \xrightarrow{\rightarrow NH_2OH \rightarrow NH_3} N_2O \rightarrow N_2$$

ou

$$NO_2\text{-}NH_2 \longrightarrow N_2$$

Les germes dénitrificateurs vrais qui sont à l'origine des pertes d'azote sous forme gazeuse, et représentés par l'intervention relativement restreint d'espèces microbienne; ce sont essentiellement des bactéries appartenant aux genres Bacillus, Pseudomonas, Achromobacter, Micrococcus, Spirillum.

L'aptitude à la dénitrification n'a jamais été décelée chez les actinomycètes et les champignons.

- Le concours des 3 cycles écologiques suivants est nécessaire à l'apparition de la dénitrification: pce d'azote sous forme nitrique ou nitreuse, la faible teneur en oxygène et enfin présence de la substance donatrice d'électrons en qté suffisante (mat. org. fraîche métabolisable).
- La dénitrification est un processus typiquement anaérobie; elle se manifeste normalement dans le sol hydromorphe, mais aussi dans le sols exondés bien aérés. Cette anomalie n'est qu'apparente; s'explique par la présence dans les sols secs de microsites anaérobies très favorable au dépôt de la dénitrification. Les microsites se rencontrent au cœur des agrégats où l'oxygène ne pénètre pas, ou au contact de la matière org. où l'oxygène est très consommé par la microflore aérobie.

D- fixation non symbiotique de l'azote moléculaire.

L'écosystème sol-plante a tendance à s'appauvrir en azote par suite du processus de lessivage et de dénitrification. Le lessivage par les eaux pluviales (forme nitrique) entraîne des pertes importantes d'azote : Le Mississipi déverse chaque année à la mer 360 000 t de nitrates provenant des sols de son bassin de réception. La dénitrification de son côté est à l'origine des pertes pouvant représenter plusieurs dizaines de kilogrammes d'azote / h / an. Les apports d'engrais azotés et par les processus de fixation microbiologique de l'azote moléculaire; les apports des orages sont en général minimes puisqu'ils ne dépassent pas 10 à 15 kg N / ha / an.

On distingue 2 processus de fixation biologique : la fixation symbiotique qui est le fait de microorganismes vivant en symbiose avec des plantes supérieures (légumineuses, notamment), la fixation libre qui est le fait de bactéries non symbiotiques des plantes supérieures. [Le premier type de fixation sera évoqué plus loin.]

* La fixation non symbiotique consiste dans la réduction de l'azote moléculaire en l'état d'azote ammoniacal sous l'action d'un complexe enzymatique comprenant essentiellement une hydrogénase, enzyme qui catalyse réversiblement l'hydrogène moléculaire en hydrogène moléculaire et une nitrogénase, enzyme qui catalyse la réduction de l'azote. ($N_2 + 2H^+ \xrightarrow{\text{Hydrogénase}} N_2 + H_2 \longrightarrow NH_3$).

Les bactéries dotées de cet équipement enzymatique particulier peuvent fixer l'azote atmosphérique : il s'agit de bactéries aérobies

(Azotobacter, Pseudomonas, Beijerinckia, Dasia, certains Arthrobacter, Bacillus etc). ou anaérobies (Clostridium, Aerobacter)

De certains actinomycetes (Nocardia) et de qq champignons.

L'aptitude à fixer l'azote moléculaire est très répandue chez les cyanophycées (algues bleues) appartenant notamment aux genres: Anabaena, Nostoc, Tolypothrix, Calothrix.

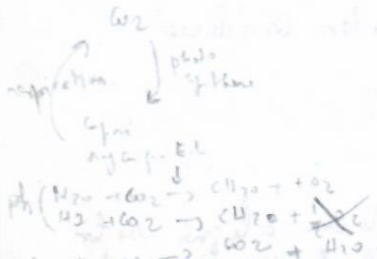
Le taux de fixation est très sensible aux facteurs de l'environnement et oscillerait entre 0 et 150 kg N/ha/an.

2/ Cycle du carbone :

① - phase de fixation du gaz carbonique. (photosynthèse)
② - phase de régénération. (respiration)

① ouvre des organismes photosynthétiques (plte verts, algues et accessoirement qlq bactéries)

→ synthèse → composés hydrocarbonés de complexité variable (amidons, hemicellulose, cellulose, lignine) et accessoirement (pectine, inuline, gomme, cires et diverses, sbce apparentées).



avec la mort des végétaux

⇒ ces composés retournent au sol et y sont la proie de la microflore tellurique qui réserve le gaz carbonique au cours de réactions d'oxydation libérant l'énergie qui lui est indispensable.

Pour le biologiste la 2ème phase est plus importante puisqu'elle implique une intervention très active de micro-organismes du du sol; il étudie en particulier les différentes étapes de dégradation des sbce carbonées qui constituent 90% (par rapport au poids sec) de la mat. organique fraiche du sol.

(A) Dégradation de la cellulose

cellulose : polysaccharide végétal le plus répandu; constituant essentiel des parois ✓ des plte supérieures. Ds les tissus la cellulose

est en général associée à d'autres polymères tels que les hémicelluloses, lignines, pectines. La teneur en cellulose atteint 90% de la fibre de coton ; mais bien souvent elle est plus faible : 60% dans le bois des conifères, 30 à 40% dans la paille.

- La vitesse de décomposition de la cellulose ~~considérée~~ du sol dépend
  - ~~nature de la cellulose considérée~~
  - la structure de la cellulose considérée
  - nature des germes
  - conditions écologiques.

cellulose = longue chaine de polymères de glucose alignés selon divers modes pour constituer des fibrilles présentant des zones amorphe et cristalline.

- la cellulolyse est d'autant plus limité que les enzymes cellulolytiques ont de la peine à s'insérer entre les chaînes adjacentes qui constituent les fibrilles.

Dégradation cellulose ⟶ glucose

- système pluri-enzymatique
  - enz C_1 → longues chaînes linéaires
  - enz C_2 → cellobiose $\xrightarrow{\text{cellobiase}}$ glucose

Les germes cellulolytiques du sol appartiennent à de très nbreuses espèces microbiennes qui agissent en association synergiques et non à l'état isolé.

La microflore cellulolytique mésophile aérobie ou microflore cellulolytique normale des sols convenablement aérés comprend des micro-champignons (Aspergillus, Fusarium

Trichoderma) ainsi que des basidiomycètes, (mais le rôle exacte de ces derniers n'est pas encore bien établi).

L'aptitude à la cellulolyse semble moins répandue chez les bactéries que chez les champignons : cpdt certaines bactéries sont très actives en particulier des espèces appartenant aux genres cytophaga, Sporocytophaga. Il existe aussi des actinomycètes cellulolytiques ; certains protozoaires dégradent aussi la cellulose.

la microflore cellulolytique mésophile anaérobie ou microflore cellulolytique des sols hydromorphes est moins riche sur le plan spécifique que la microflore aérobie. Elle comprend essentiellement des bactéries appartenant aux genres Clostridium, Plectridium ou Terminosporus.

la microflore cellulolytique thermophile : microflore particulière des milieux où la T° s'élève au dessus de 50°C tels que les fumiers ou composts, et composé des bactéries dont les plus actives appartiennent aux 2 espèces suivantes :
- Clostridium thermocellum et C. thermocellulaseum

Les facteurs écologiques qui favorisent la cellulolyse dans le sol exondés (cellulolyse aérobie, semi-aérobie mésophile) sont :

- plt : voisin de la neutralité
- T : optimale 20 et 35°C.
- humidité voisine de la capacité au champ.
- approvisionnement en azote minéral surtout sous forme ammoniacale (multiplication bactéries).

• Dans ces conditions, la dégradation des hydrates de carbone est constituée par le gaz carbonique et le carbone inclus dans le protoplasme cellulaire.

Dans les sols hydromorphes, la cellulolyse est fortement ralentie, mais si le plt ne s'abaisse pas trop elle est encore relativement intense. Outre le gaz carbonique, on trouve dans les produits du métabolisme anaérobie les hydrates de carbone, de l'hydrogène, de l'éthanol et divers acides organiques (acétique, formique, succinique, butyrique, lactique).

3/ Cycle du soufre

Les cycles du soufre et de l'N_2 présentent des analogies frappantes : les 2 elts (N_2 + S) existent dans la roche exclusivement sous forme organique et ne peuvent être utilisés par la plante qu'après avoir été préalablement minéralisés, à la suite des processus de nature biologique. Comme l'azote, le soufre peut être immobilisé par les microorganismes pour leurs synthèses cellulaires. L'oxydation par voie biologique du soufre minéral réduit ou sulfato-oxydation est, sur le plan de la biochimie et de l'écologie, un processus très voisin de la nitrification.
La réduction des sulfates ou sulfato-réduction rappelle la réduction des nitrates par son écologie et aussi par la physiologie des germes impliqués dans ce processus.

⇒ cependant 2 différences importantes séparent les cycles de l'azote et du soufre :

- Source primaires de ces 2 elts
  - pour le S la source primaire est constituée par les roches mères
  - l'N_2, la source primaire est constituée par les réserves de l'atmosphère.

- Complexité du cycle du soufre / au cycle de l'N_2 (fig. 11) : image très simplifiée des processus biologiques qui se déroulent dans le sol.

A- Minéralisation du soufre organique.

Le sol renferme une proportion importante du soufre organique : celui-ci représente fréquemment plus de la moitié du soufre total. Le soufre organique se trouve, soit à l'état libre dans la matière organique fraîche (acide aminé soufré, sulfate organique, esters sulfuriques), soit lié aux fractions humiques et argileuses. Le soufre lié à la fraction humique est beaucoup plus résistant à la biodégradation que le soufre organique libre.

La minéralisation du soufre organique est le fait de nombreux microorganismes hétérotrophes aérobies ou anaérobies : bactéries appartenant par exemple aux genres Proteus, Serratia, Pseudomonas, Clostridium ; champignons appartenant au genre Aspergillus, Microsporus.

La nature des produits finals dépend non seulement de la composition des produits initiaux, mais aussi des conditions écologiques de la dégradation : il s'agit de sulfates, de sulfures ou de composés volatils.

