

Chapitre II : La microbiologie du sol

- Spécificité de l'écosystème tellurique
- La microflore du sol : principaux groupements microbiens
- Interactions avec la faune, les eaux et les végétaux
- La fixation d'azote : symbiose légumineuses-Rhizobium

La microbiologie du sol est l'une des sous-disciplines les plus anciennes de la microbiologie environnementale. Les sols jouent un rôle clé dans le système de survie sur la Terre. Une combinaison de facteurs physiques, chimiques et biologiques joue un rôle dans leur formation.

Le sol est une fine couche de matière qui recouvre une grande partie de la surface de la Terre. Cette partie mesure souvent moins d'un mètre d'épaisseur, mais est pourtant absolument vitale pour la vie humaine. Il a un parfum, une texture riche et regorge de plantes, d'insectes et de micro-organismes. Il est décrit comme « le biomatériau le plus complexe de la planète ». La complexité du sol dépend de deux éléments : la structure **abiotique** du sol et la **diversité biotique** qui est soutenue par de grandes quantités d'énergie solaire à travers la photosynthèse. L'intégration de ces deux composants ensemble entraîne une étonnante hétérogénéité physique, chimique et biologique parmi les sols du monde entier.

La partie **abiotique** de tous les sols est constituée de particules inorganiques de différentes tailles, notamment du sable, du limon et de l'argile. Non seulement les gammes de tailles sont différentes, mais les formes et la morphologie de ces particules diffèrent également. Il en résulte différentes surfaces spécifiques des particules, les argiles plus petites ayant des surfaces par unité de masse plus grandes que les limons et les sables. La superficie a à son tour un impact sur la chimie de surface du sol en question, ainsi que sur les taux de réactions et de transformations chimiques.

| Particules inorganiques | Diamètre |
|-------------------------|-----------------------|
| Sable | 0,05 à 2 mm |
| Limon | 0,002 à 0,05 mm |
| Argile | 0,002 mm (2 μ m) |

Les sols contiennent également des composants **biotiques** (par exemple, végétation, résidus en décomposition, humus stable du sol et organismes du sol), qui **ajoutent** à la complexité et à l'architecture de la matrice du sol. La croissance végétative des plantes prend son origine dans les sols et, après la mort des plantes, la végétation organique sénescente est renvoyée dans le sol où elle est dégradée par les micro-organismes hétérotrophes du sol. Les nutriments libérés lors de la dégradation sont utilisés par les microbes du sol et par la nouvelle végétation. Les substrats inorganiques tels que l'ammonium, le nitrate ou le sulfate sont sujets à des transformations microbiennes autotrophes. Certains résidus organiques sont incorporés à la

structure organique des sols, appelée **humus**. La dégradation des substrats organiques entraîne également la formation de gommages et de boues microbiennes qui, associées aux hyphes fongiques, améliorent le processus de liaison des particules inorganiques primaires en agrégats secondaires. Les populations microbiennes prolifèrent dans le sol, avec des milliards de bactéries et de champignons coexistant à proximité. D'autres entités biologiques comprennent les phages et les protozoaires qui jouent un rôle important dans le contrôle des populations bactériennes. Les populations microbiennes interviennent dans d'innombrables transformations biochimiques au sein des sols. Malgré leur très grand nombre, les microbes occupent moins de 1 % de la surface totale du sol, soit à peu près la même superficie terrestre occupée par les humains.

Les estimations de la diversité du nombre d'espèces bactériennes dans le sol vont de $2 \cdot 10^3$ à $8,3 \cdot 10^6$ par gramme de sol selon les méthodologies utilisées. Quelle que soit la véritable estimation, la diversité microbienne dans le sol est clairement énorme et a un impact considérable sur la santé des sols et, en fin de compte, sur la santé humaine.

Interactions

Souvent, la survie d'une espèce bactérienne donnée dépend de la capacité des cellules bactériennes individuelles au sein de cette population à communiquer entre elles et/ou entre elles et d'autres organismes. Ces autres organismes comprennent des bactéries non apparentées, des organismes partageant la même niche écologique ou des hôtes eucaryotes, notamment des plantes, des nématodes, des insectes, des animaux et des humains.

