
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Institut des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Présentée par :

Melle. OUZZANI Amina

Isolement et identification de la microflore du compost

Encadrant :

Dr. Cherif Nadjib

Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu le 18 / 07 /2021

Devant le jury composé de :

Président: Dr Ziane Mohammed

MCA C.U.B.B.A.T.

Examineurs: Mr Mouedden Riad

MAA C.U.B.B.A.T.

Encadrant : Dr Cherif Nadjib

MCB C.U.B.B.A.T.

Remerciements

A la fin de ce travail, il m'est agréable de remercier de nombreuses personnes qui grâce à leur aide, ce travail a pu voir le jour. Je remercie en premier lieu, Mr **Cherif Nadjib** Maître de conférences au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'universitaire d'Ain Témouchent pour avoir accepté de diriger ce travail, mais aussi pour ses conseils, son aide et ses encouragements durant toutes les étapes de réalisation de ce travail.

Un grand merci à membres des jurys

Mr Ziane Mohammed pour avoir accepté de présider le jury

Mr Mouedden Riad pour avoir bien accepté d'examiner ce mémoire.

Mr Ziane Mohammed pour son sympathique aide.

Mes remerciements vont également à l'ensemble de l'équipe des laboratoires pédagogiques de la faculté ; **M^{me}Chokria** et **Mr Tebress** et **Mme Ghorzi Hafida** Collègue de travail pour Leur aide précieuse.

Je remercie vivement mes collègues de travail à Direction du commerce de la willaya Ain Témouchent et toute la promo de Master II Microbiologie appliqué.

Toutes personnes qui ouvrent pour la science.

Dédicaces

A l'aide de Dieu de j'ai réalisé ce modeste travail que je dédie :

A la mémoire de mon très chère père et ma tante Halima qui sont partie en me laissant sa bénédictions que le bon Dieu l'accueillie dans son vaste paradis.

Un grand déclin devant la bienveillance, de l'assistance et d'amour de ma chère mère source de bonheur et de confort.

A mes chères frères : Lotfi, Ahmed ,Toufik et Mohamed.

A mes chères sœurs :Nadjet,Bakhta et Latifa.

A mes chères belle sœurs : Sameh, Hayet, Fatiha, Hanane.

A mes beau frères : Said et Abdkader

A mes nièces :Halima,Maram ,Sahaa,Nouha,Yasmin,serin et Nada.

A mes neveux : Rafik, Rayan et Faress.

A tout les membres de la famille Boughazel et Ouazzani.

A ma chère Serier Zohra.

Amina Ouazzani

TABLE DES MATIÈRES

Remerciement	
Dédicace	
Liste d'abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01

Partie I : Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : Généralité sur le compostage

I. Définition	02
II .Le processus de compostage	02
III. L'équilibre dans le composteur	03
IV. Les différents types de compost.....	04
IV.1. Les composts d'origine urbaine	04
IV.2.Les composts d'effluents d'élevage	04
IV.3. Les composts de déchets industriels et agricoles	04
V. Paramètres du compostage	04
V.1.pH.....	04
V.2.Température	05
V.3.Teneur en humidité.....	06
V.4. Rapport Carbone/Azote	07
V.5.Teneur en Matière Organique Total	08
V.6.Apport d'oxygène.....	09
V.7.Granulométrie.....	09

CHAPITRE II : La vie microbienne dans le compost

Et l'avantages du compost

I .La vie microbienne dans le compost.....	11
I.1 . Les champignons	12
I.2. Les bactéries	12
I.3. Les actinomycètes.....	13
I.4. Les macro-organismes	14
II. Avantages du compost	15

Partie II : Matériel et Méthode

I. Origine des échantillons étudiés	16
I.1.Fumier de volaille et de bovins.....	16
I .2.Choix et transport des échantillons	17
II .Analyse microbiologique.....	17
II .1.Technique de dénombrement, d'isolement et d'identification bactérienne.....	18
II .1.1.Préparation des échantillons	18
II .1.2.Préparation des suspensions dilutions	18
II .2.3. Dénombrement et ensemencement.....	19
II .2.4. Purification bactérienne.....	20
II .2.5. Identification	20
*Coloration de Gram.....	20
II.2.Technique de dénombrement d'isolement et d'identification de la microflore fongique	21
II.2.1.Dénombrement et ensemencement.....	21
II.2.2.purification de la microflore fongique	22
II.2.3.Caractères morphologiques	22
* Observation macroscopique	22
II.2.4.Identification	23

Partie III : Résultat et interprétation

1. Dénombrement	24
2. Isolement des souches	24
3. Identification des souches	25
4. Identification de la mycoflore	26
5. Identification microscopique	29
Discussion	35
Conclusion	37

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

LISTE DES ABRÉVIATIONS

DPA : Potato Dextrose Agar

MEA : Malt Extract Agar

GN : gélose nutritive

°C: degré Celsius

% :pour cent

G :gramme

H : heure

N : azote

P : Phosphore

G+ : Gram positive

G- : Gram négative

ml : millilitre

Spp : Espèce non précise

cm : centimètre

mg : milligramme

PH : potentiel d'hydrogène

K : potassium

H% : teneur en eau

NH₃ :d'ammoniac

CO₂ : dioxyde de carbone

H₂O : eau

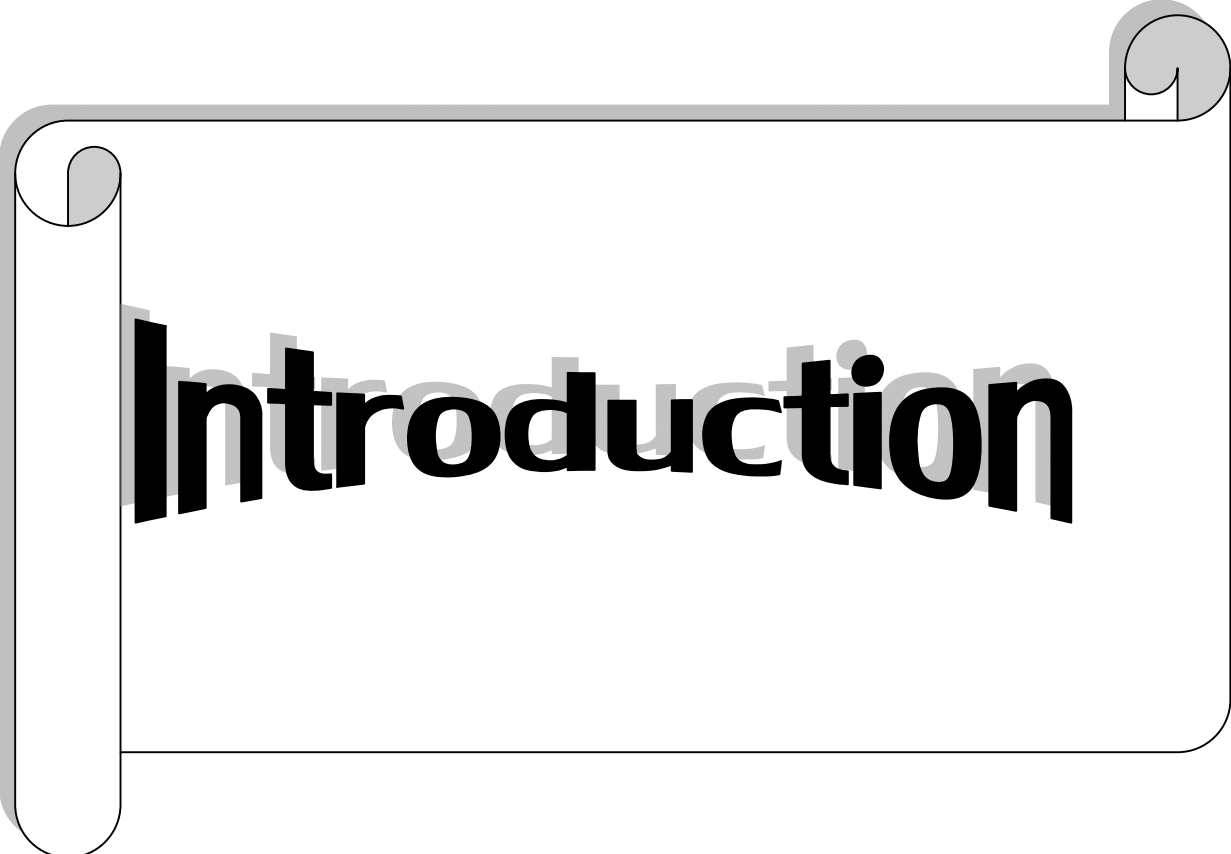
MO : matière organique

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Processus de compostage.....	02
Figure 2 : les différents types de compost	16
Figure 3: Préparation d'échantillon	18
Figure 4: préparation des suspensions dilutions	19
Figure 5 : colonies bactérienne sur boîte pétri pour d'identification	25
Figure 6: Examen microscopique de la coloration de Gram	26
Figure 7: quelque colonies fongiques sur les boîte de pétri	27
Figure 8: Aspect macroscopique des colonies des champignons du compost 4-4-4	28
Figure 9: Aspect macroscopique des colonies des champignons du compost non trait.....	28
Figure 10: Aspect macroscopique des colonies des champignons du compost Bacosol	29
Figure 11: Aspect macroscopique des colonies des champignons du fumier 02 ans.....	29
Figure 12: Examen microscopique des souches fongique	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: La nature des résidus organiques	03
Tableau 2: Température et durée d'exposition nécessaire à la destruction de pathogènes	06
Tableau 3: Rapport C/N de divers substrats.....	08
Tableau 4 : Paramètres de contrôle et de suivi du procédé.....	10
Tableau 5: Flores contribuant au compostage.....	11
Tableau 6: Classification des espèces en fonction des phases du compostage.....	13
Tableau 7: Quantité d'êtres vivants intervenant à un moment ou à un autre pendant le compostage.....	14
Tableau 8: Origine des échantillons étudiés.....	17
Tableau 9 : Nombre de germe revivable par ml.....	24
Tableau 10 : les bactéries retenues ont été soumises aux tests d'identification.....	25
Tableau 11 : l'aspect des colonies et la coloration de Gram pour les différents échantillons étudiés.....	25
Tableau 12 : Caractères de champignons.....	26
Tableau 13 : Les souches fongiques identifiées dans les différents composts.....	30



Introduction

Introduction

Introduction :

La mise en décharge étant interdite pour de nombreux bio-déchets (sauf les déchets ultimes), leur incinération est coûteuse et peu populaire, le compostage devient de plus en plus une solution pratique et simple. Elle présente de nombreux avantages, le principal étant la valorisation des déchets pour la production d'un amendement organique stable.

En effet, le champ d'application du compostage s'est élargi avec l'évolution des techniques de compostage et la problématique de gestion collective des déchets ménagers. Cette filière concerne tous les types de déchets organiques tels que les déchets verts, les bio-déchets ménagers, les boues de stations d'épuration collectives ou industrielles, les déchets agroalimentaires, les effluents d'élevage.

L'amendement d'un sol par le compost ne signifie pas uniquement un apport de matières humifères contenant des composés minéraux, mais aussi un apport de microorganismes vivants.

Des communautés différentes de micro-organismes se succèdent lors du compostage, elles sont constituées majoritairement de bactéries, d'actinomycètes, de champignons (ou Mycètes), de protozoaires ou d'algues (**TUOMELA *et al.*, 2000, HASSEN *et al.*, 2001**).

Les champignons ont la particularité de dégrader plusieurs sources de carbone, surtout les polymères complexes lignocellulosiques (**Miller F. C. (1996)**), les composés polyaromatiques et le plastique et sont de gamme de polluants (**Minussi R. C., de Moraes S. G., Pastore G. M. et Duràn N. (2001)**). En effet, la connaissance de la diversité fongique dans le compost est essentielle pour déterminer son mode d'application optimal, son impact sur la fertilité du sol et pour la préparation du certificat de qualité et des mesures correctives (**Peters S., Koschinsky S., Schwieger F. et Tebbe C. (2000) ; Ryckeboer J., Mergaert J., Vaes K., Klammer S., De Clercq D., Coosemans J., Insam H. et Swings J. (2003) .Anastasi A., Varese G. C. et Marchisio V. F. 2005**).

L'inventaire de la microflore du compost est une étape préliminaire nécessaire avant toute approche de valorisation et d'utilisation du compost comme amendement du sol et source de nutriments pour les plantes.

Ce travail il s'agit de l'isolement et l'identification de la microflore des composts ramené de la région d'Ain Témouchent.