La minéralisation du soufre organique est favorisée par
- une humidité voisine de la capacité au champ
- une température comprise entre 20 et 30 °C
- un pH voisin de la neutralité
- l'apport de cations tels que le phosphore (sulfobactérine)

Elle est fortement stimulée dans la Rhizosphère.

B - Immobilisation du soufre minéral

Dans le sol, les processus d'immobilisation brute et de minéralisation brute du soufre se déroulent simultanément.

Il y a immobilisation nette (on dit plus simplement immobilisation) lorsque le premier processus l'emporte sur les seconds.

L'immobilisation nette apparaît lorsque le rapport C/S dépasse une valeur critique qui est de l'ordre de 300 pour la cellulose et de 110 environ pour le fumier.

C/ Sulfo-oxydation

Dans les sols exondés, l'oxydation biologique des composés minéraux réduits du soufre ou sulfo-oxydation est essentiellement le fait de deux groupes microbiens : les bactéries autotrophes (chémo-lithotrophes) appartenant au genre Thiobacillus et les germes hétérotrophes (Chimio-organotrophes) appartenant à de genres variés.

a) Les bactéries autotrophes : Thiobacillus

- Les espèces les plus ~~sont~~ courantes sont les suivants : T. thioparus, T. denitrificans, T. novellus.

T. thioparus, très largement répandu dans les sols, est relativement neutrophile (ne supporte pas des pH < à 5,0) et se développe en aérobiose. Il oxyde les thiosulfates, les sulfures, le soufre élémentaire, les thiocyanates à l'état de sulfates suivant des réactions de type :

$$2S + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4 \quad (1)$$

ou $$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \rightarrow Na_2SO_4 + H_2SO_4. \quad (2)$$

T. dénitrificans se rapproche de T. thioparus par le fait qu'il est également neutrophile ; mais il s'en distingue par son caractère anaérobie facultatif. En anaérobiose, il est capable de réduire les nitrates à l'état d'azote moléculaire ; il se comporte en dénitrifiant typique ; il utilise les nitrates comme un accepteur final d'électrons pour oxyder le soufre suivant une réaction du type :

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \longrightarrow K_2SO_4 + 2H_2SO_4 + 3N_2 \quad (3)$$

T. novellus est neutrophile comme T. thioparus et, comme ce dernier microorganisme, il oxyde les thiosulfates et les tétrathionates suivant les réactions de type [2] mais contrairement à ce genre, il n'oxyde pas le soufre élémentaire en sulfate.

Deux espèces sont beaucoup plus rares et sont localisés dans des stations ~~expérimentales~~ exceptionnellement acides (pH 2,0 à 3,5) et riche en composés du soufre ou sulfurés ; ce sont T. thiooxidans et T. ferrooxidans.

b) Les microorganismes hétérotrophes.

Les nombreux germes hétérotrophes (bactéries, actinomycètes champignons filamenteux) semblent avoir un rendement bien inférieur à celui des Thiobacillus ; mais ce faible rendement est compensé par leur densité élevée de sorte qu'en définitive, ils jouent un rôle au moins aussi impor-

que les hautotrophes.

Dans les sols riches en soufre élémentaire, la sulfato-oxydation est intense et peut provoquer des perturbations de l'équilibre biologique.

- ces perturbations sont parfois néfastes : c'est le cas des vignobles qui ont reçu des apports considérables de soufre avec les traitements anticryptogamiques. Elle peuvent, au contraire, être bénéfique si l'acidification qui en résulte fait disparaître des germes phytopathogènes sensibles à l'acidité (Ainsi par application de soufre on a éliminé streptomyces scabies : agent de la gale de la pomme de terre) ou solubilise des éléments insolubles tels que les phosphates naturels inassimilables par les plantes supérieures.

I - Sulfato-réduction

La réduction des sulfates à l'état de sulfures ou sulfato-réduction apparaît seulement dans les sols hydromorphes très réducteurs (cf p 35) : les germes responsables de ce processus appartiennent à 2 genres : Le genre Desulfovibrio (sporulé) et le genre Desulfotomaculum

ces germes sont des anaérobies obligatoires qui oxydent les

Composés organiques en utilisant les sulfates comme accepteurs d'électrons suivant des réactions du type :

$$2\,CH_3-CHOH-COOH + SO_4^{2-} \Rightarrow 2\,CH_3-COOH + 2CO_2 + S^{=} + 2H_2O$$

ac. lactique — ac. acétique [5]

ou

$$4\,CH_3-CO-COOH + SO_4^{2-} \longrightarrow 4\,CH_3-COOH + 4CO_2 + S^{=}$$

ac. pyruvique — ac. acétique

Ces réactions montrent que l'oxydation anaérobie des substrats est incomplète puisqu'elle s'arrête au stade de l'ac. acétique.

En dehors de l'ac. lactique ou de l'acide pyruvique les donneurs d'électrons peuvent être l'ac. malique, acide formique, la choline, les alcools primaires simples, certains de ces composés résultant de la dégradation de la cellulose.

Dans les biotopes dépourvus de mat. org. les bactéries sulfato-réductrices, pouvant utiliser comme ~~donneurs~~ sources d'électrons, l'hydrogène moléculaire suivant la réaction :

$$H_2 + \frac{1}{4}SO_4^{2-} \longrightarrow \frac{1}{4}S^{2-} + H_2O$$

Le soufre réduit formé au cours des réactions de sulfato-réduction est toxique s'il est sous forme d'hydrogène sulfuré. Cette toxicité s'exerce vis à vis des pollens, des psammons telluriques ou autres organismes vivant dans le sol. [illegible]

est cependant assez rare car l'hydrogène sulfuré produit réagit en général avec le fer actif du sol et précipite sous forme de sulfure de fer inoffensif. ~~On verra plus loin comment les sulfato-réducteurs interviennent dans les processus de corrosion.~~

Jakely D.

$H_2S + Fe \rightarrow \underset{\downarrow}{FeS} + H_2$

Fixation biologique de l'azote atmosphérique.

1) Impce de la fixat° de l'azote et méthodes de mesure.

- La fixat° biolog Nat est assurée par certains ✱ procaryotiques bactéries ou des algues bleues-vertes qui réalisent la réduct° de N_2 en ammoniac : $N_2 + 3H_2 \xrightarrow{N^{ase}} 2NH_3$

Cette réduct° est catalysée par la nitrogénase : enzyme que possèdent ✱ fixatrices, isolé en 1966 et cristallisé en 1970.

- Les bactéries fixatrices peuvent être libres (fixat° non symbiotique) ou associées aux racines de certaines plantes en déterminant des nodosités (fixation symbiotique).

- La fixat° biol de N_2 est un processus très imp pour le fonctionnement du cycle de l'azote ds la biosphère :
  - → compensation des pertes par lessivage et dénitrification des composés azotés minéraux ;
  - → accroissement de la productivité de pls espces de plantes cultivées (légumineuses et graminées) et de cts agroécosystèmes (rizière). (Fig 1.1)

- Il existe plsieurs méthodes de mesure de l'azote fixé par les pbmes fixateurs, La plus simple est celle de la réduction de l'acétylène (C_2H_2) en éthylène (C_2H_4). La nitrogénase peut en effet catalyser sa réduction puisque sa molécule, comme celle de l'azote, possède des triples liaisons. Il y a donc similitude de structure pour le site actif de l'enzyme comme le montre la figure correspondante (fig. 1.3).

La technique couramment employée consiste à introduire d'abord l'acétylène ds une enceinte étanche avec gaz

qui contient le matériel à étudier, et après une période d'incubation donnée, un échantillon de l'atmosphère de la enceinte est prélevé pour être soumis à l'analyse chromatographique permettant la séparation des constituants et l'enregistrement de leur concentrations relatives (fig. 1.4).

La sensibilité de cette technique de dosage est très élevée, est supérieure à celle des autres méthodes, mais comme c'est une méthode indirecte de mesure, elle donne un résultat en micromoles d'éthylène produit. Il faut donc convertir ce résultat en quantité d'azote fixé en passant le multipliant par un facteur de 3 puisque La réduction d'une molécule N_2 correspond à la réduction de 3 moles d'acétylène (fig. 1.3).

2- Les micro-organismes fixateurs.

2-1 Bactéries hétérotrophes

Trois gpes - aérobies
- anaérobies facultatives
- anaérobies

- répartition vraie en p^ce N2 combiné et n'a pas pr^ge en vue de utls ultérieure de fixer l'N2 atm.
- N^ase sensible à l'O_2.

2-1-1 bactéries aérobies

- renferment les pls gds nbres d'espces fixatrices:

F. Azotobacteriaceae ("bactéries de l'azote")
- volumineuses, gl' mobiles, capable de fixer 10-20 mg N_2/g Carbone consommé
- se répartissant en 4 genres
  - Azotobacter, Azomonas, Beijerinkia, Derxia } C. ovoïdes avec polymorphisme très prononcé
    - les Azotobacter se distingue par p^ce des kystes à paroi épaisse: résiste à la chaleur, dessiccation, persistance à l'état viable pdt 10ans.
    - C. en bâtonnets dont les extrémités gonflées, contenant des globules lipidiques caractéristiques chez les Beijerinckia, alors qu'elles sont dispersées ds le cytoplasme ch/ les Derxia.

⟹ Les Azotobacter : renferment 2 espces: - A. chroococcum dit le nom signifie forme arrondies (cocci) et colorées (encre insoluble), considéré comme l'esp^ce type du genre;
- A. vinelandii, espece la plus etudiée.
- A. beijerinckii: produisant 1 pigment jaunâtre insoluble ds les cultures agées;
- A. Paspali: espces particulière, semble être associée à la p^ce des plantes, notamment Paspalum: herbe commune des cultures tropicales

- Le genre Azomonas: comprenant 2 espces:
  - Agilis, - Insignis } - se rencontrent uniquement dans les eaux.
    - se distinguent aussi de Azotobacter par leur faible pdt' de sbce muqueuses une fois cultivés ds milieux naturels

- Le genre Beijerinkia: Plus espces dont la plus connue B. indica. } Les espces de ces 2 genres sont moins répandus ds le globe et caractérisent sols tropicaux
- Le genre Derxia: une seule espces: D. gummosa

En Dehors de la F. Azotobacteriaceae, 1 pr de bact, hétérotrophes aérobies ayant la possibilité de fixer N_2 at: récemment, certaines souches qui oxydent le méthane: les Methylomonas et les methylococcus se sont avérées fixatrices N_2 atm, cette fixation est faible et les souches sont difficile à cultiver.