Les micro-organismes du sol (bactéries, champignons, protozoaires) interagissent avec la matière organique, les particules minérales, l'eau et les gaz, composants majeurs de cet écosystème complexe. Ils jouent un rôle clé dans le cycle des nutriments et affectent la qualité du sol en minéralisant les nutriments des plantes, en améliorant la structure du sol, en transformant les résidus végétaux en matière organique et en dégradant les composés toxiques des sols, en particulier les pesticides chimiques utilisés dans l'agriculture moderne. Les communautés microbiennes de la rhizosphère entrent dans des associations symbiotiques ou mycorhiziennes avec les racines des plantes, conduisant à la promotion de la croissance des plantes. D'autre part, les agents pathogènes fongiques et bactériens sont à l'origine de maladies des plantes entraînant une diminution du rendement des cultures agricoles. En raison de graves préoccupations pour la santé humaine et animale et pour l'environnement, des tentatives sont faites pour utiliser des agents de contrôle microbien ou des biopesticides à la place des pesticides chimiques pour lutter contre les maladies des plantes, les nématodes ou les insectes. Le biopesticide le plus efficace commercialisé pour lutter contre les insectes est *Bacillus thuringiensis*, qui produit une toxine mortelle pour les insectes nuisibles. Malheureusement, les sols deviennent les réceptacles d'un large éventail de substances toxiques, d'agents pathogènes et de parasites en raison des activités humaines, notamment les pratiques agricoles, les opérations industrielles et minières et

l'élimination des déchets liquides et solides. Concernant la contamination des sols par des déchets dangereux, les recherches actuelles portent sur la biorestauration des sols qui consiste à améliorer la capacité de biodégradation des micro-organismes indigènes du sol ou à utiliser des micro-organismes génétiquement modifiés.

Bactéries

Les bactéries sont presque toujours les organismes les plus nombreux dans la surface des sols. Les nombres cultivables varient en fonction des conditions environnementales spécifiques, en particulier de l'humidité et de la température du sol. Les bactéries cultivables peuvent atteindre 10^7 à 10^8 cellules par gramme de sol, alors que les populations totales (y compris les organismes viables mais non cultivables) peuvent dépasser 10^{10} cellules par gramme. Dans les sols insaturés, les bactéries aérobies sont généralement deux ou trois fois plus nombreuses que les anaérobies. Les populations anaérobies augmentent avec la profondeur du sol, mais prédominent rarement à moins que les sols ne soient saturés et/ou obstrués.

Bactéries dominantes du sol cultivables

| Organisme | Caractéristiques | Fonction |
|---------------------|--|---|
| <i>Arthrobacter</i> | Hétérotrophe, aérobie, Gram variable. Jusqu'à 40% des bactéries cultivables dans le sol. | Cycle des nutriments et biodégradation. |
| <i>Streptomyces</i> | Actinomycètes Gram positifs, hétérotrophes et aérobies. 5 - 20% des bactéries cultivables. | Cycle des nutriments et biodégradation. Production d'antibiotiques |
| <i>Pseudomonas</i> | Hétérotrophe Gram négatif. Aérobie ou anaérobie facultative. Posséder un large éventail de systèmes enzymatiques. 10 - 20% des bactéries cultivables . | Cycle des nutriments et biodégradation, y compris les matières organiques récalcitrantes. Agent de biocontrôle. |
| <i>Bacillus</i> | Hétérotrophe aérobie à Gram positif. Produire des endospores. 2 - 10% des bactéries cultivables du sol. | Cycle des nutriments et biodégradation. Agent de lutte biologique, par exemple <i>Bacillus thuringiensis</i> . |

Exemples de bactéries autotrophes importantes du sol

| Organisme | Caractéristiques | Fonction |
|-----------------------------------|------------------------------------|---|
| <i>Nitrosomonas</i> | Gram négatif, aérobie | Convertit NH_4^+ en NO_2^- (première étape de nitrification) |
| <i>Nitrobacter</i> | Gram négatif, aérobie | Convertit le NO_2^- en NO_3^- (deuxième étape de nitrification) |
| <i>Thiobacillus</i> | Gram négatif, aérobie | Oxyde S en SO_4^{2-} (oxydation du soufre) |
| <i>Thiobacillus denitrificans</i> | Gram négatif, anaérobie facultatif | Oxyde S en SO_4^{2-} ; fonctionne comme un dénitrifiant |
| <i>Thiobacillus ferrooxidans</i> | Gram négatif, aérobie | Oxyde Fe^{2+} en Fe^{3+} |