Synthèse bibliographique

I. Définition :

Le compostage est un processus de décomposition et de transformation « contrôlées » de déchets organiques sous l'action de populations microbiennes diversifiées évoluant en milieu aérobie (SHARMA *et al.*, 1997 ; RASTOGI *et al.*, 2011 ; PENG *et al.*, 2013).

Composter correspond donc essentiellement à la production des substances humiques stables dans le produit final et à un recyclage d'une matière organique dont le trajet naturel a été modifié (MUSTIN, 1987 ; INBAR *et al.*, 1990; CIAVATTA *et al.* ; 1993; CHEFETZ *et al.*, 1998 a; OUATMANE, 2000).

Le produit ainsi obtenu est appelé **compost** riche en matière organique (BAYARD *et al.*, 2001; ZNAÏDI, 2002).

II .Le processus de compostage :

Le processus de compostage se réalise en plusieurs phases dont la première est la fermentation : une dégradation rapide de la matière organique fraîche et facilement biodégradable en molécules moins complexes comme les sucres ou les polymères.

La seconde phase, la maturation, plus lente correspond à la mise en jeu des processus d'humification.

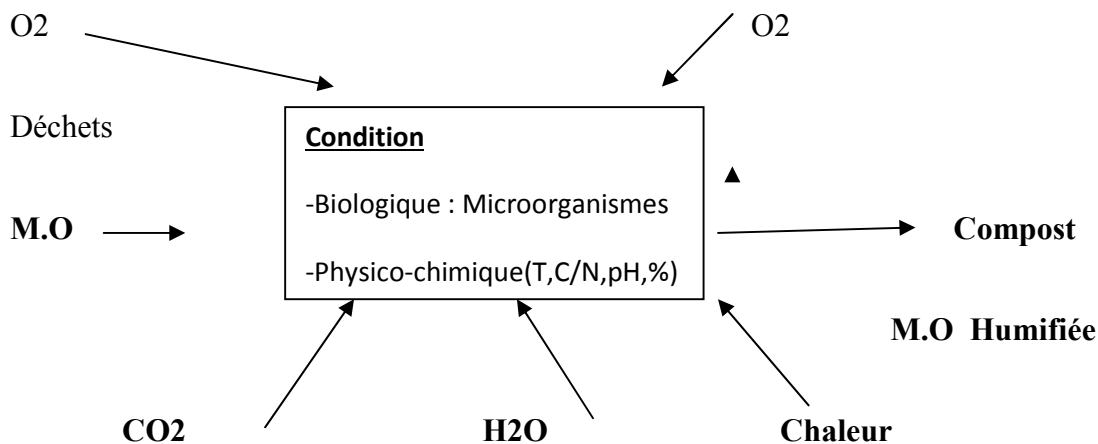


Figure N°01: Processus de compostage

III. L'équilibre dans le composteur :

Un équilibre est nécessaire entre les matières (les verts riches en azote et les bruns riches en carbone) pour obtenir un compost de qualité (NOVA ENVIROCOM, 2002). Le tableau ci-dessous permet de distinguer les matières compostables et celles à éviter.

Tableau N°01: La nature des résidus organiques (NOVA ENVIROCOM, 2002)

Matières riches en azote (Les verts)	Matières riches en carbone (Les bruns)		Matériaux à ne pas composter	
	Restes de fruit	Paille/foin	Serviettes de papier	Cendre de bois
Restes de légumes	Sciures de bois	Pâtes alimentaires, pain	Plante ou feuillage malade	Os
Coquilles d'œufs (calcium)	Papier (préférable de le recycler)	Tissus naturels (lin, laine, cuir, coton, etc.)	Excréments d'animaux : chat ou chien,	Produits laitiers
Fumier mature	Marc de café (filtre inclus)	Litière d'oiseaux, plumes	Briquettes de B.B.Q.	Huile (gras)
Tontes de gazon fraîches	Feuilles d'arbre séchées	Écales de noix, Noyaux	Mauvaise herbe montée en Graine	Plastic
Algues	Cheveux/Ongles	Terre (riche en Minéraux)	Poussière d'aspirateur	Métaux

IV. Les différents types de compost :

Selon l'origine des déchets compostés, on peut distinguer :

IV.1. Les composts d'origine urbaine :

Les composts urbains sont élaborés d'une gamme hétérogène de matériaux compostables pouvant être répartis en cinq catégories : déchets verts, ordures ménagères, ordures ménagères résiduelles, fraction fermentescible et boues de stations d'épuration urbaines.

IV.2. Les composts d'effluents d'élevage :

Le compostage des effluents d'élevage est une pratique courante et ancienne. Le compost le plus courant est celui obtenu à partir de fumier de bovins, mais des composts de fumier d'ovins et de volailles sont également réalisés (LECLERC, 2001).

IV.3. Les composts de déchets industriels et agricoles :

En régions Sahariennes, le compostage des sous-produits du palmier dattier peut constituer une source d'amendement des sols non négligeable pour plusieurs aspects (fertilisation, amélioration de la capacité de rétention en eau des sols, assainissement des palmeraies (ROMANI *et al.*, 2007).

V. Paramètres du compostage :

Les conditions pour un bon développement des activités micro-biologiques doivent être optimisées et leur suivi est indispensable pour évaluer la bonne conduite du compostage et l'obtention d'un produit final de bonne qualité. des paramètres majeurs interviennent en même temps au cours du compostage et non pas séparément (JIMENEZ *et GARCIA*, 1992 a ; BERNAL *et al.*, 1996).

Les principaux paramètres à suivre pendant ce procédé sont les suivants :

V.1.pH :

Le pH des suspensions solides (déchets, compost) varie entre 5 et 9.

Une phase acidogène se produit au début du processus de dégradation : production d'acides organiques et de dioxyde de carbone (CO₂) par les bactéries acidogènes, décomposeurs du matériel carbone complexe, provoquant ainsi une diminution du pH initial.

La seconde phase correspond à une alcalinisation : hydrolyse bactérienne de l'azote avec production d'ammoniac (NH₃) associée à la dégradation de protéines et à la décomposition d'acides organiques (HAUG, 1993 ; MUSTIN, 1987).

Le pH optimal se situe donc vers la neutralité en fonction de la nature du substrat (DAMIEN, 2004). Le suivi du pH est un indicateur du degré de décomposition biologique et biochimique. La première phase acidogène est difficilement observable comme l'indiquent les études de CANET & POMARES (1995) ou celles de SANCHEZ-MONEDERO *et al.* (2001).

V.2. Température

Une température minimale est nécessaire à l'activité des micro-organismes et à la dégradation. VENGLOVSKY *et al.*, (2005) rapportent selon qu'une température supérieure à 55°C permet l'hygiénisation, entre 45°C et 55°C, elle favorise la biodégradation et qu'entre 35°C et 40°C elle améliore la diversité des micro-organismes.

Une température voisine de 20°C ou supérieure à 82°C inhibe, voire arrête cette activité microbienne (LIANG *et al.*, 2003).

Le suivi de la température est une mesure indirecte de l'intensité des dégradations. Il renseigne également sur la qualité du processus de dégradation : un épuisement en oxygène peut ainsi être décelé puis corrigé par des apports complémentaires (retournement).

De plus, ce suivi caractérise au début du processus la qualité du mélange. Les variations des montées en température sont fonction de l'aération et de la composition du substrat. Le Tableau N°02 indique le type de bactéries détruites en fonction de la température atteinte lors du procédé.

Tableau N°02 : Température et durée d'exposition nécessaire à la destruction de pathogènes (NOBLE & ROBERTS, 2003 ; LUCERO-RAMIREZ, 2000 ; GOLUEKE, 1991 dans DEPORTES, 1995).

Type de micro-organismes	Température et durée nécessaire à sa destruction
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4h à 60 °C à 65 °C
<i>Salmonella spp</i>	15-20 min à 60° C ou 1h à 55 ° C
<i>Escherichia coli</i>	15-20 min à 60° C ou 1h à 55 ° C
<i>Taenia saginata</i>	5 min à 71 °C
<i>Shigella spp</i>	1h à 55 °C

Pour obtenir cette hygiénisation du compost, l'U.S.E.P.A (1994) recommande une température de 55 °C au moins pendant 5 jours en compostage à l'air libre.

Dans des réacteurs, la température doit dépasser 60 °C pendant une semaine (ADEME, 1998).

En pratique un produit est dit hygiénisé après 15 jours à une température supérieure à 55 °C ou une semaine à 65 °C pour des systèmes à l'air libre, ou 7 jours en aération forcée pour des températures supérieures à 60 °C (W.R.A.P, 2004). Mais même avec une montée en température suffisante, il existe un risque pour le compost de réinfection dû à l'action de certains pathogènes en état de latence (HAMER, 2003).

V.3. Teneur en humidité :

La teneur en eau (H%) du substrat conditionne l'activité des micro-organismes. La teneur optimale dépend de la densité du milieu, qui est fonction de l'état physique et de la nature du substrat.

Elle est sensible à deux phénomènes ayant des effets complémentaires : d'une part, la dégradation de la matière organique provoquant une libération d'eau et d'autre part,

une évaporation de l'eau sous l'effet de l'énergie calorifique libérée par la fermentation.

La décomposition de la matière organique est inhibée si la teneur en eau baisse en dessous de 20 %. Au contraire, si elle dépasse 70 %, l'eau commence à remplir les espaces lacunaires des déchets et empêche les échanges d'oxygène, provoquant des conditions favorables à l'anaérobiose.

Selon certains auteurs (**TIQUIA *et al.*, 1998 ; HAUG, 1993 ; MUSTIN, 1987**) l'optimum de teneur en eau se situe entre 40 % et 60 %. En fin de procédé, un produit sec ou presque facilite la finition mécanique du compost en évitant un colmatage des équipements.

Le **pH**, la température et l'humidité sont des paramètres interdépendants et difficilement dissociables.

V.4. Rapport Carbone/Azote : Les bactéries utilisent le carbone comme source d'énergie et l'azote comme source protéique.

Le procédé de compostage entraîne une décomposition de la M.O, donc une consommation de l'azote et du carbone, correspondant à la diminution du rapport C/N. Ce exprime la proportion entre le carbone et l'azote bio-disponible.

Il dépend de la composition intrinsèque du substrat à composter comme le montre le Tableau N° 03

Tableau –N°03 : Rapport C/N de divers substrats (MUSTIN, 1987; GOOTAS, 1959, www.ademe.fr)

<i>Matière</i>	<i>Rapport C/N</i>
Urines	0.8
Gazon coupé	12
Tabac	13
Légumes	12-30
Ordures ménagères	25
Papiers-cartons	70
Branches arbres	70
Paille de blés	128
Sciure de bois	200

De nombreux auteurs déterminent des valeurs optimales de ce rapport C/N qui peut varier de 107 à 18 en début de compostage. Par exemple, il se situe entre 25 et 45 pour les ordures ménagères hétérogènes (SADAKA *et al.*, 2003, BERNAL *et al.*, 1998 a, EGGEN & VERTHE, 2001), alors que le rapport minimum C/N des déchets verts est proche de 30. La valeur de 35 ne doit pas être dépassée pour les déchets urbains, sinon les micro-organismes passent par plus de cycles d'oxydation pour atteindre la valeur optimale dans le compost.

V.5. Teneur en Matière Organique Totale

La minéralisation du compost correspond à une diminution de la M.O.T au cours de la dégradation biologique du substrat (HOUOT A, 2002). Cette diminution est variable et dépend des conditions de réalisation du processus de dégradation mais également de la durée du procédé. Les pertes en M.O.T au cours du procédé peuvent atteindre 20 à 60 % en poids de la M.O.T initiale (IANNATTI *et al.*, 1994 ; CANET & POMARES, 1995 ; ATKINSON *et al.*, 1996).

V.6. Apport d'oxygène

L'oxygène est utilisé par les micro-organismes comme un récepteur terminal d'électrons lors de la respiration aérobie et de l'oxydation des substances organiques (Waas, 1996). La présence d'oxygène est indispensable au bon déroulement du compostage pour maintenir les conditions aérobies nécessaires à une décomposition rapide et inodore, les systèmes d'aération sont divers et variés : retournements mécaniques, aération forcée ou pilotée, avec ou sans recirculation (BARI, 2001 ; ILLMER & SCHINNER, 1996). L'apport d'oxygène réduit l'humidité initiale (si elle est trop forte), améliore l'homogénéité du substrat et diminue une possible élévation de température.