2-1-2 Bactéris facultativement anaérobies.

. F. enterobacteriaceae : genres typique de la flore intestinales, compend plus espces fixatrice N_2 avec le genre Bacillus fréquent ds le sol. La fixat° ne s'opère qu'en microaerophilie.

Les enterobacteriaceae : comprennent le genre Klebsiella dont K. pneumoniae bactérie intestinale, également très largement distribuée ds la nature est la plus connue car a été l'objet de pls études génétique.

- genre enterobacter : se présente ss forme de batonnets avec les Klebsiella. La ppté de fixer N_2 est décelable aussi bien qd elles proviennent de prélèvement intestinaux que tellurique.

. Ts pls espces d'Enterobacter fixateurs :
E. cloaca, E. agglomerans et de Citrobacter : C. intermed et C. freundii, ce dernier a été isolé du contenu intestinale des termites où son activité fixatrice N_2 permet de comprendre comment ses insects vivent à partir de la cellulose comme unique nourriture.

2-1-3 2, Bacteries anaérobies obligés

→ ce groupe comprend :- C. pasterianum : 1ère souche isolée, fixatrice N_2 pdt des spore substantiels en forme de fuseau caractéristique de l'espa
. son efficience + faible que celle des Azotobacter : 5-8 mg/g C. consm
. Très largement répandu ds la nature : faible exigence nutritive et sporulat° qui l'aide à survivre dès les sols d'évaporite du milieu

- C. butyricum : une autre espce bien connue dont la ppté fixatrice et un peu moindre que la précédente.
- C. acticum, récemment isolé de l'arctique canadien

Deux autres bacteries à caractere primitif fixent N_2 :
- Desulfotomaculum ruminis : qui reduisent les sulfates, sont spor comme les clostridies, mais ne donne la réaction au gram inverse
- Desulfovibrio : non sporulée et d'affiliation taxonomique incertaine inverse

2.2. Bacteries autotrophes

- bacteries pouvant vivre ds un milieu diffuant en utilisant, fixant le CO_2 en utilisant comme source W, soit de reactin d'oxydo reduct (chimiotrophe), soit de radiation lumineuses (phototrophe). qd elles possedent Wase, elles synthetise leur matiere vivante en p^{ce} d'un milieu excessivement simple.

2-2-1 Bacteries chimiotrophes.

On en connait 2 bacteries aerobies et fixat^{ce} N_2 en microaerophilie:

- Thiobacillus ferrooxidans: oxyde les composés ferreux et les sulfures que l'on rencontre ds les eaux acides.
- Azotobacterium autotrophicum qui utilise H_2.

Cette dernière dt l'efficience fixatrice d'azote est assez élevée, pose un pb. taxonomique car possede les caracteristiques d'une autre bacteries: Mycobacterium flavum. Recemment on a suggéré d'inclure ces 2 bacteries, probablement la même bacterie, dans la famille des Azotobacteriaceae au sein de laquelle un genre nouveau est apparu: xanthobacter avec X. autotrophicus comme espece typique

2.2.2 Bacteries phototrophes

- Bacterie chlorophyllienne pouvant assimiler le CO_2 par photosynthese
- Chlorophylle n'est pas localisée ds les chloroplastes, mais au sein d'un système membranaire ou vésicule derivant de la membrane plasmique.
- bacterie relativement peu dispersées car essentiellement aquatique et colonisant les vases, les eaux stagnantes, les mappes sulfureuses et les eaux polluées.
- La fixat° N_2 depend étroitement de la photosynthese pouvant s'arreter en abs^{ce} de la lumière.
- Sont heterogenes: forme en coccus, en batonnets, en spirille, cette diversité morphologique apparait aussi au plan physiologique puisque sont repartis en 2 groupes: - Sulfureuse qui oxyde H_2S, le thiosulfate et sont toutes anaerobies
  - non sulfureuses, facult aerobies qui utilisent les composés organiques

comme donneurs de photosynthétique.
Les Sulfureuses sont colorées en vert (Chlorobium) ou en pourpre (Chromatium) alors que les non Sulfureuses sont toutes pourpres.

2-3 Algues bleu-vert. (Cyanophycée).

- Terme impropre pour les bactériologistes qui les considèrent comme des bactéries photosynthétiques = cyanobactéries.
(Doppt de l'aspect photosynthèse chez les 2 groupes).

- Plus de 60 espèces sont capable de fixer N_2 at, sont des plus autotrophes les plus complets car à partir de H_2O comme pouvoir réducteur et de sels minéraux, convertissent N_2 et CO_2 en protéine.

- Colonisent les eaux douces, marines, certains et largement distribué de l'antarctique aux tropiques alors que d'autres et très localisés. Dans les eaux calmes, elles remontent à la surface et forment des couches colorées de plus cm d'épaisseur.

- Dans les sols, se rencontrent ds les terres poreuses, mais leur rôle est insignifiant étant donné leur sensibilité à la dessiccation.

- La plupart de ces cyanophycée (cyanobactéries) sont filamenteuses et plan de fixat° N_2 at, on distingue 2 ggpes.
  - Les aerobies qui possèdent de hétérocystes: cellule de taille plus gde que ℓ végétatives et sont entourée de paroi épaisse (protection Nox/O_2). Ds ce ggpe on trouve Anabaena et Nostoc comportant chacun plus espèces fixatrices A. cylindrica, A. Variabilis, N. muscosum, N. commune et Calathrix, cylindrospermum avec pour chacune plein plus esp. fixatrices.
  - celle qui sont dépourvues d'hétérocystes fixant l'N_2 uniquement en cdts microaérophiles comme Plectonema

- A coté de ses formes filamenteuses, existent des f. unicellulaire dépourvu d'hétérocyste fixant l'N_2 aerobies: Gleocapsa.
- La qté d'N_2 fixée par algues: 99 kg/h/an, ds régions tempérés, 100 kg/h/an région tropicales = Angrain vert.

2-4 Les germes symbiotiques

- Le germe symbiotique le plus répondu est le Rhizobium, incapable de fixer l'azote à l'état libre, difficile à isoler à cet état car ne possédant pas de ppté spécifique. En p^a de légumineuse, ces Rhizobium st susceptible de provoquer des nodosités au sein desquelles ils trouvent des cdts favorables pour fixer N_2 et acquièrent une forme particulière qu'on appelle bactéroïde
- En dehors des légumineuses d'autres plantes, tels les aunes, peuvent bénéficier d'un apport N_2 d'origine atmosphérique par l'intermédiaire de nodosité racinaire mais dans ce cas l'endophyte est un actinomycète dt l'identité exacte semble être un frankia.

3 - L'enzyme de fixation.

- L'enzyme de la réduction de N_2 atm, la Nase est un complexe enzymatique formé de 2 protéines: Molybdoprotéine ($Mo_xFe_yS_z$, $Mo_xFe_yP_z$) et Ferroprotéine (Fe_xP_y).
(Nase réductase) (Nitrogenase)

Lorsque ces protéine sont in vitro mis en p^{ce} d'un donneur d'e comme l'hydrosulfite de sodium ($S_2O_4Na_2$), d'1 source d'énergie ATP et d'ions mg^{2+}, elles provoquent, en abs^{ce} de O_2, la réduct^{o} de l'azote moléculaire en ammoniac fig(3-1).

Cette réduct^{o} N_2 n'est pas la seule fonction possible de Nase: elle peut réduire une variété de composés tels l'azide N_3^-, l'acide cyanhydrique, l'isocyanure de méthyle CH_3NC, l'acétylène C_2H_2 (fig 1.2) En l'abs^{ce} d'autre substrats et sous atmosphère d'argon, la Nase catalyse la réduction de ion H^+ en hydrogène gazeux H_2, mais si on enrichit l'atm. en N_2, la fm^{le} H_2 diminue d'une façon inversement proportionnelle à la q^{té} d'azote formé.

Les données d'e^{t} mécanisme au fonctionnement de la Nase varient suivant le type d'une germes fixateurs : pdts de fermentat^{o} de sucres, cycle de Krebs, cycle photochimique : Tous ont une propriété commune : ils sont intermédiaires réducteurs et des déshydrogénases ou des réductases permettent le transfert des e$^-$ à des transporteurs de très bas potentiel de type ferrodoxine (Fd) et flavodoxine (Fld) qui ont été d'ailleurs isolé à partir des germes fixateurs et qui sont capables de réduire directement la Nase.

Ce système complexe ne peut fonctionner qu'en abs^{ce} de O_2 à cause de la forte sensibilité de la Ferroprotéine dont la purification nécessite une atmosphère et des solutions tampon exemptes de traces de O_2. Chez les germes aérobies, cette propriété nécessite la p^{ce} de mécanismes de protection très élaborés.

3-1 Composants de la nitrogénase.

3-1-1 Poids moléculaire et unités structurales.

Les valeurs proposées pour le Pm des protéines de la nitrogénase

sont indiquées dans le Tableau II. Pour la MoFe, il varie de 200 000 à 250 000, alors que pour la FeFe de 60 - 80 000.

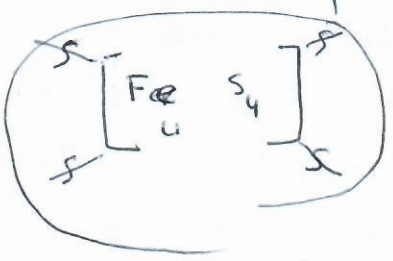
Les techniques de fractionnement des composants de N°2 et de la séparation électrophorétique et chromatographique ont permis la mise en évidence de sous-unités structurales:

- MoFe complexe hétéropolymérique composé de 2 types de SS unités de PM différents pour le plupart des nitrogénases ($2 \times 60\,000 + 2 \times 50\,000$)
- FeFe se présente chez toutes les bactéries sous forme d'1 dimère de sous-unités semblables.

En microscopie électronique; les tétrades de MoFe se présentent en forme de parallélipipède de $90 \times 90 \times 40$ Å avec des zones plus denses au centre, dues à la présence du Fer et Mo.