Exemples de bactéries hétérotrophes importantes du sol

| Organisme | Caractéristiques | Fonction |
|--|------------------------------------|--|
| Actinomycètes, exemple, <i>Streptomyces</i> | Gram positif, aérobie, filamenteux | Produire de la géosmine à « odeur terreuse » et des antibiotiques |
| <i>Bacillus</i> | Gram positif, aérobie, sporulé | Cycle du carbone, production d'insecticides et d'antibiotiques |
| <i>Clostridium</i> | Gram positif, anaérobie, sporulé | Cycle du Carbone (fermentations), production de toxines |
| Méthanotrophes, exemple, <i>Methylosinus</i> | Gram négatif, aérobie | Oxydants de méthane et qui peuvent co-métaboliser le trichloroéthène (cancérigène) en utilisant la méthane monooxygénase |
| <i>Rhizobium</i> | Gram négatif, aérobie | Fixe l'azote en symbiose avec les légumineuses |
| <i>Frankia</i> | Gram positif, aérobie | Fixe l'azote en symbiose avec des non-légumineuses |
| <i>Agrobacterium</i> | Gram négatif, aérobie | Agent pathogène végétal important, provoque la maladie de la galle du collet |

Champignons

Les champignons autres que les levures sont aérobies et sont abondants dans la plupart des sols superficiels. Le nombre de champignons varie généralement de 10^5 à 10^6 par gramme de sol. Malgré leur nombre inférieur à celui des bactéries, les champignons contribuent généralement à une proportion plus élevée de la biomasse microbienne totale du sol. Cela est dû à leur taille relativement grande ; un hyphes fongique peut avoir un diamètre de 2 à 10 μm . En raison de leur grande taille, les champignons sont plus ou moins limités aux régions inter-agrégatives de la matrice du sol. Les levures peuvent avoir un métabolisme anaérobie (fermentation) et sont moins nombreuses que les champignons aérobies mycéliens. Généralement, les levures se trouvent à des populations allant jusqu'à 10^3 par gramme de sol. En raison de leur dépendance à l'égard de sources organiques comme substrats de croissance, les populations fongiques sont plus importantes à la surface (horizons O et A) et leur nombre diminue rapidement avec l'augmentation de la profondeur du sol. Comme pour les bactéries, les champignons du sol se trouvent normalement associés aux particules du sol ou dans les rhizosphères végétales.

Les champignons sont des composeurs importants du sol en ce qui concerne le cycle des nutriments et notamment la décomposition de la matière organique, à la fois simple (sucres) et complexe (polymères comme la cellulose et la lignine). Le rôle des champignons dans la décomposition est de plus en plus important à mesure que le pH du sol diminue, car les champignons ont tendance à être plus tolérants aux acides que les bactéries. Certains des genres courants de champignons du sol impliqués dans le cycle des éléments nutritifs sont *Penicillium* et *Aspergillus*. Ces organismes jouent également un rôle important dans le développement de

la structure du sol, car ils piègent physiquement les particules du sol avec des hyphes fongiques. En plus d'être essentiels à la dégradation de polymères végétaux complexes tels que la cellulose et la lignine, certains champignons peuvent également dégrader diverses molécules polluantes. D'autres champignons, tels que *Fusarium* spp., *Pythium* spp. et *Rhizoctonia* spp., sont d'importants agents pathogènes des plantes.

Enfin, notez que les champignons mycorhiziens sont essentiels à l'établissement d'interactions plantes-champignons qui agissent comme une extension du système racinaire de presque toutes les plantes supérieures. Sans ces associations mycorhiziennes, la croissance des plantes telle que nous la connaissons serait impossible.

Algues

Les algues sont généralement phototrophes et devraient donc croître en présence d'une source d'énergie lumineuse et de CO₂ pour le carbone. Par conséquent, on pourrait s'attendre à trouver des cellules d'algues principalement dans les zones où la lumière du soleil peut pénétrer, à la surface même du sol. Cependant, on peut effectivement trouver des algues jusqu'à une profondeur de 1 mètre car certaines algues, notamment les algues vertes et les diatomées, peuvent se développer de manière hétérotrophe ainsi que photoautotrophe. Cependant, en général, les populations d'algues sont plus élevées dans les 10 cm de surface du sol. Les populations d'algues typiques proches de la surface du sol peuvent varier de 5 10³ à 10⁴ par gramme de sol, mais là où une prolifération d'algues visible s'est développée, il peut y avoir des millions de cellules d'algues par gramme de sol. Les algues sont souvent les premières à coloniser les surfaces d'un sol dépourvues de matière organique préformée. La colonisation par ce groupe de microbes est importante dans l'établissement des processus de formation des sols, en particulier dans les zones volcaniques arides, les sols désertiques et les parois rocheuses.

