

Chapitre 4 : Approches expérimentale et analytique du rôle de la microflore bactérienne dans la dynamique des cycles du carbone et de l'azote

1. Introduction générale

La microflore bactérienne du sol joue un rôle central dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres. Elle est essentielle à la transformation et à la circulation des éléments nutritifs majeurs, notamment le carbone (C) et l'azote (N). Par leurs fonctions métaboliques, les bactéries interviennent dans la décomposition de la matière organique, la minéralisation, la nitrification, la dénitrification et la fixation d'azote atmosphérique.

2. Rôles de la microflore bactérienne dans les cycles du carbone (C) et de l'azote (N) :

2.1. Cycle du carbone et microflore bactérienne

a. Dégradation de la matière organique

Les bactéries participent activement à la décomposition de la litière végétale (cellulose, hémicellulose, lignine), libérant du CO₂, des nutriments et des composés organiques stabilisés (humus). Cette décomposition alimente également d'autres microorganismes.

b. Respiration microbienne

Les bactéries hétérotrophes utilisent le carbone organique comme source d'énergie, produisant du CO₂. Ce processus, appelé respiration microbienne, est un indicateur de l'activité biologique du sol et peut être mesuré en laboratoire.

c. Séquestration vs minéralisation

- La séquestration du carbone se fait via l'incorporation de matière organique stable dans le sol.
- La minéralisation, au contraire, libère le CO₂ dans l'atmosphère.

L'équilibre entre ces deux processus dépend largement de l'activité microbienne et des conditions environnementales.

2.3. Cycle de l'azote et microflore bactérienne

a. Fixation biologique de l'azote

Certaines bactéries, comme *Rhizobium* (symbiotiques) et *Azotobacter* (libres), transforment le diazote (N₂) atmosphérique en ammoniac (NH₃), une forme assimilable par les plantes. Cette étape est cruciale dans les écosystèmes pauvres en azote.

b. Ammonification

La décomposition des protéines et des acides aminés organiques par les bactéries libère de l'ammonium (NH₄⁺). Ce processus est essentiel pour recycler l'azote organique.

c. Nitrification

Le NH_4^+ est oxydé en nitrite (NO_2^-) par Nitrosomonas, puis en nitrate (NO_3^-) par Nitrobacter. Le nitrate est une forme d'azote très mobile et assimilable par les plantes.

d. Dénitrification

En conditions anaérobies, des bactéries telles que Pseudomonas ou Paracoccus réduisent le nitrate en gaz (N_2 , N_2O). Ce processus libère de l'azote dans l'atmosphère et peut contribuer aux émissions de gaz à effet de serre (N_2O).

2.4. Interactions et impact écosystémique

La diversité et la structure des communautés bactériennes du sol sont influencées par :

- Le type de sol
- La végétation
- Le pH
- L'humidité
- Les pratiques agricoles

La résilience des fonctions microbiennes face aux perturbations (sécheresse, pollution, changement climatique) est un facteur critique dans la régulation à long terme des cycles biogéochimiques.

3. Approches expérimentales et analytiques du rôle de la microflore bactérienne dans les cycles du carbone (C) et de l'azote (N)

La microflore bactérienne joue un rôle fondamental dans les cycles biogéochimiques du carbone (C) et de l'azote (N).

Elle intervient dans des processus clés tels que la **décomposition de la matière organique**, la **respiration**, la **fixation de l'azote**, la **nitrification** et la **dénitrification**. Ces activités influencent directement la **fertilité des sols**, le **stockage de carbone**, et les **émissions de gaz à effet de serre**.

Les cycles biogéochimiques du carbone (C) et de l'azote (N) jouent un rôle central dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres. La microflore bactérienne est un acteur clé de ces cycles, notamment par sa capacité à transformer, minéraliser et immobiliser les éléments nutritifs. L'étude du rôle de la microflore dans ces cycles repose sur des approches expérimentales et analytiques spécifiques, permettant de caractériser sa taille, sa diversité, son activité et son rôle dans la décomposition de la matière organique.

La microflore bactérienne joue un rôle fondamental dans les cycles biogéochimiques du carbone (C) et de l'azote (N).

Elle intervient dans des processus clés tels que la **décomposition de la matière organique**, la **respiration**, la **fixation de l'azote**, la **nitrification** et la **dénitrification**.

Ces activités influencent directement la fertilité des sols, le stockage de carbone, et les émissions de gaz à effet de serre.

3.1. Approches expérimentales

3.1.1 Évaluation de la taille des communautés microbiennes :

La taille des communautés microbiennes dans le sol peut être estimée par différentes méthodes :

Méthodes principales :

- **Méthode de fumigation-extraction** : Estimation du carbone microbien (Vance et al., 1987).
- **Méthode de fumigation-incubation** : Estimation de la biomasse microbienne active (Jenkinson & Powlson, 1976).
- **Analyse des acides gras phospholipidiques (PLFA)** : Permet d'estimer la biomasse microbienne et de différencier les groupes microbiens (bactéries, champignons...).

3.1.2 Évaluation de la diversité microbienne

La diversité microbienne est essentielle pour comprendre les fonctions écosystémiques associées. Les principales techniques sont :

Méthodes moléculaires :

- **qPCR (quantitative PCR)** : Quantification des gènes fonctionnels liés aux cycles biogéochimiques (nifH, amoA...).
- **PCR-DGGE / TTGE** : Profils de diversité microbienne basés sur la mobilité des fragments d'ADN.
- **Séquençage 16S rRNA / Métagénomique shotgun** : Identification fine des taxons microbiens.
- **Métatranscriptomique** : Analyse des gènes activement exprimés.