3-1-2 Composition en métaux.

- La Ferroprotéine de ce système nitrogénique donne à la ténaza en Fer et en soufre (4 S et 4 Fe / molécule), ce qui suggère une structure analogue à celle du site actif de la Ferrodoxine, avec des liaisons entre la protéine contenant des résidus cystéine



- Pour la MoFe, les résultats indiquent sommes une teneur équivalente en Fer et en soufre, mais les chiffres sont ± 5 suivants les souches utilisés et pour une souche donnée suivant les auteurs. Selon les études spectroscopique on trouve 2 catégories d'atomes de fer, l'un disposés dans le groupe 4Fe-4S comme dans FeFe les autres seraient impliqués dans la structure d'un cofacteur qu'on précisera ultérieurement.

3-1-3 Composition en acide aminés

Tous les ac. a communs sont présents ds la Nase avec 1% élevé d'aspartate et de glutamate (20% aa. totaux) et une faible teneur en tryptophane qui est absent des thés les Ferroprotéines analysées jusqu'à maintenant à peu près
La proportion des aa est identique dans toutes les Nase et une séquence complète a été établie pour la 1ère fois en 1977 avec la FePr de clostridium pasterianum : Protéine à 273 aa avec méthionine en position N-terminal et leucine en position C-terminal.

3-1-4 Activité optimale

Il est nécessaire d'établir un équilibre entre les composantes de Nase pour avoir une activité optimale : Le rapport MoPr/FePr varie avec la nature du substrat à réduire et que la Fe d'un excès de MoP est très néfaste car le transfert d'e est inhibé. Une proportion optimale de 1 MoPr/2 FePr a été proposée pour la réduction de N2 azote chez C. pasterianum alors que ce rapport 1 MoPr / 1 FePr chez K. pneumoniae.

3-1-5 Complémentarité.

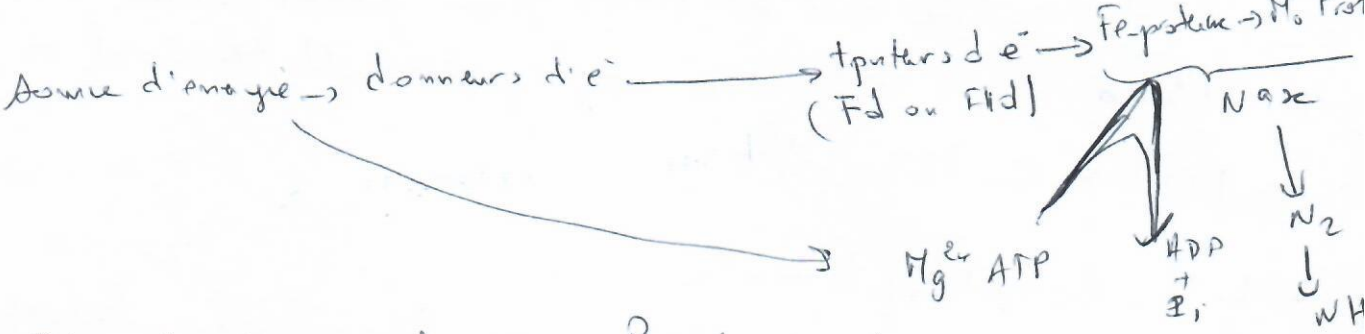
Un composant donnée d'une bactérie nitrogène peut former un complexe enzymatique actif avec le composant complémentaire d'une autre bactérie (Tableau II).
L'étude de 64 combinaisons hétérologues faites selon une méthode métallosiques a montré que la plupart donne des Nase hybrides actives ou permettent du moins à l'hybride de se reconstituer, seules les combinaisons faisant intervenir une protéine de C. pasterianum se sont révélées négatives.
Il reste intéressant de signaler que MoPr de Azotobacter fixé Anabaena forme une Nase active avec la FePr de bactéries

ce qui traduit une parenté physiologique étroite entre la N^{ase} des algues et celle des bactéries.

3-2 Mécanismes de la réduction de l'Azote

donneurs e⁻

Nous avons vu qu'en p^ce ↑ d'ATP, d'ions Mg^{2+}, de ferrodoxine ou de flavodoxine, la N^{ase} est capable de réduire in vitro, un certain nbre de substrat à triple liaison ≡ l'azote.

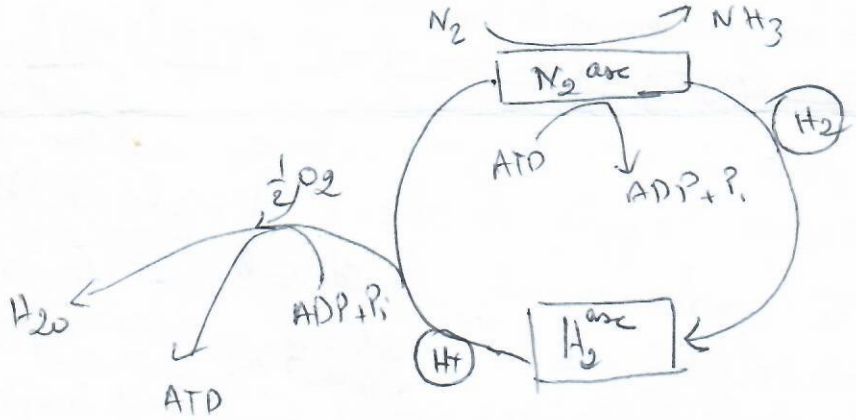


- Cette réduction se fait en plusieurs étapes:
  1- réduction de la ferro protéine
  2- liaison du substrat à la Mo-Fe protéine
  3- Activation de la Fe-protéine réduite par Mg_2 ATP
  4- Association de la Mo-Protéine et du substrat à la Fe-protéine activée pour former un complexe.
  5- Transfert d'e⁻ au sein du complexe, de atomes de Fer de la Fe-Pr à ceux de Mo-Fe protéine.
  6- Transfert d'e⁻ au substrat
  7- libération des ADP, Pi et du substrat réduit; dissociation éventuelle du complexe nitrogénasique.

La réduction de la Fe-Pr se fait par l'intermédiaire d'1 flavodoxine ou d'1 ferrodoxine. L'existence d'1 complexe enzymatique entre les 2 protéines constitutives de N^{ase} semble bien établie, de même que celle de plusieurs états d'activation de ce complexe; ces derniers influent sur le transfert d'e⁻ aux divers type de substrats, ainsi que sur le flux total des e⁻.
L'ATP et les ions Mg^{2+} représente la source d'énergie, mais servent aussi à stabiliser l'état actif du complexe enzymatique, probablement en agissant au niveau de la Fe-Protéine, ce qui expliquerait leur effet régulateur généralement admis (ainsi que celui Mg^{2+}, ADP

3.2.1 Production d'hydrogène

- La N^{ase} est capable de catalyser les cations H^+ en Hydrogène gazeux, cette propriété est présente aussi bien chez les organismes libres que chez les symbiotiques Rhizobium en symbiose. Elle est apparentée surtout lorsque La N^{ase} ne disproc pas d'autres substrats que H^+ ou lorsque ces substrats sont limitants.
- H_2 produit est recyclable par une autre enzyme : une hydrolase (H_2^{ase}) qui fonctionnent parfois de façon réversible (ex des germes anaérobies principalement) en catalysant soit la prod° de H^+, soit la production de H_2, ce qui n'est jamais le cas de la N^{ase}.
- ce recyclage de l'hydrogène par Hase fournit de l'énergie (l'énergie sous forme d'ATP), soutenant une protection respiratoire à N_2^{ase} et une protection contre les concentrations élevés de H_2 qui peuvent devenir inhibitrices.



et consommation d'ATP

- L'utilité de la prod° H_2 d'origine N_2^{ase} est assez énigmatique :
  - régularisation de la balance énergétique de la cellule : la N^{ase} est une valve de régulation de l'énergie de la cellule, surtout lorsque la photosynthèse est très intense.

3.3 - Regulation de l'activité fixatrice.

3.3.1 Aspects physiologique de la fixat° N_2 : Action de O_2

- N_2^{ase} sensible à O_2
  - Azotobacteraceae
    - I.R particulaire élevé pour réduire O_2 au voisinage N_2^{ase}.
    - chez de conformation → inactivé ou instable.
    - consommat° gte importante de substrat → réaction vers la respi au voisinage de la cellule (consommation)
    - → population dense, tension de O_2 faible au sein de la population.
  - Hydrogénomonas : Azotophores → cellules à paroi épaisse ss forme de vésicules à assez membrane

$\uparrow [O_2]$

- Cyanobacteries : fixat° N_2 et photosynthèse aérogènes

. Hétérocystes de cyanobactéries filamenteuses

. Fil de nombreux Hétérocystés → hétérocyste (p^{ce} d'hétérocyste (fixat° N_2 et φ^{se} séparé) / non hétérocysté → p^{ce} de trichomes : filament. dense tout la long de la bactérie, rédt de O_2 : ces cyanob. trichodes mieux

Cas des bactéries symbiotiques des légumineuses (fig

- N_2^{ase}
- La leghémoglobine (chromoprotéine : prothétique (Hydrocarbure cyclique + atome de Fer) + protéine (globine)) → . Nodosité . leghémoglobine avant N_2^{ase} (coloration rouge de la protéine (globine) et une protéine) = protéoporphyrine

- protéoporphyrine
- globine

En p^{ce} de l'air, leghémoglobine saturée à 50% avec O_2,

de l'oxyleghémoglobine qui se dissocie très lentement de manière à maintenir une très faible $[O_2]$ à l'intérieur de la nodosité, et cet oxygène libéré à la surface des bactéroïdes est pris par un système oxydasique pour former l'ATP / ADP.

- Ce mécanisme de protection de l'enzyme contre O_2 constitue un obstacle pour élucider le rôle de fixat° d'azote à d'autres types de plantes : notamment les céréales ; créer un système analogue à celui de la leghémoglobine (Bactéries → leghémoglobine → Plante) dans lequel le rôle de la plante et des bactéries seraient parfaitement complémentaires

3-3-2 - Régulation génétique de la fixat° N_2 : Action NH_4^+

En p^ce de certaines concentrations de NH_4^+, aucune fixat° N_2 chez les germes qui synthétisent la N_2^{ase}.