Les populations d'algues du sol présentent généralement des variations saisonnières, les chiffres étant les plus élevés au printemps et à l'automne. En effet, la dessiccation provoquée par le stress hydrique a tendance à supprimer la croissance en été et le stress dû au froid affecte la croissance en hiver. Quatre grands groupes d'algues se trouvent dans le sol :

- **Les algues vertes** sont les algues les plus répandues dans les sols acides ;
- **Les diatomées** sont également largement répandues et se trouvent principalement dans les sols neutres et alcalins ;
- **Les algues jaune-vert et les algues rouges** sont moins nombreuses.

À ces groupes d'algues s'ajoutent les cyanobactéries (tels que *Nostoc* et *Anabaena*), qui sont en réalité classées parmi les bactéries mais qui présentent de nombreuses caractéristiques communes avec les algues. Les cyanobactéries participent au processus de formation du sol évoqué dans le paragraphe précédent, et certaines cyanobactéries ont également la capacité de fixer l'azote, un nutriment habituellement limitant dans un environnement aride. Dans les sols tempérés, l'abondance relative des principaux groupes d'algues suit

l'ordre **algues vertes** > **diatomées** > **cyanobactéries** > **algues jaune-vertes**. Dans les sols tropicaux, les cyanobactéries prédominent.

Protozoaires

Les protozoaires sont des organismes eucaryotes unicellulaires mesurant jusqu'à 5,5 mm de longueur, bien que la plupart soient beaucoup plus petits. La plupart des protozoaires sont hétérotrophes et survivent en consommant des bactéries, des levures, des champignons et des algues. Il existe des preuves qu'ils pourraient également être impliqués, dans une certaine mesure, dans la décomposition de la matière organique du sol. En raison de leur grande taille et de leur besoin d'un grand nombre de microbes plus petits comme source de nourriture, les protozoaires se trouvent principalement dans les 15 à 20 premiers cm du sol. Les protozoaires sont généralement concentrés près de la surface des racines qui abritent de fortes densités de bactéries ou d'autres proies. Les protozoaires du sol sont plus plats et plus flexibles que les protozoaires aquatiques, ce qui facilite leur déplacement dans les fines pellicules d'eau qui entourent la surface des particules du sol ainsi que leur déplacement dans les petits pores du sol. Il existe trois grandes catégories de protozoaires : les flagellés, les amibes et les ciliés. Le nombre de protozoaires signalés varie de 3×10^4 par gramme de sol provenant d'un sol tempéré non agricole à $3,5 \times 10^5$ par gramme de sol provenant d'un champ de maïs à $1,6 \times 10^6$ par gramme de sol provenant d'une zone subtropicale.