V.7. Granulométrie

La granulométrie est un facteur qui détermine la vitesse de biodégradabilité. Plus la surface spécifique du substrat sera élevée, plus la zone de contact entre le substrat et les micro-organismes, sera étendue et meilleure sera la fermentation. Une granulométrie trop fine induit un espace poral trop réduit et diminue l'accès puis la circulation de l'air : « étouffement » du compost. *A contrario* si la granulométrie est trop élevée, les apports en oxygène vont dépasser les teneurs optimales, asséchant le compost, et la montée en température se réalisera difficilement.

La granulométrie du substrat évolue au cours du processus de dégradation par fragmentation des agrégats vers des éléments fins. Elle peut être modifiée par l'emploi de broyeur ou de cribleur.

Le **Tableau -04**: représente ces caractéristiques pour un système classique en andain avec retournement mécanique.

Tableau -04: Paramètres de contrôle et de suivi du procédé

Paramètres	Phase initiale	Compost mur
Rapport C/N	20 à 40	10-15
Humidité %	40 à 65	35-45
Température (°C)		<40
pH	5-8	7
Structurant (%)	> 15	
MO (%MS)	40-70	> 40
<p><i>~ 1 en aération forcée</i></p> <p><i>Granulométrie (cm) Dépend du criblage 3-10 sans aération forcée</i></p>		

I. La vie microbienne dans le compost :

La microbiologie du compostage est complexe dans sa description à cause des grandes variations des populations suite aux changements des paramètres physico-chimiques (pH, température, etc.) (BLAINE, 1993).

Mustin (1987) donne une estimation par espèces de la flore contribuant au compostage et un résumé de l'action de ces microorganismes (tableau N°05).

Tableau N°05: Flores contribuant au compostage (Mustin, 1987)

Groupes	Caractéristiques et commentaires	Nombre estimé d'espèces dans les composts
Bactéries	<ul style="list-style-type: none"> - toujours présente dans les composts et largement dominantes en qualité et en quantité. - Forte croissance si C/N est faible et l'humidité est élevée. - Large spectre d'activité sur une large gamme de pH. 	800 à 1000 espèces au minimum
Champignons	<ul style="list-style-type: none"> - Dominants si C/N est élevé (dégradation de la cellulose et de la lignine) - Capable de croître avec des taux d'humidité plus bas. - Tolérance d'une large gamme de pH(2-9) 	Plusieurs dizaines de milliers d'espèces.
Actinomycètes	<ul style="list-style-type: none"> - attaquent des substances non dégradées par les bactéries et les champignons. - Neutrophiles - Développement dans les phases finales du compost 	Plusieurs dizaines d'espèces.
Algues	<ul style="list-style-type: none"> - Organismes chlorophylliens - Retrouvés en surface et dans les premiers centimètres de la couche superficielle. - Utilisant des sels minéraux 	Idem
Protozoaires	<ul style="list-style-type: none"> - Grand groupe hétérogène d'unicellulaires mobiles de petites tailles. - Besoin d'un milieu humide 	Plusieurs dizaines d'espèces
Cyanophycées	<ul style="list-style-type: none"> - Procaryotes proches des bactéries. - Abondance avec une activité des bactéries 	Plusieurs dizaines d'espèces.

Les principaux groupes de microorganismes responsables du compostage sont les bactéries, les actinomycètes et les champignons qui nous intéressants :

I.1. Les champignons :

Les champignons sont souvent retrouvés dans les systèmes de compostage dans la phase de maturation lorsque la température est plus basse et que les seuls substrats disponibles sont des polymères complexes (ils agissent surtout sur les matières qui résistent à la dégradation bactérienne, ils ont donc un rôle capital et ne résistent pas à des températures supérieures à 50°C; ce qui explique l'apparition des champignons macroscopiques à la surface du compost, mais ceux-ci ne sont que la manifestation externe du mycélium microscopique se trouvant à l'intérieur du compost donc les champignons sont également les seuls à pouvoir travailler dans un compost plus sec (SLIMANI, 2005).

Ceux-ci préfèrent des conditions aérobiques et peuvent croître à une large gamme de pH (2-9). Même si certains champignons (*Geotrichomcandidum*, *Aspergillus fumigatus*) peuvent croître à des températures au-dessus de 50°C (FINSTEIN et MORRIS, 1975), la plupart des champignons sont sensibles à une trop forte augmentation de température et par conséquent ne se développent pas durant la phase thermophile (FINSTEIN et MORRIS, 1975)

I.2. Les bactéries :

Les bactéries sont toujours présentes et largement dominantes en qualité et quantité au cours du compostage. Elles sont typiquement unicellulaires avec une taille de 0,5 à 3µm. Par leur petite taille, les bactéries ont un rapport surface/volume très élevé, leur permettant des transferts rapides de substrats solubles à l'intérieur de la cellule, ce qui assure souvent leur prédominance sur des microorganismes de plus grandes dimensions comme les champignons (TOUMELA et al., 2000 cité par ALBRECHT (2007)). Elles restent actives durant tout le cycle de compostage et particulièrement pendant les hautes températures qui favorise leur prolifération.

Sur le **Tableau N°06** sont regroupées les différentes bactéries intervenant à différentes phases du compostage.

Tableau N°06 : Classification des espèces en fonction des phases du compostage **RYCKEBOER *et al.* (2003) ou HARUTA *et al.* (2005)**

Phase mésophile	Alcaligenaceae, Alteromonadaceae, Bacillaceae, Burkholderiaceae, Bradyhizobiaceae, Caryophanaceae, caulobacteraceae, Cellulonadaceae, Clostridiaceae, Comamonadaceae, Corynebacteriaceae, Enterobactériaceae, Flavobactériaceae, Flexibacteraceae, Hyphomicrobiaceae, intrasporangiaceae, Methylobactériaceae, Microbactériaceae, Micrococcaceae, Moraxellaceae, Neisseriaceae, Nitrosomonadaceae, Nocardiaceae, Nocardioptaceae, Paenibacillaceae, Phyllobactériaceae, Propionibacteriaceae, Pseudomonadaceae, Pseudonocardiaceae, Rhodobacteraceae, Sphingobacteriaceae, Sthphylococcaceae, et Xanthomonadaceae.
Phase thermophile	Micromonospororaceae, Streptomycetaceae, Thermoactinomycetaceae, Thermomonosporaceae et Streptosporangiaceae.
Phase de maturation	Streptomyces et Nocardia.

I.3. Les actinomycètes :

D'après **MUSTIN (1987)**, les actinomycètes agissent plus tardivement que le reste des micro-organismes et se multiplient moins rapidement. Ce sont des bactéries formant des filaments multicellulaires. Ils apparaissent aussi bien lors de la phase thermophile que pendant la phase de maturation du compostage (**TUOMELA *et al.*, 2000**).

Les actinomycètes tolèrent des pH légèrement basiques mais leur croissance est lente. Ils peuvent cependant dégrader la cellulose et la lignine comme certains champignons tout en tolérant des températures et un pH plus élevés que les champignons.

Ainsi, les actinomycètes sont des agents essentiels de la lignocellulolyse pendant la phase thermophile, bien que leur capacité de dégrader la cellulose et la lignine ne soit pas aussi étendue que celle des champignons (**TUOMELA *et al.*, 2000**). Les genres *Streptomyces* et *Nocardia* représentent plus de 90 % de leur biomasse selon **MUSTIN (1987)**.

Les actinomycètes sont actifs dans les derniers stades du compostage. Ils se sont spécialisés afin de s'attaquer aux structures plus résistantes comme la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (constituants du bois notamment).

Les actinomycètes sont souvent associés aux odeurs aromatiques du sol ou des composts matures.

I.4. Les macro-organismes :

Les principaux macro-organismes du compost sont les vers de compost ou de fumier (de plusieurs genres), les insectes, les acariens, les gastéropodes, les myriapodes, les cloportes, etc.

Les lombrics du compost, par exemple, agissent au début du processus, sur des éléments peu décomposés (après la phase thermophile).

Les grands lombrics quant à eux entraînent dans leurs terriers des fragments de feuilles ou même des feuilles entières. Ils intègrent ainsi un mélange de débris organiques et leurs excréments constituent un milieu idéal pour les activités microbiologiques du sol qui conduisent à l'élaboration du compost mûr. Beaucoup d'autres macro-organismes apparaissent, surtout dans la phase de maturation du compost.

Tableau N°07: Quantité d'êtres vivants intervenant à un moment ou à un autre pendant le compostage (Zeglels et Masscho, 1999).

Type d'organisme vivant	Nombre par kilogramme de compost
Bactérie	De 1 milliard à 10 milliards
Actinomycètes	De 1 million à 100 millions
champignons	De 10.000 à 1 million
Algues	10 millions
Virus Indéterminés	
Protozoaires	Jusqu'à 5 milliards
Lombrics	Jusqu'à 1000
Collemboles	10.000
Autres insectes et larves	2.000
Acariens	10.000
Crustacés (cloportes)	Jusqu'à 1.000
Gastéropodes (escargots, limaces)	20

II .Avantages du compost :

Le compostage est une technique très ancienne visant à valoriser les déchets organiques pour les réutiliser sous forme d'humus.

Cette valorisation permet de boucler les cycles naturels et d'améliorer la productivité du sol.

L'épandage d'un amendement organique laisse espérer des effets positifs sur le sol.

- **L'amélioration de la structure** et de la stabilité structurale du sol. En effet, parmi les différents éléments minéraux présents dans le sol, les argiles s'associent à la matière organique du sol (l'humus) et aux micro-organismes pour former, sous l'action stabilisatrice du calcium, le complexe argilo-humique.

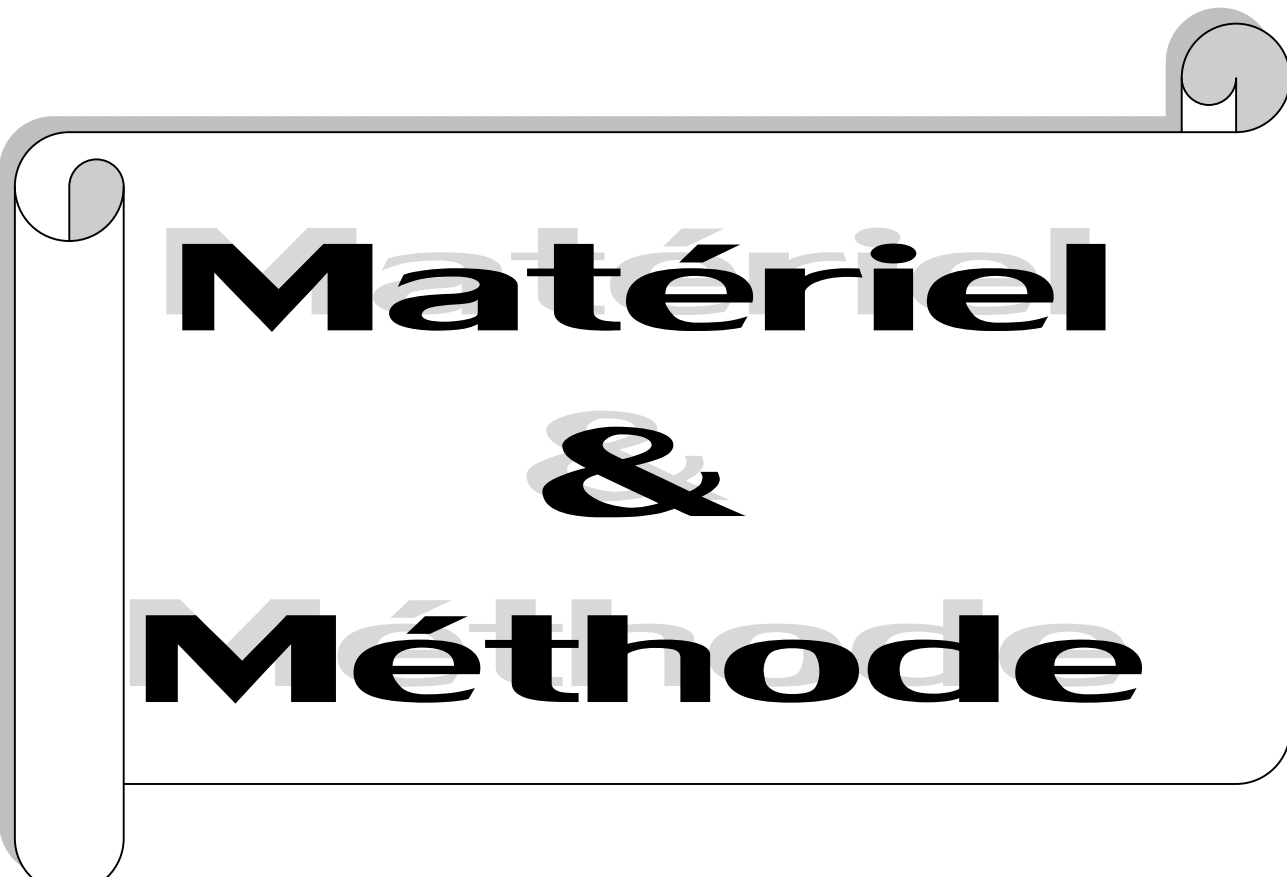
Sa structure en feuillet lui confère une puissante charge négative permettant à une certaine quantité de cations libres de la solution du sol de s'y fixer (Ca^{2+} , K^+ , H^+ , Na^+ etc.).