La disparition de N_2^{ase} ou de son activité est liée ± à la théorie de psmes

L'origine de l'arrêt de la fixat° ne peut être expliquée par une simple inhibition due à la p^ce NH_4^+ puisque celui-ci n'a aucun effet sur les préparations acellulaires de N_2^{ase}.

Mais intervient en mettant en cause une régulation génétique au niveau de la synthèse N_2^{ase} : cette régulation ne se fait pas directement par répression des ions NH_4^+ sur N_2^{ase}, mais par répression d'un produit d'assimilat° de NH_4^+ tel que la glutamine.

Actuellement, on pense que ce n'est pas le pdt d'incorporation qui joue le rôle de régulateur, mais l'enzyme qui catalyse cette incorporation : La glutamine synthétase.

- Chez les bactéries qui ne possèdent pas N_2^{ase}, ou celles qui en possèdent mais sont en p^ce de grande qté NH_4^+ ;

$$NH_4^+ + \alpha\text{-cétoglutarate} + NADH \xrightarrow{GDH} \text{glutamate} + NADP \quad (1)$$

- NH_4^+ est faible ou nulle (≤ 0) ; réduction N_2 est possible un système enzymatique ≠ et + complexe entre en jeu et donne le glutamate par l'action conjuguée de 2 enzymes La glutamine synthétase (GS) et la glutamine cétoglutarate aminotransférase (GOGAT), avec fin° transitoire de la glutamine

$$NH_4^+ + \text{glutamate} + ATP \xrightarrow{GS} \text{glutamine} + ADP + P_i$$

$$\text{glutamine} + \alpha\text{-cétoglutarate} + NADPH \xrightarrow{GOGAT} 2\,\text{glutamate} + NADP \quad (2)$$

- Cette voie est plus couteuse que la première p° ATP
- La glutamine synthétase est une enzyme composé de 12 chaines polypeptidiques identiques disposés en 2 couches de 6 chaines polymerisés en hexagone.
- En p° $[NH_4^+]$ >> , GS est rapidement inactivé par le processus d'adenylylation (fig 3.13). cette adenylylation est catalysée par ATase (Adenyl-transferase), qui fixe, par une liaison phosphodiester très stable la partie 5' adenylyl de l'ATP au groupe hydroxyl phénolique d'un résidu tyrosil de chacune ss unité de l'enzyme de sorte que GS peut porter entre 0 et 12 adenyls. La désadenylylation est catalysée par la même enzyme qui est modifié
- L'activité de ATase est déterminée par la nouvelle unité P_{II} qui peut exister sous 2 formes $\begin{cases} -P_{II}A : \text{normale non modifiée qui stimule adenylyl} \\ -P_{II}D : \text{modifié stimule} \rightarrow \text{desadenylylation} \\ \quad (\text{uridylylatée} \end{cases}$

- qd il y a déficience NH_4^+ dans les C, les [α cétoglutarate] ↑ et stimule la désadénylylation c.a.d la GS devient active. Au contraire lorsque les teneurs $[NH_4^+]$ augmentent, elles accelerent la synthese de la glutamine qui stimulent l'adenylylation donc inactivent GS.

=> L'ammoniac NH_4^+ interviendrait par csqt sur la regulation de la glutamine synthetase (GS), par le biais du rapport intracellulaire α cétoglutarate/glutamine. Cette enzyme participerait directement au contrôle génétique de la fixation de l'azote en agissant comme un facteur de contrôle positif. Lorsqu'elle est inactivée, elle ne serait plus en état de s'attacher sur le promoteur de nif d'où une absence de synthese du produit nif : N_2^{ase}.

4- Symbiose avec les légumineuses.

L'étude de l'association Rhizobium - légumineuse présente une extrême complexité de ses mécanismes biologiques et biochimiques entrant en jeu. Les principales propriétés du Rhizobium caractérisant sont : son infectivité : son pouvoir de former des nodosités, son efficience : aptitude de fixer l'azote et sa spécificité d'hôte qui ne permet qu'à certaines souches d'entrer en association avec une légumineuse donnée.

4.1. Le Rhizobium à l'état libre

Le Rhizobium à l'état libre est difficilement identifiable : aucune activité spécifique, ne participe pas à l'équilibre de la vie microbienne, seule sa spécificité propre d'induire la formation de nodule permet de le reconnaître avec certitude.

bactéries : bâtonnets, gram(-), mobiles grâce à tout au moins 1 ou 2 flagelles sont jeunes.

Son génome mutable : chromosome inducteur, plasmide de résistance

2 types de colonies - des grosses $\geq$ 1mm croissance rapide : non exigeantes
- des petites $<$ 1mm cr lente : exigeantes

↳ - en relation avec le type physiologique : voie des pentoses + Embden Meyerhof
- : voie de pentoses seule.

Du pt de vue symbiotique : spécificité entre Rhizobium - légumineuse
Rhizob infecte le trèfle ne peut infecter le lupin et vice versa

Six groupes d'inoculation croisés

cr rapide ↓ acides
- R. leguminosarum : pois (Pisum), vesce (Vicia), lentille (Lens);
- R. phaseoli : haricot (Phaseolus);
- R. trifolii : trèfle (Trifolium)
- R. meliloti : mélilot (Melilotus), luzerne (Medicago);

cr lente ↑ alcalis
- R. japonicum : soja (Glycine)
- R. lupini : lupin (Lupinus); Pied d'oiseau (Ornithopus).

cr ↑ de R. compos : légumineuses tropicales (Vigna, Arachis, Desmodium, centrosema)
seule

Le fait que ces types d'inoculation existent exclut
plus maintenant

4.-2 Processus de la nodulation et maturation des bactéroïdes

- Le Rhizobium se multiplie à l'état libre dans le sol
des poils racinaires qui reconnaissent une différentiation prenant
l'aspect d'une courbure : 2 substances chimiques
prennent part à cette différentiation : la p° du tryptophane
parmi celles qui est responsable de la multiplication
du Rhizobium et la production en partie de la phytohormone à l'origine de la courbure.

Le Rhizobium pénètre à l'intérieur par invagination de la paroi du poil rendue plus souple à la courbure ; il y a là un phénomène de sélection des Rhizobium à l'entrée de la cellule végétale. En effet l'analyse sérologique des bactéries présents dans le nodule révèle dès l'existence d'un sérotype unique ce qui suppose l'intervention d'une seule bactérie (ou d'une seule lignée de bactéries) dans de nodulation

L'infection n'est possible que dès 10 jours après la formation des racines : celle-ci devient graduellement résistante à cause d'un changement chimique de la substitution chimique des parois des racines.

Une fois le Rhizobium pénétré dans le poil absorbant, il se forme un filament d'infection (fig 5.1). La cellule pilifère montre un doublement de taille du noyau

qui se situe tjs dans l'axe de la cellule et semble orienter la progression du filament. Celui ci pénètre ensuite dans la 6, à de la zone corticale de la racine. A ce stade la racine est formé de 2 couches distinctes (fig 5.2)

- une couche fibrillaire externe de nature végétale située au contact du plasmalemme des cellules qui est composé principalement de cellulose
- une couche amorphe interne contenant des bactéries qui se multiplie continuellement en dégradant les unes dans les autres.

Dans le parenchyme de racine la progression du rhizobium semble tjs être guidée par le noyau de cellule hôte, comme tjs étant guidés par le noyau de cellules absorbantes. Le cordon infectieux initial représente l'apparition de division des distances de son front. (fig 5,7)
Des îlots de ~~méristème~~ méristématiques apparaissent et forment dans la racine une zone de multiplication très active.
Ces îlots méristématiques contribuent à la formation des tissus du futur nodule.

Les Rhizobium provoquent par à l'initiation des nodules et aux premières phases de sa croissance grâce aux phytohormones qu'ils peuvent produire : auxine indolylacétique, cytokinine et zéatine

En fonction de l'activité propre du méristème le nodule peut se présenter selon une morphologie assez variée ; celle-ci étant une caractéristique de la plante plutôt que du Rhizobium : - excroissance arrondie ou ovoïde (soja, haricot, arachide)
- forme plus allongée (trèfle, vesce, pois)

la surface peut être lisse ou ridée et de taille variable mais généralement inversement proportionnelle au nombre de nodules (fig 5.3)

Le cordon infectieux présente, à son extrémité, en un certain moment, des renflements sensibles à des vésicules et des bactéroïdes pouvant être relachées et envahissant les cellules végétales.

Ce mécanisme, identique à une endocytose, aboutit à la formation de cellules très volumineuses contenant des bactéroïdes entourés d'une enveloppe d'origine végétale : la membrane de séquestration qui est considérée comme une réaction de défense de la cellule végétale. Elle semble aussi indispensable à la mise en place de l'activité fixatrice puisque les nodules sont inefficaces lorsqu'elle fait défaut.

Les Rhizobium une fois dans la cellule présentent un aspect altéré auquel on attribue le nom de bactéroïdes : ils y prennent souvent des formes intermédiaires : filamenteuses, pivriformes, sphériques que l'on peut obtenir artificiellement en créant des conditions défavorables de croissance dans des cultures de Rhizobium en rajoutant des alcaloïdes ou de l'extrait de plante.

Les bactéroïdes contiennent + ADN que les Rhizobium libres, et sont de taille plus grande.

Les germes à croissance lente présentent 1 nucléoïde filamenteux et très abondant
Les Rhiz. à croissance rapide, le nucléoïde est diffus et clair aux électrons
Cet aspect ultrastructural est apparemment en relation avec l'aptitude que possèdent les Rhizobium libre à produire la nitrogénase.

4-3 Fonction du tissu bactérien et des bactéroïdes.

Les analyses chimiques et les Tests de réduction de l'acétylène attribue au Tissu bactérien la fonction fixation de N_2 at : La N^{ase} catalyse la réaction réductrice ; la leghémoglobine en traduit l'activité.

L'infection des Légumineuses par les Rhizobs entraine l'apparition dans d'autres substances amino moins qui n'existent pas dans les tissus sains : La Vitamine B_{12} et la leghémoglobine

La Leghémoglobine est une chromoprotéine qui est responsable de la coloration rouge du contenu nodulaire des légumineuses. Elle n'est présente que dans les symbioses et les nodules fixateurs d'azote.