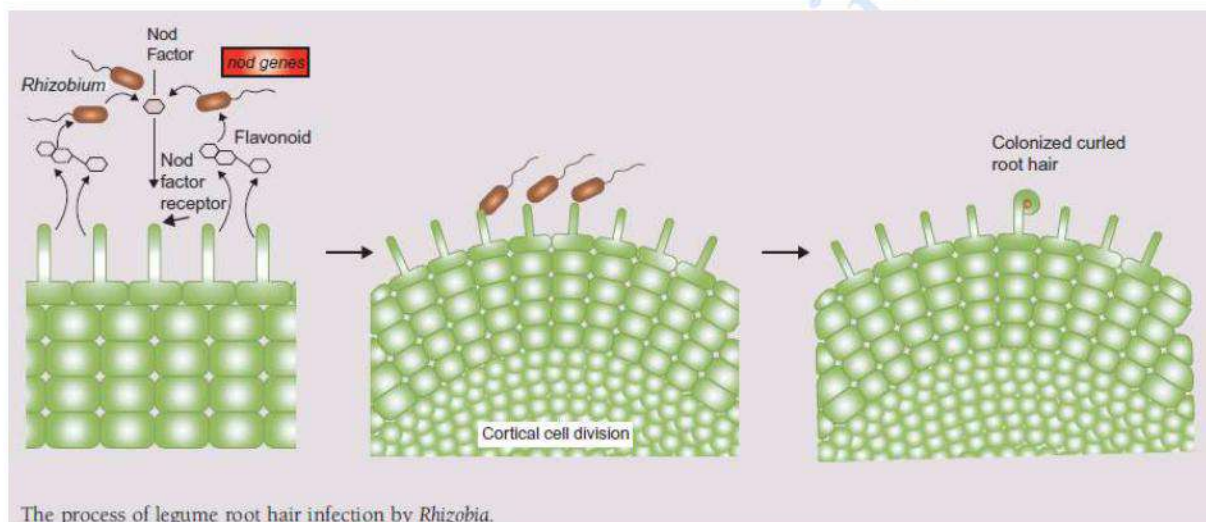
Fixation de l'azote

L'azote est fixé en ammoniac (NH_3) par plus de 100 bactéries libres différentes, aérobies et anaérobies, ainsi que par certains actinomycètes (bactéries filamenteuses) et cyanobactéries. Par exemple, *Azotobacter* (aérobie), *Beijerinckia* (aérobie), *Azospirillum* (facultatif) et *Clostridium* (anaérobie) peuvent tous fixer le N_2 . Étant donné que tous les organismes biologiques ont besoin d'azote fixé, les organismes fixateurs d'azote sont présents dans la plupart des niches environnementales. La quantité de N_2 fixée dans chaque niche dépend de l'environnement. Les cellules bactériennes libres qui ne se trouvent pas à proximité des racines des plantes fixent de petites quantités d'azote (1 à 2 kg N/hectare/an). Les cellules bactériennes associées à l'environnement rhizosphérique riche en nutriments peuvent fixer de plus grandes quantités de N_2 (2 à 25 kg N/hectare/an). Les cyanobactéries sont les organismes fixateurs de N_2 prédominants dans les environnements aquatiques et, comme elles sont photosynthétiques, les taux de fixation de N_2 sont d'un à deux ordres de grandeur plus élevés que ceux des bactéries libres non photosynthétiques. Les taux les plus élevés de fixation de N_2 ont été constatés lors de l'association symbiotique entre les plantes et les microbes. La mieux étudiée de ces symbioses est la relation *Rhizobium*-légumineuse, qui peut augmenter la fixation de N_2 jusqu'à 200 à 300 kg N/hectare/an.

La formation de nodules racinaires sur le système racinaire de la plante hôte est le résultat d'interactions subtiles entre l'hôte et l'endosymbiote *Rhizobium*. La plante libère des composés phénoliques spécifiques aux bactéries appelés **flavonoïdes** qui, à leur tour, signalent aux *Rhizobium* de produire des composés lipochitoooligosaccharides spécifiques à la plante appelés **facteurs Nod**. Les facteurs Nod activent une série de

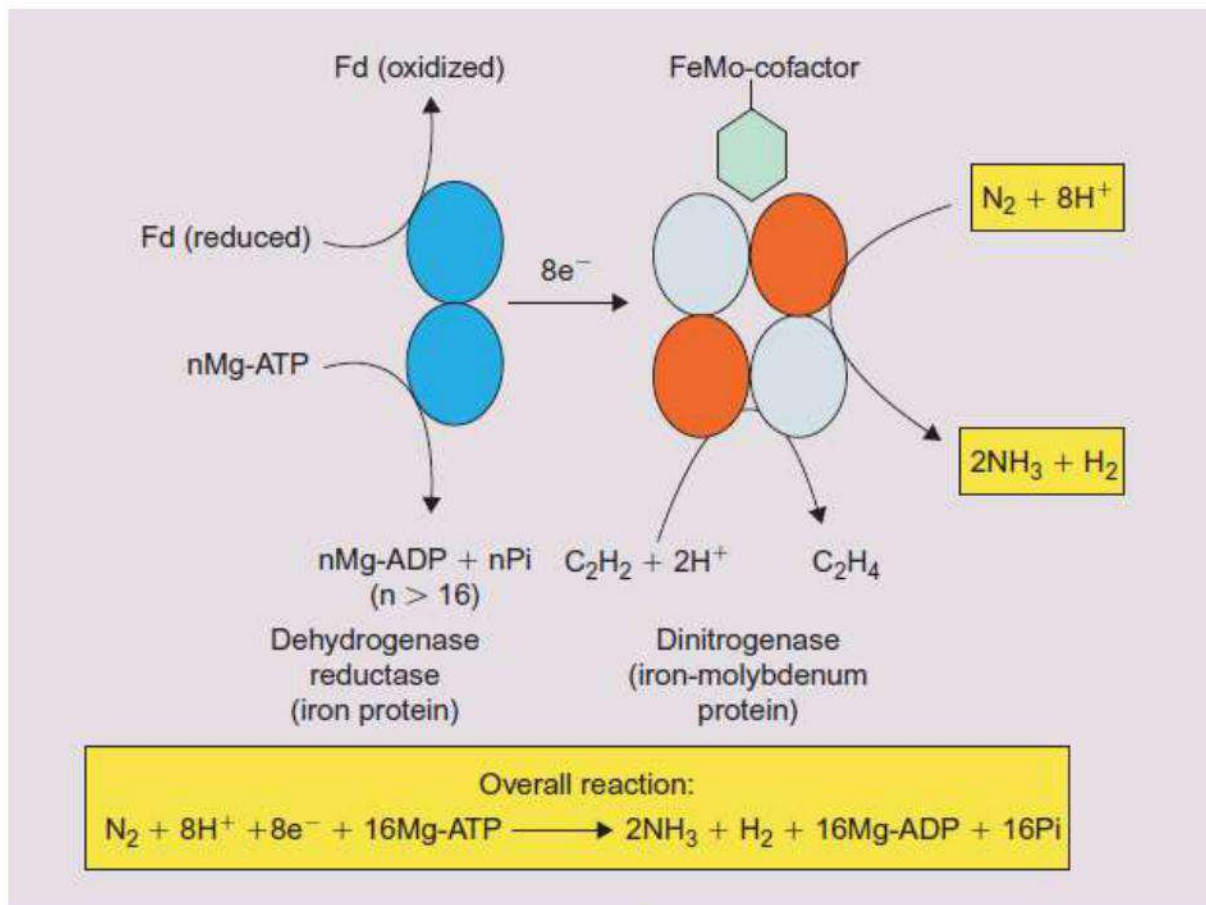
réponses de la plante hôte qui préparent la plante à former des **fil d'infection** que les bactéries envahissantes utilisent pour pénétrer dans la plante. Le fil d'infection est un mince tubule qui pénètre dans le **cortex végétal**.