Le complexe argilo-humique est ainsi un véritable réservoir d'éléments nutritifs pour la culture. La formation d'agrégats stables rend ainsi le sol plus résistant à l'influence éolienne et hydrique, par conséquent, moins soumis à l'érosion.

- **La rétention d'eau** et la porosité. L'eau disponible pour les végétaux grâce à l'utilisation d'un compost correspond au double du volume d'eau pouvant être retenue par un sol minéral. Ainsi en augmentant le taux d'humus du sol de 0,2 %, la quantité d'eau disponible pour la plante croît de 0,5 % et la porosité du sol de 1%. L'amélioration de la porosité entraîne également une meilleure aération du sol et ainsi le développement de l'activité biologique.

- **L'influence sur la chimie du sol.** Les substances basiques du compost et les substances humiques sont bénéfiques contre l'acidification du sol et le stabilisent chimiquement. Une revitalisation des sols fortement dégradés et un développement de la végétation sont favorisés.

- **L'effet phytosanitaire** décrit la faculté fongicide du compost. D'une manière générale le compost contient des substances donnant plus de vigueur aux végétaux et augmentant ainsi leur résistance vis à vis de certains pathogènes.

A decorative border resembling a scroll, with rounded corners and a slight shadow effect, framing the text.

Matériel & Méthode

II - MATERIEL ET METHODE :

I. Origine des échantillons étudiés :

Avant d'aborder les aspects concernant les concentrations en microorganismes dans les composts il est nécessaire de rappeler les techniques utilisées pour l'échantillonnage et d'identification.

I.1.Fumier de volaille et de bovins :

La composition chimique du fumier de volaille et de bovins, en fait un engrais très convenable en raison de ses concentrations en éléments nutritifs : azote, phosphore et potassium .Il contient en moyenne 3 à 4 fois plus d'éléments nutritifs que les autres fumiers.

Ils s'agissent d'une excellence moyenne pour engraisser les sols à fertilité médiocre (OUSTANI, 2006).

Le fumier de volailles et bovins sont des fumiers chaud, il se fermentent avec élévation de la température (OUSTANI, 2006).

Notre travail a été réalisé sur quatre sacs de compost différents. Les composts utilisées sont : compost non traité fabriqué traditionnellement avec une fermentation d'une année, fumier mouton et de vache fabriqué traditionnellement avec une fermentation de 2 ans ramené du ferme de la région d'Ain Témouchent, et deux composts commerciaux sous appellation 4-4-4 et Baco -sol de fientes de volailles de poule pondeuse.



Figure N° 02: les différents types de compost

Les échantillons ont été prélevés sur quatre sacs de compost. Comme indiqué dans le tableau suivant (Tab N°08) :

Tableau N°08 : Les différents types des échantillons ; leurs origine et leurs régions

Echantillons	Origines	La région
E01	compost Bacosol de fientes de volailles (poule pondeuse)	Ain Témouchent
E02	Fumier 2 ans mouton et de vache	Ain Témouchent
E03	Compost non traité un an de fermentation	Ain Témouchent
E04	Compost 4-4-4	Ain Témouchent

I .2.Choix et transport des échantillons :

Les prélèvements ont été effectués sur quatre sacs de compost différents ramené au laboratoire de Département des Sciences de la Nature et de la vie D'Ain Témouchent sans précautions particulière.

Vu le nombre d'échantillon à étudier, nous avons effectué un seul prélèvement par compost.

II .Analyse microbiologique:

Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur la microbiologie du compost mais jusqu'à présent les analyses systématiques des produits de compostage restent insuffisantes (**HASSEN et al., 2001**).

La méthode des suspensions - dilutions, mise au point pour l'isolement des bactéries, est également utilisable pour les champignons (**Davet, 1996**).

Dans notre cas, la diversité de compost étudié nous a incités à rechercher la microflore totale et leurs répartitions dans les différents composts étudiés.

II .1.Technique de dénombrement, d'isolement et d'identification bactérienne:

On utilise les techniques classiques de la microbiologie générale. Bien que ces techniques soient anciennes, elles présentent, toutefois, une précision satisfaisante pour de telle analyse. (Buttiaux,R1966 ;Rodier J.1978 ;Bergey'S1986).

II .1.1.Préparation des échantillons:

La mesure des densités microbiennes par la technique des suspensions- dilutions de compost est un bon indicateur général. Cette mesure est facile à réaliser, économique, et elle donne des résultats fiables et reproductibles.

Dans un flacon stérile de 250 ml contenant 90 ml d'eau physiologique sont ajoutés aseptiquement 10 g de compost sec. Ce mélange est agité mécaniquement à l'aide de barreaux magnétiques pendant 30 minutes afin de mettre en suspension les particules de compost.

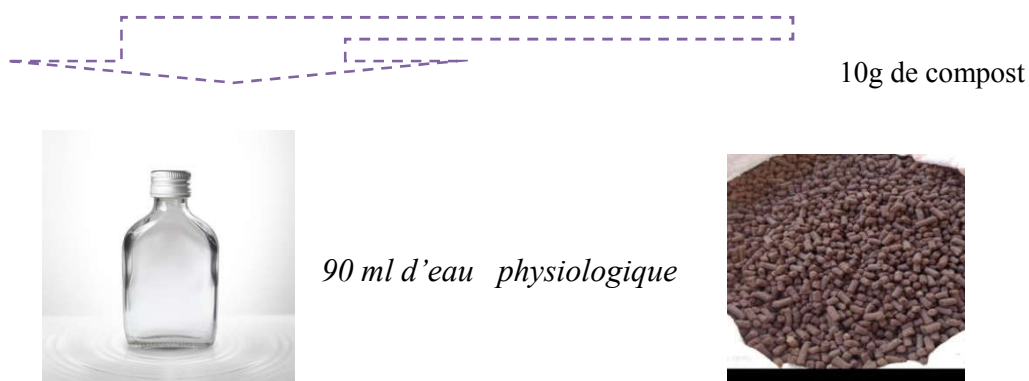
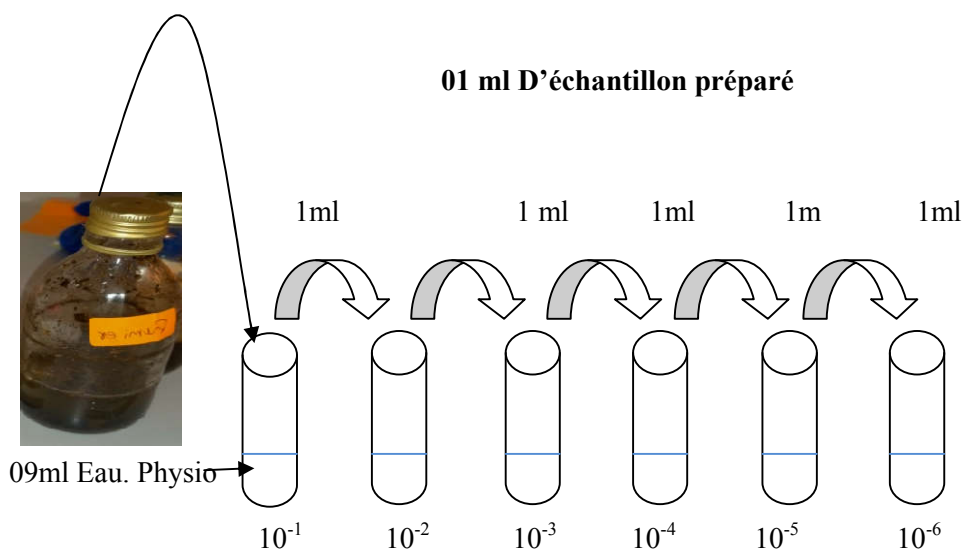
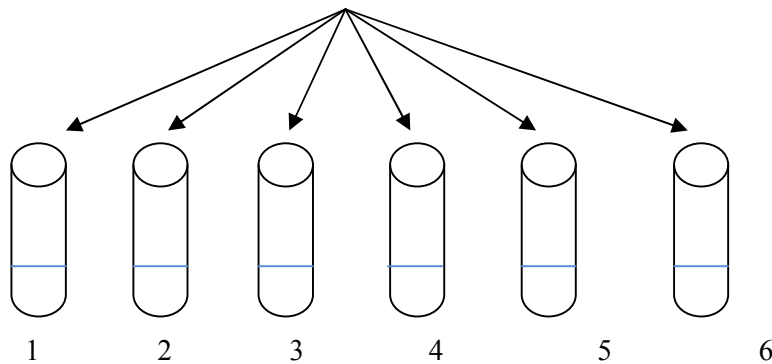


Figure N° 03 : Préparation d'échantillon.

II .1.2.Préparation des suspensions dilutions :

Les analyses microbiologiques sont réalisées à partir d'une suspension de 1 ml dans 9 ml d'eau physiologique stérile (Na cl...9g et Eau distillée...1000ml). Afin d'obtenir une dilution de 10^{-1} . La suspension est par la suite agitée manuellement dans le but de libérer le maximum de la charge microbienne. Des dilutions en série sont ensuite réalisées à partir d'eau physiologique stérile. L'opération est renouvelée jusqu'à obtenir la dilution 10^{-6} pour obtenir des colonies isolées.

09 ml d'eau physiologique stérile**Figure N°04 : préparation des suspensions dilutions****II .2.3. Dénombrement et ensemencement:**

Pour le dénombrement de la microflore bactérienne sur le milieu gélosé GN), est un milieu permet la croissance des bactéries sans exigences particulières (MARCHAL N et al 1982).

Milieu Solide(GN) Extrait de viande	10g
Peptone.....	10g
D-mannitol	10g
Chlorure de sodium.....	10g
Rouge de phénol.....	0.025g

Agar-agar..... 12 à 18 g

Eau..... 1000ml

ajuster le pH à 7.2 et autoclaver à 120 pendant 20 minute.)

Les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , sont utilisées pour ensemercer le milieu (GN) sur boîte de Pétri, On inoculera 0.1 ml par boîte pour chaque dilution et pour chaque échantillon, L'ensemble des boîtes est incubé à 30°C. La lecture des résultats se fait après 24 h d'incubation. On détermine la dilution correspondante à un nombre de colonie significatif (entre 30 et 100).

II .2.4. Purification bactérienne :

C'est une étape très importante et très délicate, qui demande beaucoup de temps, puisqu'il s'agit d'un prélèvement qui abrite des milliers de microorganismes,

Les souches bactériennes sont isolées à partir des boîtes ayant servi au dénombrement. On a choisi au hasard des colonies ,elle sont purifiées par repiquages successifs sur le milieu d'isolement (GN), avec un ensemencement en stri a raison d'une boîte de Pétri pour chaque souche ; les boîtes sont incubées à 30°C de 24 à 48 H , après croissance ,elles sont conservées à 4°C. Au total de 08 souches ont été isolées. (à raison de 02 souches par échantillon).

II .2.5. Identification :

Pour l'identification des souches, nous avons procédé à l'identification de l'aspect des colonies et la coloration de Gram, les tests morphologique étudiés :

*Coloration de Gram :

***Le principe de la technique :** L'observation microscopique d'après la coloration de Gram détermine la forme et la couleur des colonies bactériennes qui sert distinguer le groupe de gram positive ou bien négative. C'est une coloration classique en microbiologie permettant la distinction des bactéries Gram positives (G+) et les bactéries Gram négatives (G-). Ces bactéries présentent toutes une paroi constituée d'une substance, la muréine qui est un peptidoglycane. Celle-ci est recouverte par une membrane externe chez les bactéries Gram-, tandis que les bactéries à Gram+ sont dépourvues.