Cette chromoprotéine comprend un appt prosthétique : formée de 4 cycles pyrrole avec un atome de Fer et un composant protéique la globine.

Elle intervient dans le transport de O_2 sous forme d'oxyLb.

L'O_2, tout en étant inhibiteur de la N^{ase} est indispensable au maintien d'une activité fixatrice correcte, car les bactéroïdes en sont de très gros consommateurs

Cet O_2 est impliqué dans les chaines de transports d'électrons couplés avec la phosphorylation oxydative mais dans les bactéroïdes, les transporteurs présents sont

Les cytochromes C et la leghémoprotéine P 450.

- La leghémoglobine assure des échanges gazeux entre l'extérieur et les bactéroïdes, tout en protégeant la N^{ase} de l'O_2
- La réduction primaire de la fixation de N_2 et l'ammoniac

Suivi par la glutamine et le glutamate, puis transamination par l'alanine ou l'aspartate.

L'assimilation constitue par contre la forme principale de transport de l'azote des nodules vers les organes de la plante

4-4 Infectivité et efficience et spécificité.

La symbiose fixatrice N2 fait intervenir 3 facteurs bactériens : L'infectivité, la spécificité d'hôte et l'efficience.

(1) L'infectivité (virulence) est le pouvoir du Rhizobium de pénétrer actives la racine et de former les cordons infectieux qui induit la nodulation : Virulence.

(2) Spécificité : ~~sélection du Rhizobium qui pénètre dans le poil~~ racinaire

(3) L'efficience caractérise son aptitude à fixer l'azote atmosphérique à l'intérieur du nodule dont la structure a été définie par la plante.

~~La spécificité est le fait que la plante reconnaisse~~

la spécificité traduit une reconnaissance ~~réciproque~~ entre la poil et le Rhizobium qui pénètre dans le poil racinaire de la légumineuse.

3°) spécificité traduit le fait qu'un Rhizobium ne peut être virulent (Inf+) et efficient (Eff+) que dans une légumineuse ~~correspondant~~ correspondant à sa spécificité d'hôte.

Planche (1)

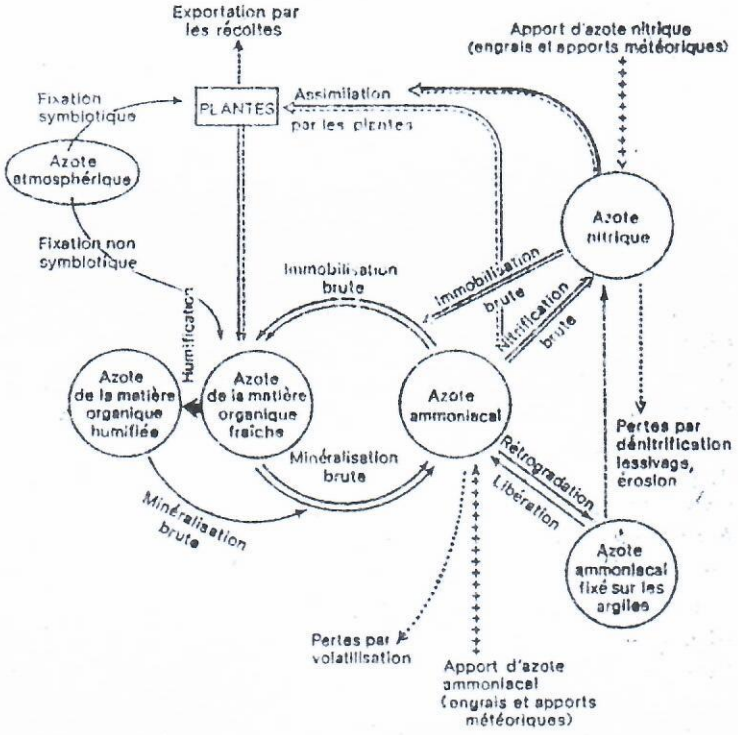


Fig. 9. — Transformations microbiennes de l'azote

Le cycle interne de l'azote est représenté par un trait double. *Le cycle externe ou cycle biogéochimique* est représenté par un trait plein doublé d'un trait interrompu.

Planche (2)

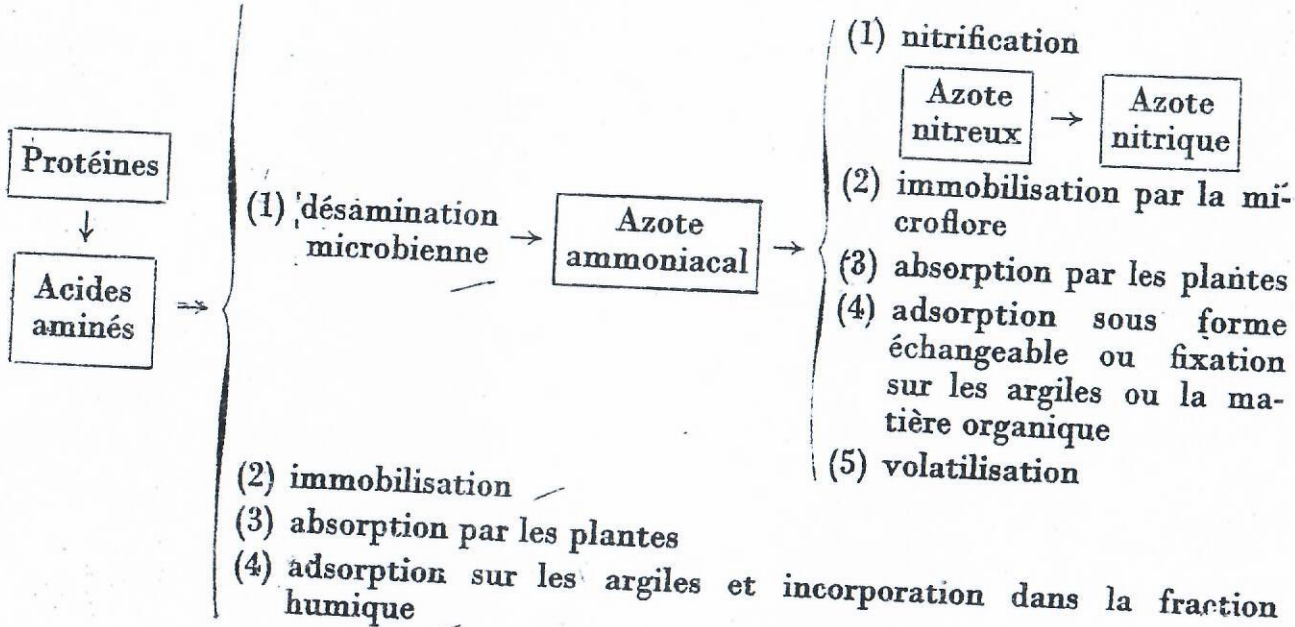


Fig. 10. — Principales étapes de la dégradation des protéines avec indication du devenir multiple de l'azote aminé et ammoniacal

Planche (3)

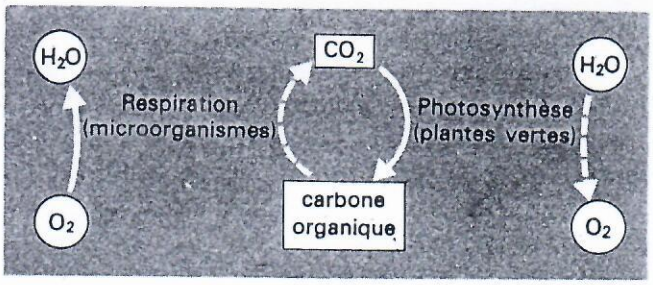


Fig. - **Cycle du carbone.**
Le CO_2 atmosphérique est assimilé par les plante vertes et réduit en composés organiques végétau et animaux. Ceux-ci sont oxydés par les micro organismes en CO_2. Corrélativement, la photosynthès conduit à l'oxygène moléculaire nécessaire à l'oxy dation du substrat organique.

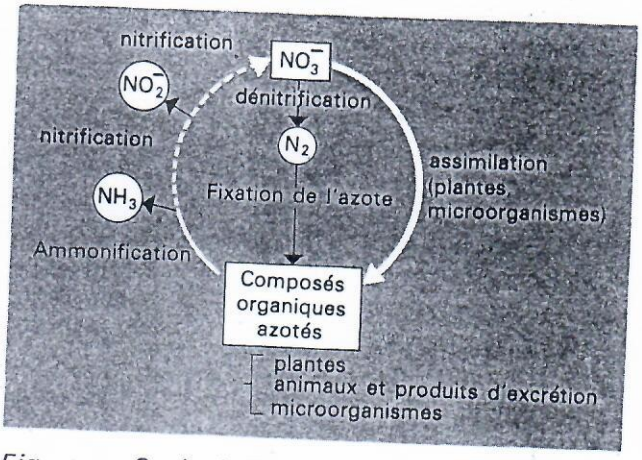


Fig. - Cycle de l'azote.
L'azote atmosphérique et les nitrates sont assimilés par les plantes selon divers mécanismes et transformés en composés organiques azotés. Ceux-ci sont, tour à tour et sous l'action des micro-organismes, réduits en ammoniac, puis oxydés en nitrates.

1

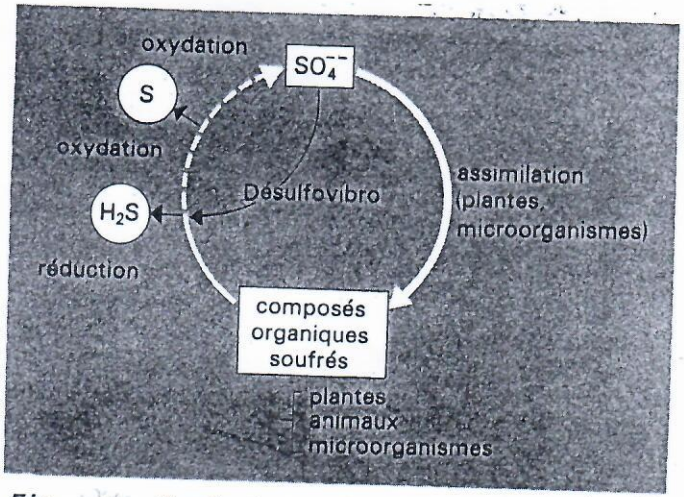


Fig. - **Cycle du soufre.**
Les sulfates sont assimilés par les végétaux et incorporés dans des composés organiques. Ceux-ci sont décomposés en H_2S, puis oxydés en soufre et en sulfate sous l'action des micro-organismes.