3.1.3 Évaluation de l'activité microbienne

L'activité microbienne renseigne sur la dynamique des transformations du C et du N. Elle est évaluée par :

Méthodes :

- **Mesure de la respiration microbienne** : Par IRGA, titrimétrie, ou mesures du CO₂ émis.
- **Activité enzymatique du sol : Enzymes clés :**
 - β -glucosidase (dégradation du C)
 - Uréase, nitrate réductase (cycle de l'azote)
- **Utilisation d'isotopes stables (13C, 15N)** : Suivi de l'incorporation du C/N dans la biomasse microbienne ou les produits métaboliques.

3.1.4 Étude de la dégradation des litières

La décomposition de la litière végétale est une étape cruciale dans le recyclage du C et du N

La litière désigne les matières organiques mortes tombées au sol (feuilles, tiges, racines, etc.). Sa dégradation est essentielle pour :

- Recycler les nutriments (N, P, C)
- Libérer du CO₂ (via respiration)
- Enrichir le sol en humus

Étapes de la décomposition microbienne

Phase	Description	Micro-organismes
Phase initiale	Dégradation des composés solubles (sucres, acides organiques)	Bactéries hétérotrophes
Phase intermédiaire	Dégradation de la cellulose, hémicellulose	Bactéries et champignons cellulolytiques
Phase tardive	Dégradation de la lignine (très résistante)	Champignons ligninolytiques, actinobactéries

Facteurs influençant la vitesse de décomposition

Facteurs abiotiques : température, humidité, pH, texture du sol, oxygénation.

Facteurs biotiques : composition chimique de la litière, biodiversité microbienne, faune du sol.

Techniques expérimentales : Les approches utilisées incluent :

- **Sacs à litière ("litter bags") :** sachets en maille avec litière standardisée, récoltés dans le temps. Mesure de la perte de masse, C/N résiduel, taux de décomposition.

- **Spectroscopie IR et RMN :** Identification des fractions organiques (lignine, cellulose...).

- **HPLC / GC-MS :** Analyse des métabolites et produits de dégradation (acides phénoliques, sucres...).

- **Marquage isotopique (ex. ¹³C-lignine) :** Traçage du devenir des composés organiques dans la chaîne trophique microbienne.

Résumé :

Objectif	Méthodes	Références clés
Taille microbienne	Fumigation, PLFA	Vance et al. (1987), Zelles (1999)
Diversité microbienne	qPCR, 16S rRNA, Métagénomique	Caporaso et al. (2012), Philippot et al. (2009)
Activité microbienne	CO ₂ , enzymes, isotopes	Schimel & Bennett (2004), Blagodatskaya (2013)
Dégradation des litières	Litter bags, GC-MS, isotopes	Berg & McLaugherty (2014), Prescott (2010)

3.2. Approches analytiques :

3.2.1 Analyses biochimiques des transformations du C et du N :

- Quantification du carbone organique : combustion sèche, méthode Walkley-Black.
- Analyse de l'azote total et minéral : distillation de Kjeldahl, extraction KCl.

3.2.2 Suivi des transformations microbiennes par isotopes stables

- Isotopes stables ¹³C et ¹⁵N : pour tracer les flux de C et de N.
- Techniques : IRMS, GC-IRMS, EA-IRMS.

3.2.3 Approches statistiques et modélisation

- Biostatistique : ACP, NMDS, analyses multivariées.
- Réseaux d'interactions microbiennes : données de séquençage.
- Modèles : DNDC, STELLA, CENTURY.

3.2.4. Métabolomique et spectroscopies

- Spectroscopie RMN et FTIR : analyse des structures organiques.
- GC-MS / HPLC : détection des métabolites issus de la dégradation.

Principes et objectifs des Approches expérimentale et analytique du rôle de la microflore bactérienne dans la dynamique des cycles du du l'azote

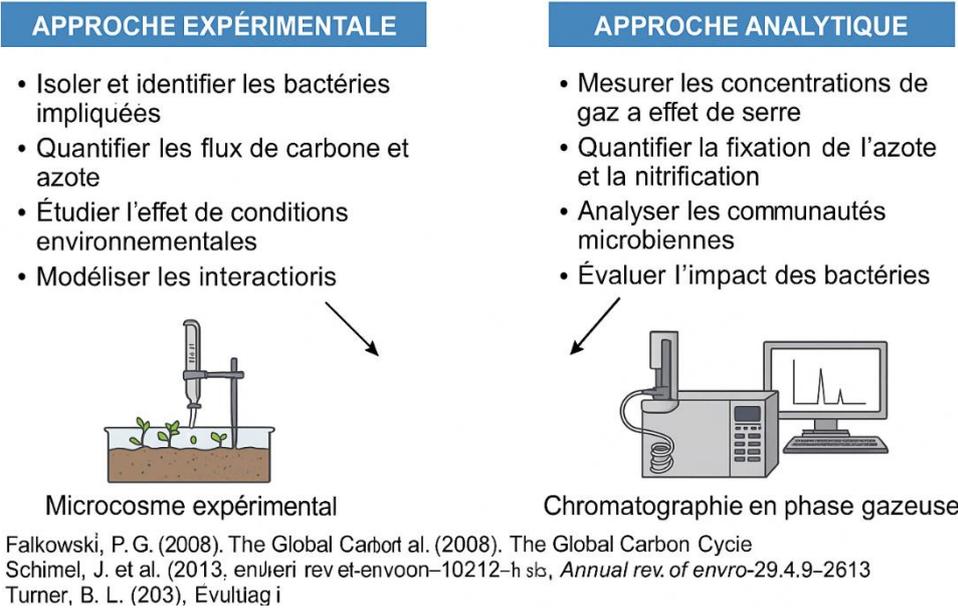


Figure : illustration qui montre les interactions bactériennes dans les cycles du carbone et de l'azote