Dans notre laboratoire on a réalisé cette technique comme suit : on a déposé une goutte de l'eau physiologique sur une lame de microscope, avec une Anece de platine stérile on a prélevé une colonie isolé à partir d'une culture bactérienne (boite de pétri) déposé sur la goutte d'eau ,on a fait étaler sur la lame pour avoir un frotti , fixé la lame avec la chaleur de Bec Benzène jusqu'à se que la lame deviens sèche, pour réaliser la coloration de Gram on utilisé une gamme de solutions de notre laboratoire , violet de gentiane , lugol ,alcool a 70% et la fuschine. Déposé la lame avec une pince sur un support de plastique , inonder la lame avec le violet de gentiane et laisser réagir une minute , puis rincer la lame avec l'eau , inonder la lame avec lugol pendant une minute après rincer la lame ,couvrir la lame avec l'alcool après 15 seconde rincer la lame rincer la lame dernière étape inonder avec le fuschine laisser réagir une minute ; après une minute rincer la lame , sécher avec la chaleur une autrefois la lame et procédé un examen microscopique a 100 immersion.

II.2. Technique de dénombrement d'Isolement et d'identification de la microflore fongique :

Un relevé de la microflore est également effectué pour identifier les germes fongiques. Concernant les champignons, l'ensemencement est réalisé sur des milieux de culture solide **PDA** et **MEA** à une température d'incubation d'environ 25 °C.

Le nombre des microorganismes de chaque compost peut être déterminé par différentes méthodes (Microscopique, ensemencement sur milieux nutritifs...).

II.2.1. Dénombrement et ensemencement :

Pour le dénombrement de la microflore fongique sur des milieux gélosés **PDA** (Potato Dextrose Agar)

Potato Dextrose Agar-Oxoid.....	40g
Agar-agar.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml
Ajuster le pH à 5.8 autoclaver a 120 °c pendant 20 min	
MEA (Malt Extract Agar): Extrait de Malt.....	20 g
Agar-agar.....	15 g

Autoclaver à 120°C pendant 20 min.

Pour les milieux **DDA** et **MEA**, en ajoutant un antibiotique, la Gentamicine a raison de 80/2ml pour éviter la prolifération des bactéries.

Le pH est ajusté par les solutions Hcl et NaOH.

Les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , sont utilisées pour ensemercer les deux milieux **DPA** et **MEA** sur boîte de Pétri, On inoculera 0.1 ml (étalement sur la surface, par râteau) par boîte et pour chaque dilution. à raison de 06 boîte pour chaque échantillon, l'ensemble des boîtes est incubé à 25°C. La lecture des résultats se fait à partir du 6^{ème} jour d'incubation.

II.2.2.Purification de la microflore fongique :

Après le premier ensemencement sur boîte de Pétri, différentes colonies sont obtenues. Chaque colonie d'aspect différent est ensemencée à part dans un milieu solide **DPA** et **MEA** par l'ajout de l'antibiotique gentamicine et chloramphénicol (5 mg/100 ml milieu liquide) Les boîtes ensemencées seront incubés 6 jours à 25°C.

La purification des souches se fait par des repiquages successifs en milieu solide jusqu'à l'obtention au sein d'une boîte de Pétri de colonies identiques par l'aspect et la couleur.

Après plusieurs passages sur milieu gélosé, la souche est en général purifiée.

II.2.3 Caractères morphologiques :

Pour les souches fongiques isolement des espèces est réalisée par observation des caractères macroscopiques sur les différents milieux de culture (croissance, couleur aspect ...de la colonie).

***Observation macroscopique :**

L'observation des colonies peut être d'un grand intérêt lorsque la culture est faite sur des milieux spécifiques **DPA** et **MEA**. Or, ici dans notre étude c'est une description directe faite sur boîtes d'isolement, permettant au moins une distinction des souches les unes des autres à fin de les purifier.

II.2.4. Identification :

Les cultures des champignons purifiés sur milieu **DPA** et **MEA** ont été identifiées en fonction de leurs caractéristiques morphologiques en utilisant la description de **Botton *et al.* (1990)**.

L'identification s'est basée sur des critères macroscopiques et microscopiques. L'examen microscopique est basé sur les caractères morphologiques. On note les organes de fructifications, types de spores, aspect du thalle, aspect, taille, couleur et disposition des spores, mycélium, conidies, (**Bourgeois et Leveau, 1980 ; Mouria. B *et al.* , 2012**).

Dans notre laboratoire l'examen microscopique a été réalisé sur lame avec la technique du test de scotch et le bleu de Méthylène comme suit :

On a utilisé des colorants spécifiques tels que le bleu de Méthylène à 2%(Bleu de méthylène...2g Eau distillée...1000ml) pour une observation meilleure.

Nous avons procédé à l'utilisation de ruban de scotch On dépose une goutte de solution aqueuse de bleu de Méthylène sur une lame, puis couper un morceau de scotch de 1.5 cm de long en évitant absolument de laisser ses empreintes sur la face du scotch.

Appliquer la face du scotch sur une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et poser sur la goutte de bleu de Méthylène avec une légère pression par une pince ,et faire l'observation sur microscope optique, à plusieurs grossissement (G x 40, ×100). Nous avons utilisé cette méthode pour identifier les genres des champignons.

A decorative graphic of a scroll with a grey border and three rolled-up corners. The text is centered within the scroll.

Résultats & interprétation

Troisième partie Résultat et interprétation:**I. Dénombrement :**

Selon la succession de matériel et méthode les résultats de numérations effectués dans les quatre composts ramenés de ferme et du commerce de la ville d'Ain Témouchent sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau N° 9: Nombre de germe revivable par ml :

Echantillons étudiées	Echantillon 1 compost 4-4-4	Echantillon 2 compost bacosol fientes de volaille	Echantillon2 compost Non traité	Echantillon 4 fumier 2 ans
Nombre de Colonies moyen (germes / ml) trouvées	$10^{-1} = 4 \cdot 10^9$	$10^{-1} = 3 \cdot 10^9$	$10^{-1} = 2.9 \cdot 10^9$	$10^{-1} = 2.12 \cdot 10^9$
	$10^{-2} =$ indénombrable	$10^{-2} = 8 \cdot 10^8$	$10^{-2} = 9 \cdot 10^8$ $10^{-3} = 7 \cdot 10^7$	$10^{-2} =$ indénombrable
	$10^{-3} = 2 \cdot 10^8$	$10^{-3} = 8 \cdot 10^8$	$10^{-4} = 2.4 \cdot 10^7$	$10^{-3} = 6.2 \cdot 10^8$
	$10^{-4} = 6 \cdot 10^7$	$10^{-4} = 9.4 \cdot 10^7$	$10^{-5} = 1.5 \cdot 10^6$	$10^{-4} = 7.2 \cdot 10^7$
	$10^{-5} = 5 \cdot 10^6$	$10^{-5} = 2 \cdot 10^7$	$10^{-6} = 2.3 \cdot 10^4$	$10^{-5} = 2.8 \cdot 10^7$
	$10^{-6} = 3 \cdot 10^4$	$10^{-6} = 2.6 \cdot 10^4$		$10^{-6} = 2.4 \cdot 10^4$

Les échantillons analysées renferment des quantités très diverses de microorganismes, les valeurs varient entre 10^4 et 10^{10} germes / ml.

Le taux le plus élevé concerne échantillon de compost 4-4-4 est $4 \cdot 10^9$ germes /ml. Les concentrations en microorganismes sont légèrement inférieurs, elles varient entre 10^8 et 10^7 germes/ml dans les compost bacosol , compost non traité et fumier 2 ans.

2-Isolement des souches :

Après le dénombrement, on a procédé à l'isolement des souches pures sur le milieu complet G.N. au total 08 souches ont été isolées. A raison de 02 souches par échantillon ; ensuite, on a réalisé un tri basé sur les observations préliminaires : morphologie, et la coloration de Gram.

Toutes les bactéries retenues ont été soumises aux tests d'identification sont illustrées dans le **Tableau N°10** :

Echantillons étudiées	Nombre de souches isolées
E01	02
E02	02
E03	02
E04	02
Total	08

3-Identification des souches:

Les tests d'identification, nous ont permis de séparer les souches en deux grands groupes. Ainsi, sur les 08 souches identifiées, 06 ce sont avérées des bactéries à Gram (-) et 02 souches à Gram (+).

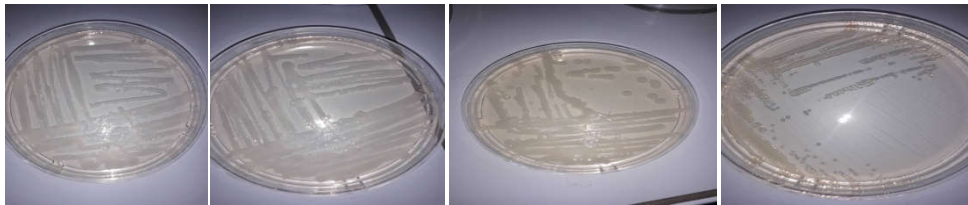
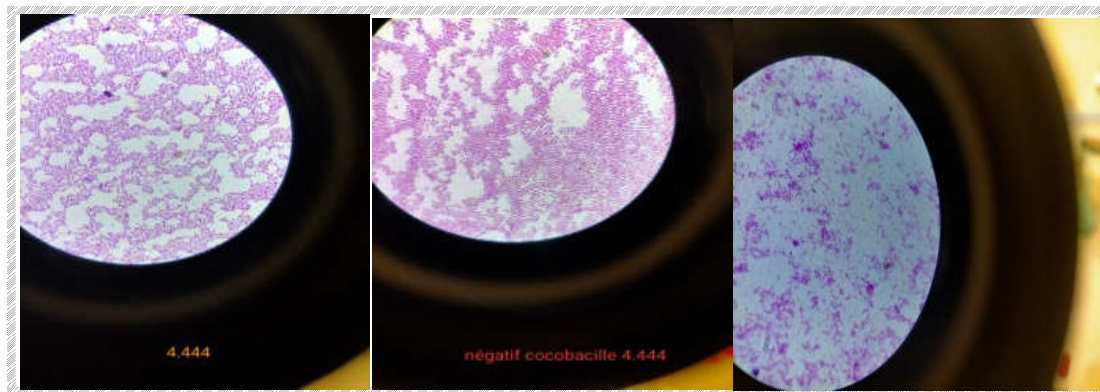


Figure N° 05 : colonies bactérienne sur boîte pétri pour d'identification.

On a retenu l'aspect des colonies et la coloration de Gram pour les différents échantillons étudiées Comme indiquer le tableau suivant (**Tableau N°11**) :

E01	E02	E03	E04
Couleur rose	Couleur rose	Couleur rose	Couleur rose violet
forme bacille	les deux souches à une forme bacille	les deux souches à une forme bacille	les deux souches à une forme bacille
Gram négatif(-)	Gram négatif(-)	Gram négatif(-)	Gram positif(+)
,coccobacille			
Gram négatif(-)			



E01E03E02

E01

E04

Figure N° 06: Observation microscopique des souches pures après de la coloration de Gram (Gross100×10).

4- Identification de la mycoflore :

Rarement, un compost contient uniquement un seul type de microorganisme.

Dans la plupart des cas, une énorme variété de micro-organismes est simultanément présente. Pour l'observation macroscopique des champignons, il est nécessaire de caractériser ces isolats sur les milieux **DPA** et **MEA** par l'aspect des colonies, qui représente un critère clé d'identification. Les champignons filamenteux, forment des colonies duveteuse, laineuses, cotonneuses, veloutées ou granuleuses comme indiqué dans le **Tableau N°12** Caractères de champignons

Caractères de champignons Echantillons	Couleur	Forme	opacité	Taille	Aspect du surface
E01	Blanc Vert jaune	Arrondie Plat Bombé	Opaque transparent	Moyenne Petite	Lisse Rugueuse
E02	Vert blanc	Arrondie Plat	Opaque transparent	Moyenne Petite	Lisse Rugueuse
E03	Vert Blanc Marron jaune	Arrondie Plat	Opaque transparent	Moyenne Petite	Lisse Rugueuse
E04	Vert blanc	Arrondie Plat	Opaque transparent	Moyenne Petite	Lisse Rugueuse

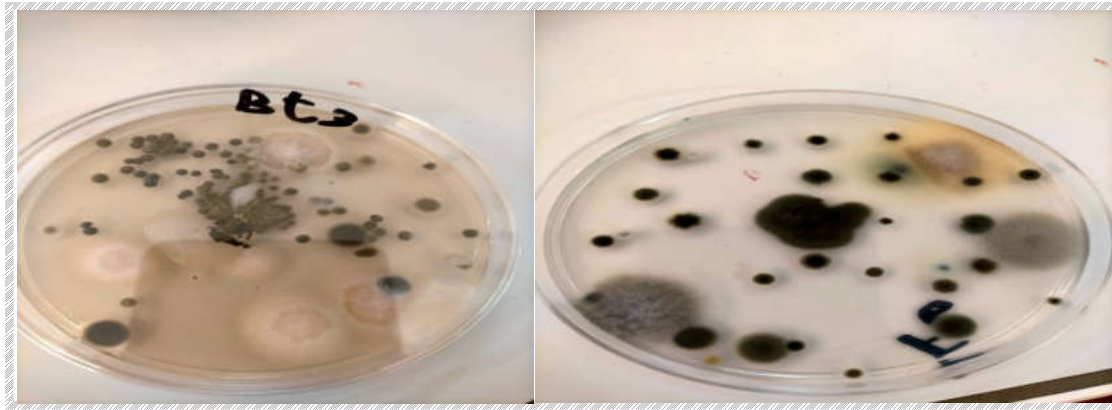


Figure N°7 : Aspect macroscopique de quelques colonies fongiques sur les boîtes de pétri.