Planche (4)

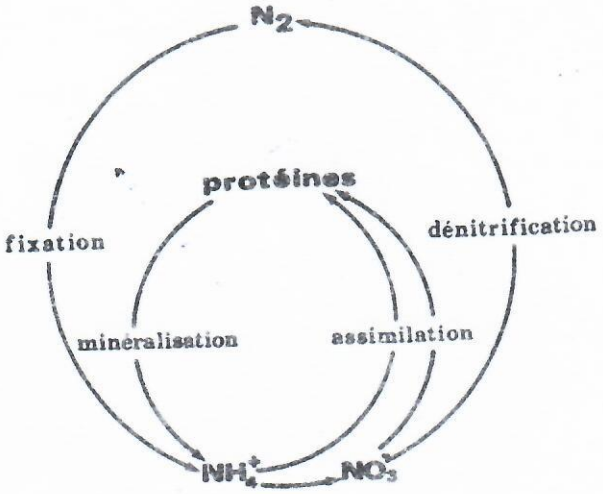


FIG. 1.1. – Le cycle de l'azote dans la biosphère.

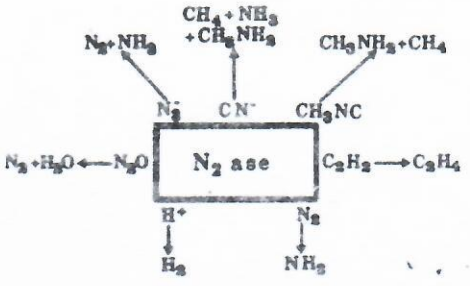


FIG. 1.2. – Les principales réactions de réduction catalysées par la nitrogénase.

Planche (5)

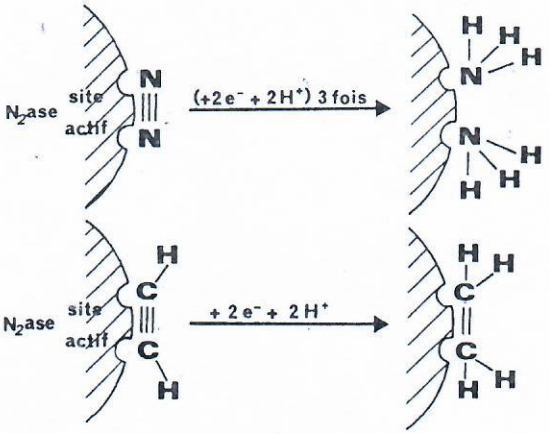


FIG. 1.3. – Représentation schématique de la réduction de l'azote et de l'acétylène par la nitrogénase soulignant les analogies de structure de ces deux substrats.

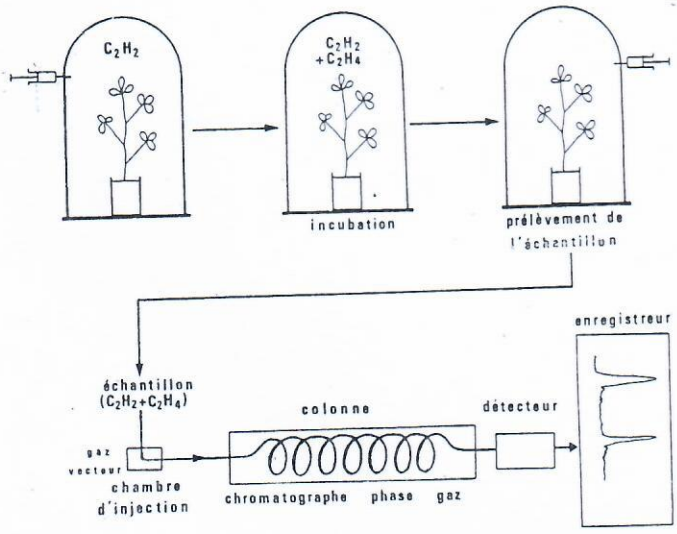


FIG. 1.4. – Principe de la technique de mesure de l'activité fixatrice d'azote par la méthode de la réduction de l'acétylène.

Planche (6)

TABLEAU I. — Les bactéries libres fixatrices d'azote

	Genres	Espèces les plus importantes
HÉTÉROTROPHES		
Aérobies		
Azotobacteraceae	*Azotobacter*	*(A. chroococcum, A. vinelandii)*
	Azomonas	
	Beijerinckia	*(B. indica)*
	Derxia	
Oxydants du méthane	*Methylomonas*	
	Methylococcus	
	Methylosinus	
	* *«Spirillum»*	*(S. lipoferum)*
Facultativement anaérobies		
Enterobacteriaceae	*Klebsiella*	*(K. pneumoniae)*
	Enterobacter	
	Citrobacter	
	Bacillus	*(B. polymyxa)*
Anaérobies obligé		
	Clostridium	*(C. pasteurianum)*
Sulfato-réducteurs	*Desulfotomaculum*	
	Desulfovibrio	
CHIMIOTROPHES		
	Thiobacillus	*(T. ferrooxidans)*
	* *«Corynebacterium»*	*(C. autotrophicum)*
PHOTOTROPHES		
Sulfureuses	*Chlorobium*	*(C. vinosum)*
	Chromatium	
Non-sulfureuses	*Rhodospirillum*	*(R. rubrum)*
	Rhodomicrobium	
	Rhodopseudomonas	

* La position taxonomique de ces bactéries a été revue (voir le texte).

Planche (6bis)

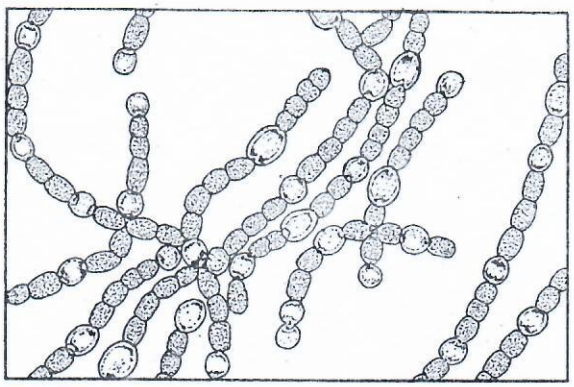


FIG. 4.9. – *A. azollae* isolée d'une cavité foliaire avec ses nombreux hétérocystes, d'après Peters et Mayne, 1974, Plant Physiol., 53, 813.

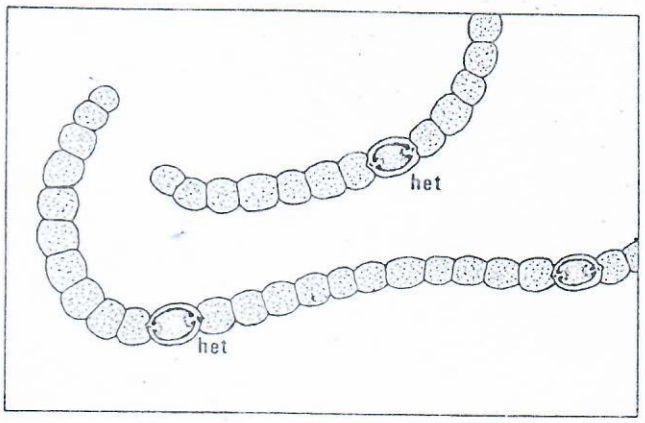


FIG. 2.6. – Fragments de filaments d'*Anabaena* pourvus d'hétérocystes *(het)*.

Planche (7)

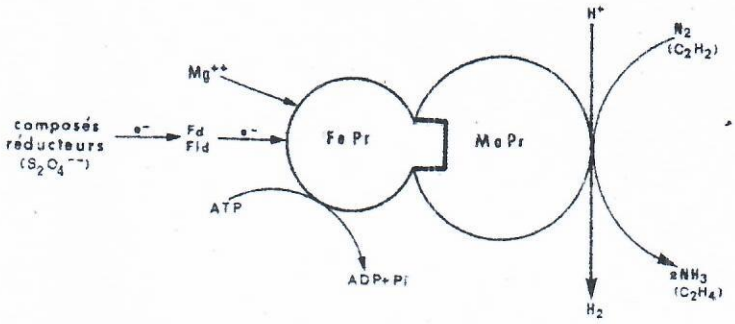


FIG. 3.1. – Schéma du mécanisme de réduction de l'N_2 catalysée par la nitrogénase.

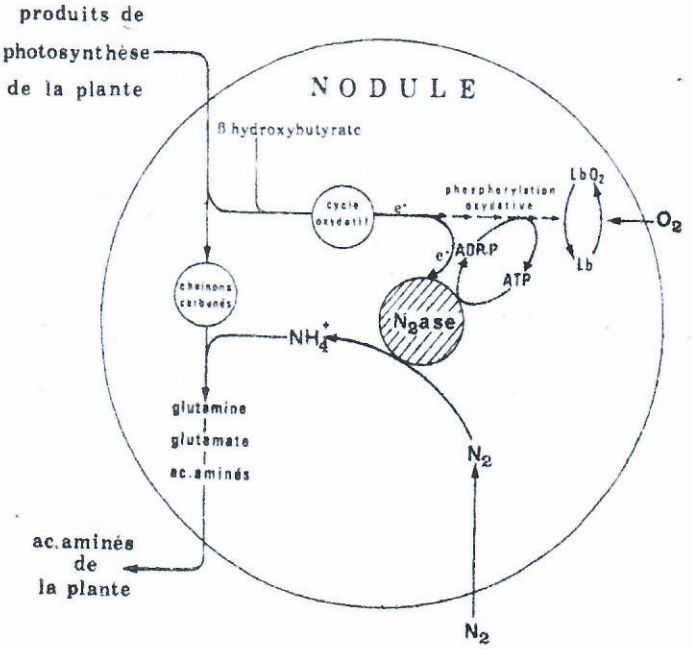


FIG. 5.14. – Schéma général simplifié de la fixation symbiotique de l'azote au niveau des nodules (N_2ase = nitrogénase ; *Lb* = léghémoglobine).