À mesure que les *Rhizobium* sont libérés du fil d'infection, une division cellulaire se produit et un nodule racinaire visible commence à apparaître (1 à 2 semaines après l'infection). Dans le nodule racinaire, les *Rhizobium* grossissent et s'allongent jusqu'à peut-être cinq fois leur taille normale et changent physiologiquement pour prendre des formes connues sous le nom de **bactéroïdes**. Ces derniers vont produire la **nitrogénase** ; enzyme qui catalyse la réduction de l'azote gazeux en ammoniac. Toutefois, elle est inhibée par l'oxygène d'où la présence obligatoire dans le nodule, de mécanismes qui diminuent la teneur en oxygène à proximité de la nitrogénase. Ce rôle de protection est assuré par la **légghémoglobine**. La légghémoglobine confère une couleur rose à l'intérieur du nodule et indique une fixation active de l'azote. Ainsi, l'examen de l'intérieur d'un nodule permet de déterminer instantanément si le nodule est actif. Avant la fin de la saison de croissance, les nodules commencent à se décomposer ou à sénescer ; dans ce cas ils apparaissent blancs, verts ou bruns.



Le complexe enzymatique nitrogénase, présenté ci-dessous, est au cœur de la fixation biologique de l'azote. Le complexe azoté global se compose de deux composants protéiques, eux-mêmes constitués de plusieurs sous-unités. On pense que la protéine de fer appelée **dinitrogénase réductase** fonctionne dans la réduction de la protéine molybdène-fer appelée **dinitrogénase**, qui réduit l'azote gazeux en ammoniac.

La dinitrogénase réductase et la dinitrogénase forment un complexe au cours duquel un électron est transféré et les deux MgATP sont hydrolysés en MgADP + phosphate inorganique (Pi). Les deux protéines se dissocient alors et le processus se répète. Une fois que la protéine dinitrogénase a collecté suffisamment d'électrons, elle se lie à une molécule d'azote gazeux et la réduit, produisant de l'ammoniac et de l'hydrogène gazeux. Ainsi, lors de la réduction d'une molécule de N₂, les deux protéines doivent se complexer puis se dissocier au total huit fois. Il s'agit de l'étape limitante du processus et prend un temps considérable.



Dans le système biologique fixateur de N_2 , les conditions optimales pour la catalyse biologique correspondent à une pression de 0,2 à 1,0 atm de N_2 et une température de 30-35 °C, alors que les conditions pour la catalyse industrielle sont très sévères : pression de 250-1000 atm de N_2 et température de 450 °C.