La plupart des caractères morphologiques se retrouvent dans la présente étude où nous avons remarqué une similarité dans ces caractères morphologiques des champignons (forme, taille, couleur, opacité, aspect de la surface) pour les quatre composts étudiés.

La couleur des colonies est un élément très important d'identification. Les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, vert, jaune, marron. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *penicillium*) ou diffuser dans les milieux de culture (*Fusarium*)

(Botton et al., 1990)

Pour ce qui est de la couleur des colonies, il faut souligner que pendant les premiers jours de culture ; quand le mycélium est jeune, la couleur de la colonie de tous les champignons est verte, et au fur et à mesure que ces colonies vieillissent, elles commencent à prendre leurs colorations spécifiques.



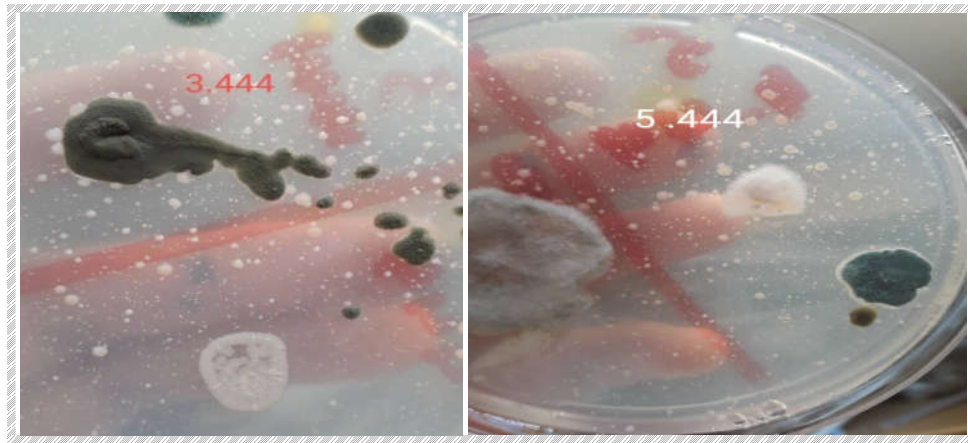


Figure08 : Aspect macroscopique des colonies des champignons du compost 4-4-4.

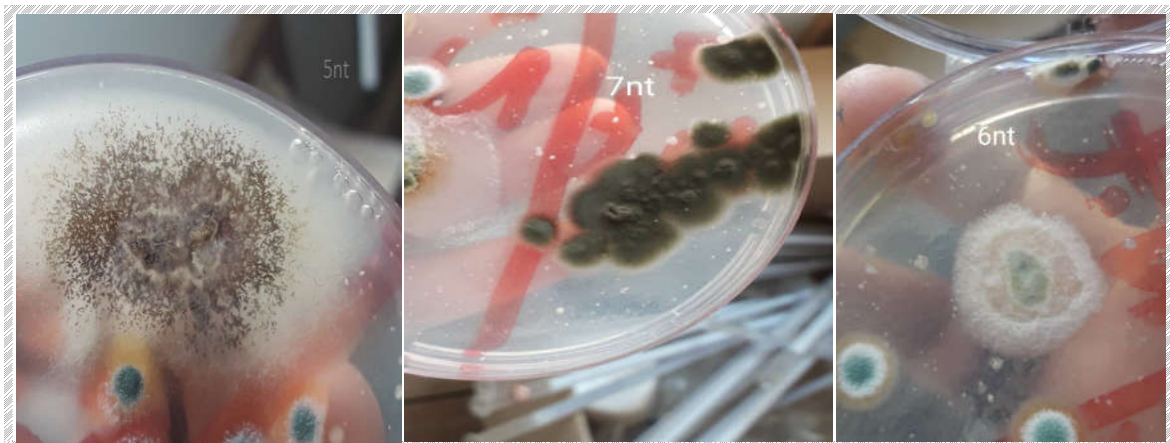
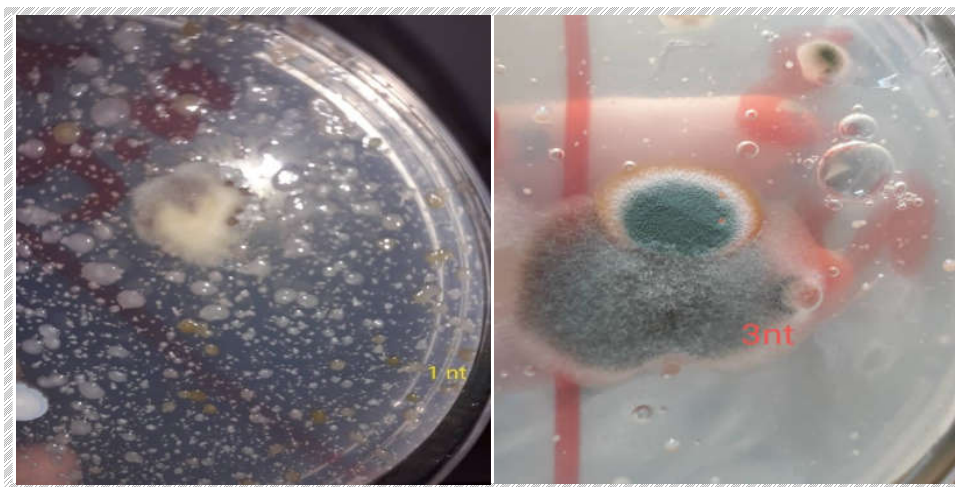


Figure N°09 : Aspect macroscopique des colonies des champignons du compost non trait.



Figure N°10: Aspect macroscopique des colonies des champignons du compost Bacosol

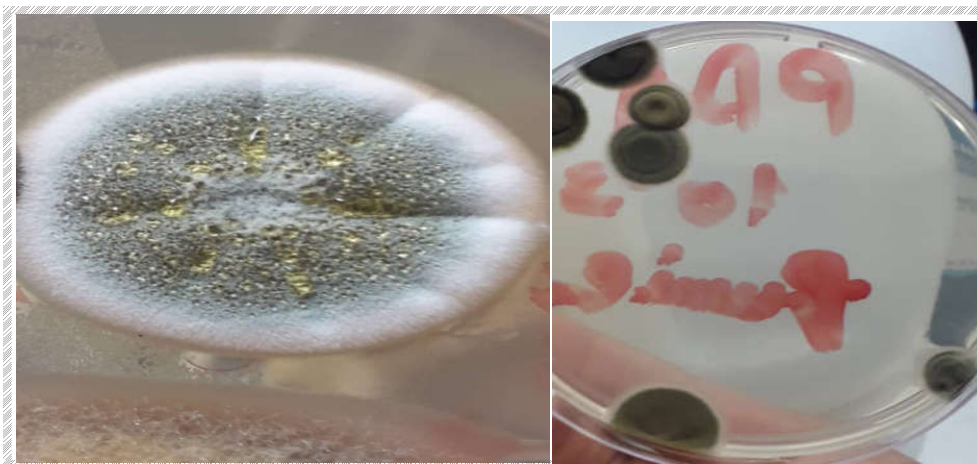


Figure N°11 : Aspect macroscopique des colonies des champignons du fumier 02 ans.

5-Identification microscopique :

Afin d'affiner d'identification des souches fongiques, les observations des caractères microscopiques des champignons doivent être comparées à celles rapportées dans la littérature et celles des souches référence.

Selon (**Chabasse,2002**), L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame, ruban adhésif et coloration, généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants.

L'identification des champignons selon **Botten et al (1985)** fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques tels que :

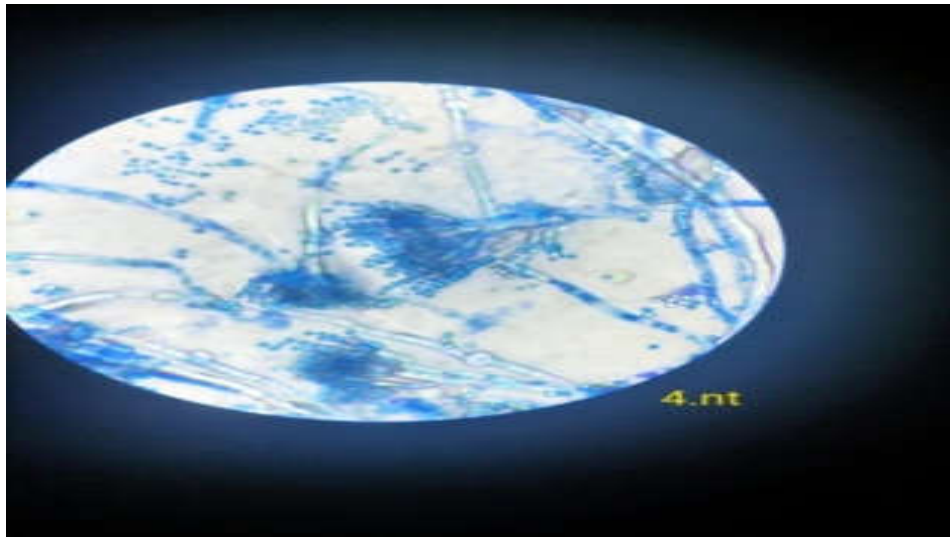
Caractères cultureux : vitesse de croissance apicale, texture, épaisseur et couleur de la colonie : pigmentation de l'agaretc.

Caractères morphologiques :

- a- Du mycélium : absence ou présence de cloisons , couleur, dimension, mode de ramification ...ect
- b- Des organes différenciées et leurs contenu : forme , couleur, dimension, texture , des parois.

Les souches fongiques identifiées dans les différents composts sont illustrés dans le **tableau N°13** suivant :

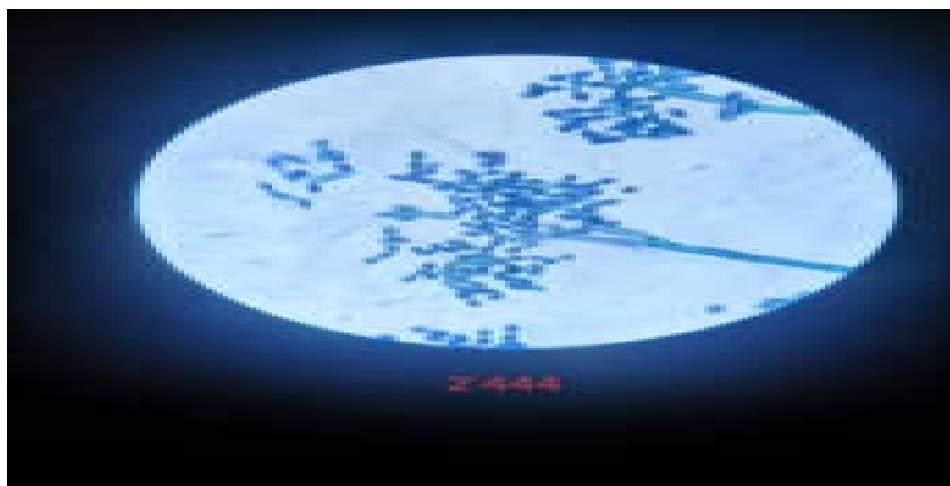
Souches fongiques identifiées	E01	E02	E03	E04
<i>Penicillium spp</i>	+++++	+++++	+++++	+++++
<i>Cladosporium spp</i>	-----	-----	+++++	+++++
<i>Fusarium spp</i>	+++++	-----	-----	-----
<i>Alternaria spp</i>	+++++	-----	-----	+++++
<i>Dactylosprium spp</i>	-----	-----	+++++	-----
<i>Gliocladium spp</i>	-----	+++++	+++++	-----
<i>Microsporum spp</i>	+++++	+++++	+++++	+++++
<i>Aspergillus spp</i>	++++++	+++++	++++++	++++++
<i>Streptomyces spp</i>	-----	-----	++++++	-----