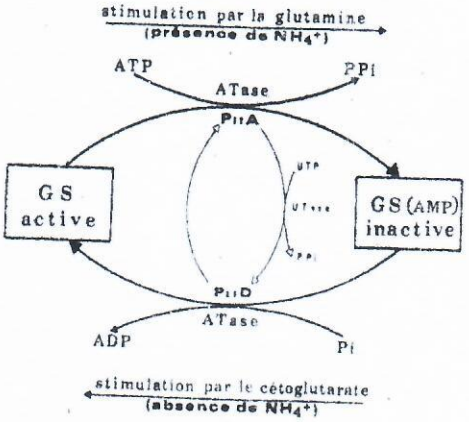


FIG. 3.13. – Mécanisme de l'adénylylation et de la désadénylylation de la glutamine synthétase.

Planche (8)

TABLEAU II. — **Propriétés des composants de la nitrogénase de quelques bactéries fixatrices**

Micro-organismes	Composants	P.M.	Nombre de sous-unités	Nombre d'atomes-grammes par molécule de :		
				Mo	Fe	S^{2-}
C. pasteurianum	MoPr	220 000	2 + 2	1-2	22	22
	FePr	57 674	2	0	4	4
A. vinelandii	MoPr	250 000	2 + 2	2	27	33
	FePr	64 000	2	0	4	4
K. pneumoniae	MoPr	218 000	2 + 2	1	17	17
	FePr	66 800	2	0	4	4
B. polymyxa	MoPr	215 000	—	2	33	21
	FePr	55 500	—	0	3,2	3,6
C. autotrophicum	MoPr	232 000	2 + 2	2,2	23	20
	FePr	72 600	2	0	3,8	2,4
R. lupini	MoPr	194 000	4	1	18-20	—
	FePr	65 000	2	0	3-4	—
Rh. rubrum	MoPr	215 000	4	2	25-30	19-22
	FePr	65 000	2	0	3,8-4,5	2,8-5,0

Principales références utilisées : pour *C. pasteurianum* : Huang et coll. (1973), Nakos et coll. (1971), Tso (1974), Tanaka et coll. (1977) ; pour ***A. vinelandii* :** MoPr : Lundell et Howard (1978), FePr : Kleiner et coll. (1974) et d'autres ; pour ***K. pneumoniae* :** Eady et coll. (1972) ; pour ***B. polymyxa* :** Emerich et Burris (1978) ; pour ***Corynebacterium autotrophicum* :** Berndt et coll. (1978) ; pour ***Rhizobium lupini* :** Whiting et Dilworth (1974) ; pour ***Rhodospirillum rubrum* :** Nordlund et coll. (1978).

Planche 9

TABLEAU III. – Complémentarité entre les composants de la nitrogénase des principales bactéries fixatrices

Ferroprotéine	Molybdoprotéine						
	A.v.	A.c.	M.f.	K.p.	B.p.	C.p.	R.j.
Azotobacter vinelandii (A.v.)	(+)	0	0	+	+	–	+
Azotobacter chroococcum (A.c.)	0	(+)	±	+	+	0	0
Mycobacterium flavum (M.f.)	0	+	(+)	+	+	0	0
Klebsiella pneumoniae (K.p.)	+	+	+	(+)	+	tr	+
Bacillus polymyxa (B.p.)	+	tr	+	+	(+)	±	+
Clostridium pasteurianum (C.p.)	–	0	–	tr	+	(+)	–
Rhizobium japonicum (R.j.)	+	0	0	+	+	–	(+)

Symboles : + : activité de 50 à 100 % ; ± : activité de 20 à 50 % ; tr : traces ; – : absence d'activité ; 0 : activité non recherchée.

Références utilisées : Biggins et coll. 1971 ; Dahlen et coll. 1969 ; Detroy et coll. 1968 ; Emerich et coll. 1978 ; Kelly 1969 ; Murphy et coll. 1971.

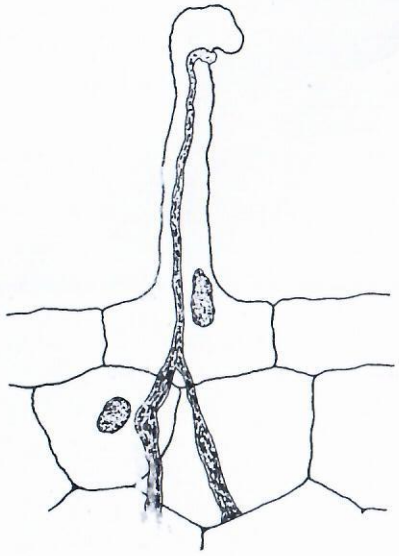


FIG. 5.1. – Formation du filament d'infection au niveau d'un poil racinaire.

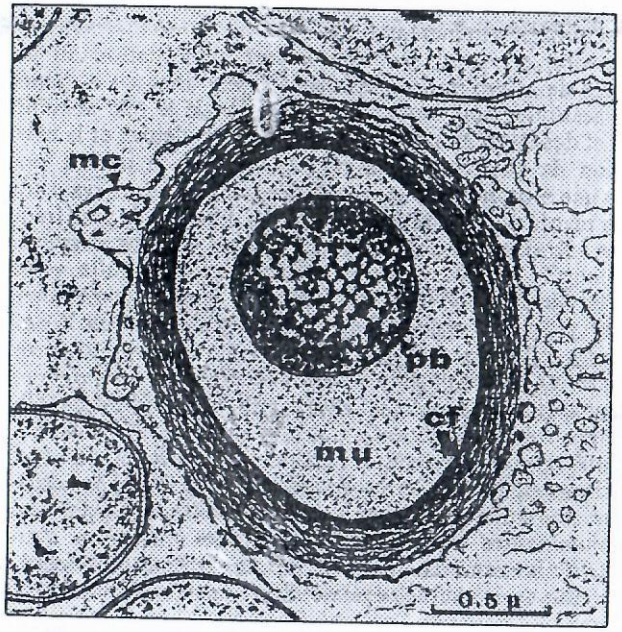


FIG. 5.2. – Section transversale d'un cordon d'infection limité par une couche fibrillaire cellulosique *(cf)* avec une bactérie dans le mucilage *(mu)* - *(pb* = paroi bactérienne; *mc* = membrane entourant le cordon infectieux)- Nodule de *Trifolium repens* L. - d'après une micrographie électronique de Gouret et coll., 1974. Can. J. Microbiol., *20*, 1169-1181.

Planche (10)

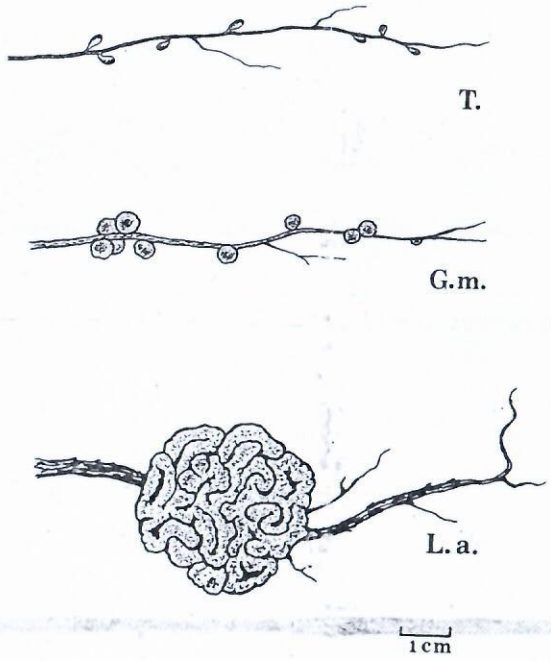


FIG. 5.3. – Nodules racinaires de trèfle *(Trifolium)*, de soja *(Glycine max)*, et de *Lupinus arboreus* (formation perenne).

Planche (11)

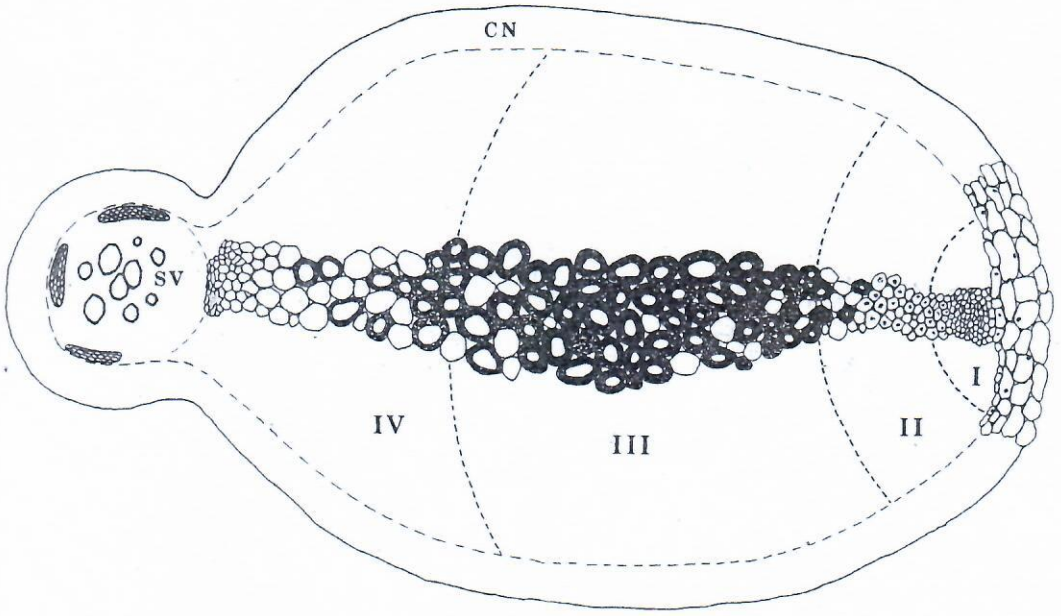


FIG. 5.7. – Schéma d'une section longitudinale d'un nodule (type pois) (CN = cortex nodulaire ; I = zone méristématique ; II = zone d'accroissement cellulaire et d'invasion ; III = zone bactérienne fixatrice ; IV = zone de dégénérescence).