Souche 1-*Penicillium spp*



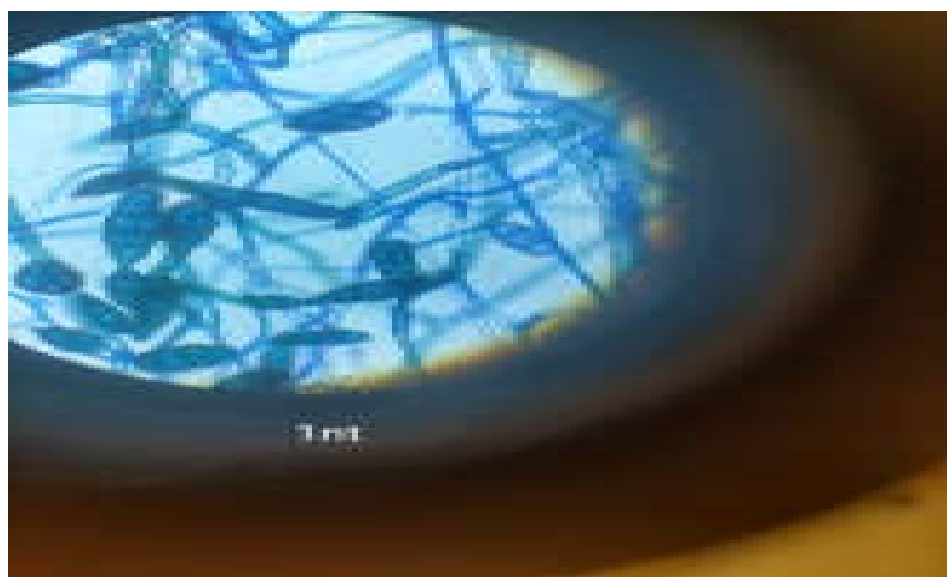
Souche 2-*Cladosporium spp*



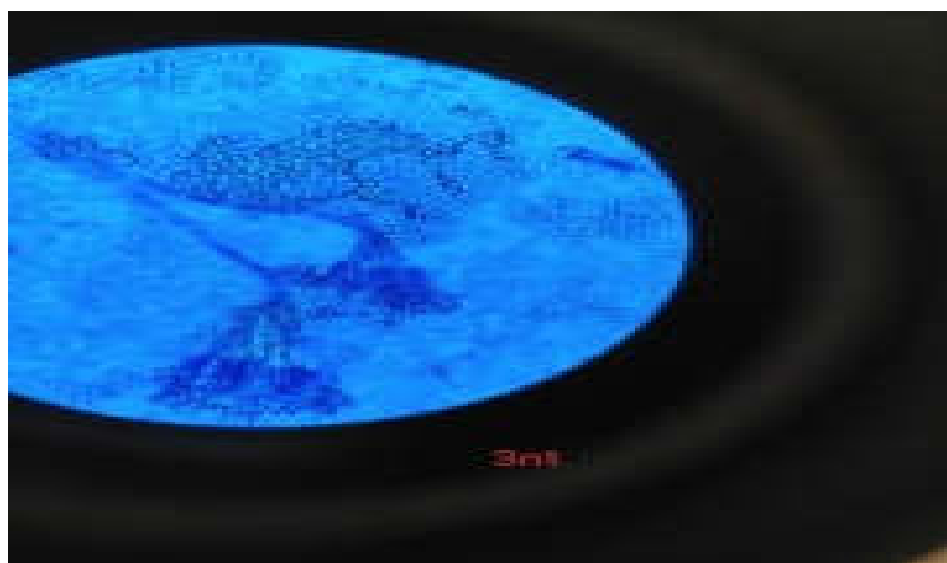
Souche 3-*Fusarium spp*



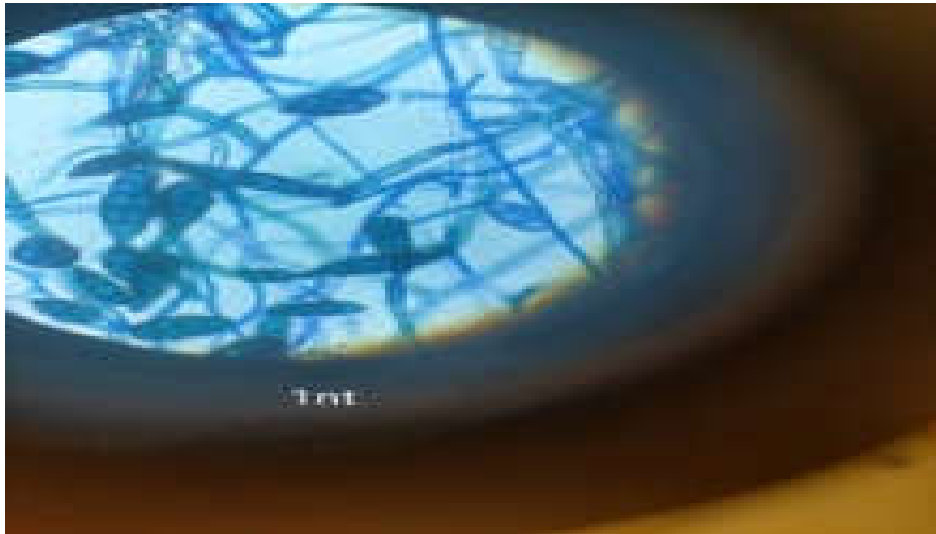
Souche 4-*Alternaria spp*



Souche 5-*Dactylosprium spp*



Souche 6-*Gliocladium spp*



Souche 7-*Microsporium spp*



Souche 8-*Aspergillus spp*




Souche 9-*Streptomyces spp*

Figure N°12 : Observation microscopique des souches fongique.

Nombre des souches différents identifiés par chaque compost :

Si on compare la flore fongique dans les différents composts, on note que les genres dominants c'est *Aspergillus spp*, *Penicillium spp* et *Microsporium spp* sont présentes dans les quatre composts étudiés tandis que la souche de *Fusarium spp* rencontré juste dans le compost Bacosol de fiente de volailles (poule pondeuse), et les souches *Streptomyces spp* et *Dactylosprium spp* sont présentent dans le compost non traité.



Discussion

Discussion

Discussion :

Les résultats obtenus montrent en premier lieu que les populations microbiennes dans les composts sont quantitativement et qualitativement très variables (champignons, et bactéries).

L'analyse de la microflore des compost étudiées : compost 4-4-4, compost bacosol fientes de volaille, compost Non traité et fumier 2 ans a révélé la présence de 09 espèces fongique appartenant du genre les plus dominants sont : *Penicillium spp*, *Cladosporium spp*, *Fusarium spp*, *Alternaria spp*, *Dactylosprium spp*, *Gliocladium spp*, *Microsporium spp*, *Aspergillus spp*, et *Streptomyces spp* et des bactéries Gram(+) et à Gram(-) à des formes bâtonnet coccobacilles.

Ces résultats pourraient être expliqués par la richesse microbienne du compost étudiés.

Dans le même ordre d'idées, nous avons constaté que l'isolement de la mycoflore a montré également que les genres *Penicillium sp*, *Microsporium spp* et *Aspergillus spp* sont plus représentatives dans les échantillons contrairement aux autres espèces fongiques isolées.

Par ailleurs, nous avons remarqué la prédominance des bactéries Gram (-) dans les différents échantillons analysés. En effet, la plupart des études portant sur l'inventaire de la microflore des composts ont été réalisées en utilisant des techniques de culture.

Dans une étude réalisée sur un compost d'ordures ménagères et un autre de déchets verts, 60 espèces de champignons et de levures appartenant à 26 genres ont été inventoriées **Riachi K. (1998)**, dont 9 ont été retrouvés dans le compost utilisé dans cette étude à savoir *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Circinella*, *Emericella*, *Humicola*, *Penicillium*, *Scopulariopsis* et *Trichoderma*.

Anastasi et al. (2005) ont également isolé, entre autres, treize espèces de champignons inventoriés dans ce travail à savoir, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioïdes*, *C. harbarum*, *Emericella nidulans*, *Humicola grisea*, *Penicillium simplicissimum*, *Scopulariopsis brumptii*, *Scytalidium lignicola* et *Trichoderma harzianum*. D'autres études ont permis uniquement l'isolement d'espèces solitaires telles que *Fusarium sp.* *Scopulariopsis brevicaulis* **Ryckeboer J et al (2003)** *Circinella sp.* et *Sepedonium sp.* **Von Klopotek A. (1962)** à partir de différents composts ou des matériaux à composter,

Discussion

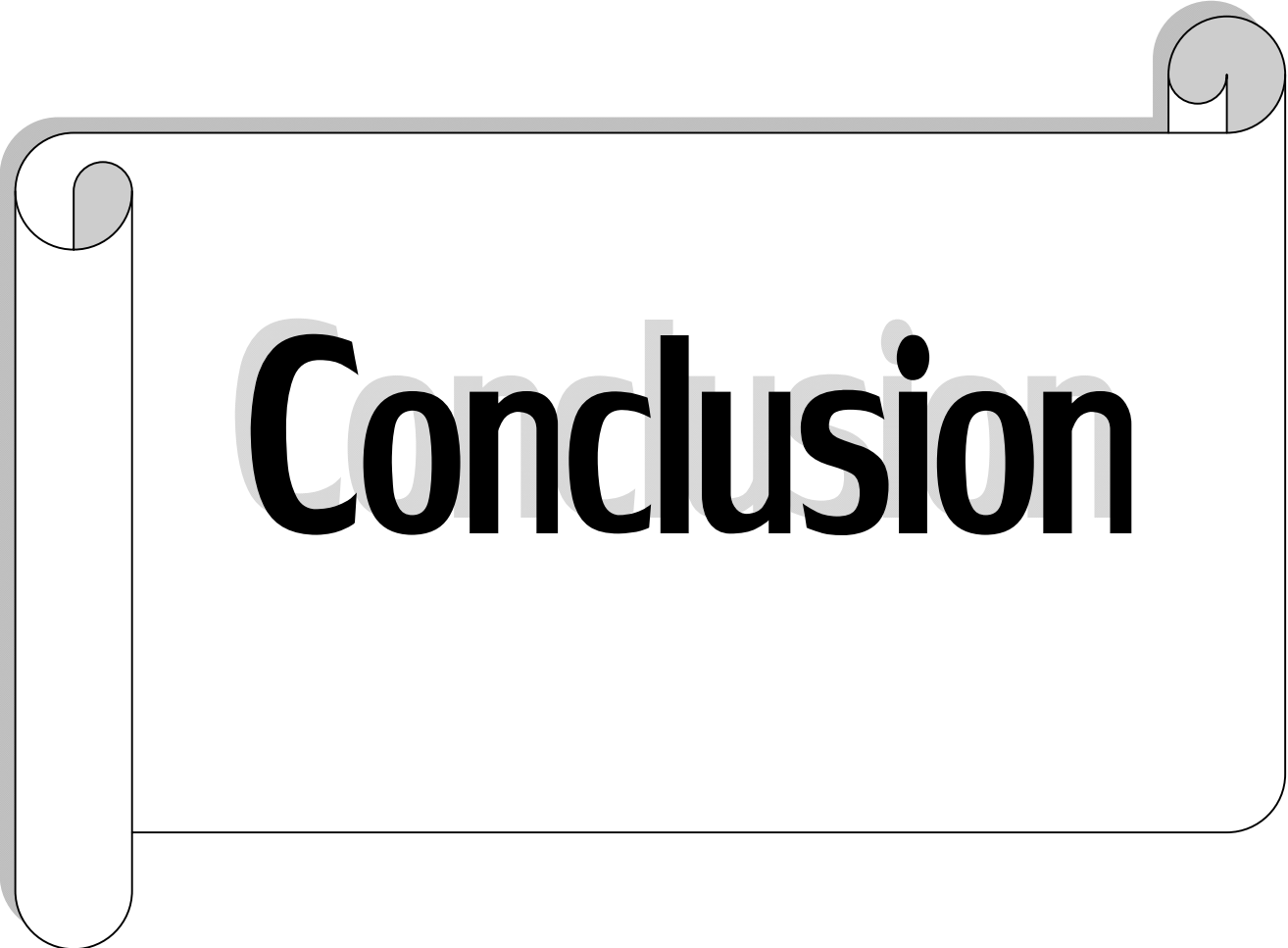
D'après **Lazarovits G. (2001)**, La richesse du compost en microorganismes permet d'améliorer la biodiversité des sols induit une augmentation des populations des microorganismes de sol par un facteur de 1000.

La composition de la microflore ainsi que l'activité de certains groupements spécifiques dans le compost sont fortement affectées par le degré de décomposition de la matière organique. Par conséquent, elle constitue un facteur clé de la qualité du compost - **Hoitink H. A. J. et Boehm M. J. (1999)**.

En effet, la composition initiale des composts ainsi que la technique de compostage peut affecter la composition de la microflore, mais cette dernière est surtout déterminée par le degré de décomposition, donc de maturation, des composts. Un compost jeune en phase thermophile est essentiellement dominé par les bactéries, puis les actinomycètes et les champignons prennent la relève. La population élevée de mycoflore totale dans le compost étudié montre alors que ce compost présente un bon degré de maturité. **Larbi M. (2006)** .

Selon **Tunlid et al. (1989)**; **Atkinson et al. (1997)** la majorité des bactéries isolées des composts étaient Gram-négatives. d'autres recherches ont également montré que les bactéries à Gram négatif et les actinomycètes étaient plus répandus dans les composts suppressifs que dans les milieux favorables.

Kwok et al. (1987) ont découvert que les bactéries Gram-négatives étaient les agents de contrôle prédominants dans le compost d'écorce suppressif.



Conclusion

Conclusion :

Les champignons, bactéries, nématodes et virus qui causent des dommages sur les cultures sont très vulnérables au compostage. Même les organismes qui forment des sclérotés et qui sont très persistants dans le sol sont détruits,

Notre étude, bien qu'elle soit partielle, a porté sur la diversité de la microflore des composts de ferme et commercial de la ville d'Ain Témouchent. En effet, les analyses ont porté essentiellement sur la recherche de la microflore totale et leur relation avec la qualité de produit fini.

La stabilité et la maturité du compost sont essentielles pour une utilisation optimale du compost comme amendement du sol et source de nutriments pour les plantes, la stabilité du compost estimée en terme d'activité microbienne et la maturité du compost est déterminée par l'odeur, la germination des plantes tests ou la composition chimique.

Les résultats permettent d'optimiser l'isolement et l'identification de la microflore des composts ; compost 4-4-4, compost bacosol fientes de volaille, compost Non traité et fumier 2 ans Ils montrent l'analyse microbiologique des composts avant de leur utilisation dans le domaine agricole.

L'inventaire de la population microbienne devant être raisonnées en fonction de la nature et la valeur des déchets organiques solides et liquides, ainsi que les résidus, sont revalorisés grâce au compostage par leur transformation en fertilisants.

L'utilisation des composts pour l'amendement des sols agricoles est un marché considérable mais qui n'est pas appliqué qu'à 2% de la surface cultivée.

A decorative graphic of a scroll with a grey border and rounded corners. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges curving inward. The text is centered on the white surface of the scroll.

Références

Bibliographiques

- 1- **TUOMELA M.-VIKMAN M.-HATAKKA A.-ITAVAARA M, 2000.** "Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. " *Bioresource Technol.* 72: 169-183.
- 2- **HASSEN *et al.*, 2001.**
- 3- **Miller F. C. (1996)** Composting of municipal solid waste and its components. 115–154
In: Palmisano A. C. and Barlaz M. A. (eds.), *Microbiology of Solid Waste*. CRS Press, 224 pp.
- 4- **Minussi R. C., de Moraes S. G., Pastore G. M. et Duràn N. (2001).** Biodecolorization screening of synthetic dyes by four white-rot fungi in a solid medium: possible role of siderophores. *Lett. Appl. Microbiol.*, 33, 21–25.
- 5- **Peters S., Koschinsky S., Schwieger F. et Tebbe C. (2000).** Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-Single-Strand-Conformation-Polymorphism-Based genetic profiles of Small-Subunit rRNA genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 930–936.

- 6- **SHARMA V K., CANDITELLI M., FORTUNA F., CORNACCHIA, G.,(1997).** Processing of urban and agro-industrial residues by aerobic composting: Review. *Energy Conversion and Management*, 38, 5, 453-478.
- 7- **PENG ,JJ ., ZHANG,Y.,SU.,J.Q.,QIU,Q.F.,JIA,Z. ZHU.,Y.G U.(2013).** Bacterial communities predominant in the degradation of C-13(4)-4,5,9,10-pyrene during composting.*Bioresour. Technol.*143,608-614.
- 8- **MUSTIN M. (1987).** *Le Compost, gestion de la matière organique*. Ed. François Dubusc, Paris : 954.
- 9- **INBAR, Y.-CHEN Y.-HADAR Y. (1990).** "Humic substances formed during the composting of organic matter. " *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 54: 1316-1323.
- 10- **-CIAVATTA C.-GOVI M.-PASOTI L.-SEQUI P. (1993).**"Changes in organic matter during stabilization of compost from municipal solid waste." *Bioresource Technol.*, 43: 141-145.
- 11- **CHEFETZ B.-HATCHER P.G.-HADAR Y.-CHEN Y. (1998)** "A characterization of Dissolved Organic Matter Extracted from Composted Municipal Solid Waste." *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 62: 326–332

- 12- **Bayard R., Gourdon R., Thiery L. (2001).** Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, méthanisables, compostables. Rapport final, Association RECORD, Contrat n 00-0118 A, 1, 2001. 151 p.

13-ZNAIDI I., (2002). Etude et évaluation du compostage de différents types de matières organiques et des effets des jus de composts biologiques sur les maladies des plantes. Thèse de magistères. Tunisie, 85p.

14-NOVA ENVIROCOM, (2002).

15-- LECLERC, (2001).

16-JIMENEZ E.I.-GARCIA V.P. (1992). "A composting of domestic refuse and sewage sludge. I.Evolution of temperature, pH, C/N ratio and cation-exchange capacity." *Bioresource Technol.* ,41, 3: 265-272

17-BERNAL M.P.-Navarro A.F.-Roig A.-Cegarra J.-Garcia D. (1996). "Carbon and nitrogen transformation during composting of sweet sorghum bagasse." *Biol. Fertil. Soil.* 22: 141-148.

18-HAUG R.T. (1993). "The practical handbook of compost engineering." Boca Raton, Florida : 717.

19- DAMIEN A. (2004). "Guide du traitement des déchets, 3ème édition." Paris, France: 431.

20- CANET R. & POMARES F. (1995). "Changes in physical, chemical and physicochemical parameters during the composting of municipal solid waste in two plants in Valencia." *Bioresource Technology* 51: 259-264.

21- SANCHEZ-MONEDERO M.A., ROIG A., PAREDES C. & BERNAL M.P. (2001). "Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, Ec and maturity of the composting mixtures." *Bioresource Technology* 78: 301-308.

22- VENGLOVSKY J.-SASAKOVA N.-VARGOVA M.-PACAJOVA Z.-PLACHA I.-PETROVSKY M. & HARICHOVA D. (2005). "Evolution of temperature and chemical parameters during composting of pig slurry solid fraction amended with natural zeolite." *Bioresource Technology* 96: 181-189.

23- LIANG C.-DAS K.C. & McCLENDON R.W. (2003). "The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a solids composting blend." *Bioresource Technology*, 86: 131-137.

24- NOBLE R. & ROBERTS S.J. (2003). "A review of the literature on eradication of plant pathogens and nematodes during composting, diseases suppression and detection of plant pathogens in compost." *The Waste and Resources Action Programme (W.R.A.P).* Novembre 2003 : 42.

25-LUCERO-RAMIREZ B. (2000). "The Effects of Time and Temperature on the Fate of Pathogens and Indicator Bacteria During Municipal Wastewater Sludge - Mesophilic Anaerobic Digestion, Air-Drying, and Composting". Austin, Texas (United-States),The University of Texas: 205.

26- GOLUEKE, 1991 dans DEPORTES I.- BENOIT- GUYOT J.L. & ZMIROU D. (1995). "Hazard to man and the environment posed by the use of waste urban compost: a review." *The science of the Total Environment* 172: 197-222.

27-ADEME. (1998). " Le compostage des déchets organiques des ménages en Allemagne - Etat de l'art et retours d'expérience." Paris, France : 188.

28- W.R.A.P, 2004

29-HAMER G. (2003). "Solid waste treatment and disposal: effects on public health and environmental safety." *Biotechnology Advances* 22: 71-79.

30- TIQUIA S.M. & TAM N.F.Y. (1998). "Composting pig manure in Hong Kong." *Biocycle* 39 (02): 78-79.

31-HAUG R.T. (1993). "The practical handbook of compost engineering." Boca Raton, Florida : 717.

32- GOOTAS, 1959, www.ademe.fr

33-SADAKA S. & EL-TAWEEL A. (2003). "Effects of aeration and C:N Ratio on household waste composting in Egypt." *Compost Science & Utilization* 11 (1): 36-40

34-BERNAL, M. P., SANCHEZ-MONEDERO, M. A., PAREDES, C. & ROIG, A. (1998). Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **69**, 175-189.

35-EGGEN T. & VETHE O. (2001). "Stability indices for different composts." *Compost Science & Utilization* 9: 19-36. BERNAL, M. P., SANCHEZ-MONEDERO, M. A., PAREDES, C. & ROIG, A. (1998).

36- HOUOT A, 2002) HOUOT S.-C. FRANCOU and C. VERGE-LEVIEL. (2001). "Gestion de la maturité des composts: conséquence sur leur valeur agronomique et leur innocuité. " *Les nouveaux défis de la fertilisation raisonnée; Actes des 5èmes rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse de la terre. Palais des Congrès de Blois. 27-29 novembre 2001. Ed. G.Thevenet (Comifer) et A.Joubert (Gemmas).*

37-IANNOTTI D.A.-GREBUS M.E.-TOTH B.L.-MADDEN L.V. & HOITINK A.J. (1994). "Oxygen respirometry to assess stability and maturity of composted municipal solid waste." *J. Environ. Qual.*,23: 1177-1183.

38-CANET R. & POMARES F. (1995). "Changes in physical, chemical and physicochemical parameters during the composting of municipal solid waste in two plants in Valencia." *Bioresource Technology* 51: 259-264.

39-ATKINSON C.F.-JONES D.D.-GAUTHIER J.J. (1996). "Biodegradabilities and microbial activities during composting of municipal solid waste in bench-scale reactors." *Compost Science & Utilization* 4, 4: 14-23.

40- Waas, 1996.

41- BARI Q.H. & KOENIG A. (2001). "Effect of air recirculation and reuse on composting of organic solid waste." *Resources, Conservation and Recycling* 33: 93-111.

42-ILLMER & SCHINNER, 1996.

43- BLAINE, (1993) .

44- SLIMANI, (2005) . La gestion des déchets ménagers dans la ville d'Ouargla avec un essai de compostage. Thèse d'Ing.ECO. Veg-Env. ITAS, Ouargla, 111p

45- FINSTEIN et MORRIS, (1975).

46- TOUMELA M., VIKMAN M., HATAKKA A., & ITAVAARA M., (2000).

Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology* 72, 169-183.

47- ALBRECHT R.,(2007). Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts: nouvelle méthodologie du suivi des transformation de la matière organique. Thèse de doctorat. Université Paul Cézanne AIX-Marseille III, 189p.

48- Anastasi A., Varese G. C. et Marchisio V. F.(2005). Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. *Mycol.*, 97 (1), 33–44.

49- Riachi K. (1998). Compostage d'ordures ménagères et de déchets verts. Flore fongique et risques sanitaires potentiels. Thèse de doctorat. Grenoble, 200 pp.

50- Anastasi A., Varese G. C. et Marchisio V. F. 2005. Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. *Mycol.*, 97 (1), 33–44.

51-Ryckeboer J., Mergaert J., Vaes K., Klammer S., De Clercq D., Coosemans J., Insam H. et Swings J. (2003). A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Ann. Microbiol.*, 53 (4), 349-410.

52- Von Klotek A. (1962). Über das Vorkommen und Verhalten von Schimmelpilzen bei der Kompostierung städtischer Abfallstoffe. *Antonie van Leeuwenhoek*, 28, 141-160.

53- Lazarovits G. (2001). Management of soil-borne plant pathogens with organic soil amendment: a disease control strategy salvaged from the past. *Can. J. Plant Pathol.*, 23, 1-7

54- Hoitink H. A. J. et Boehm M. J. (1999). Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 37, 427–446.

55-Larbi M. (2006). Influence de la qualité des composts et de leurs extraits sur la protection des plantes contre les maladies fongiques. Thèse de Doctorat Es-Sciences,

Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel, Institut de Botanique, 140 pp. + annexes.

56-Atkinson, C.F., Jones, D.D. & Gauthier, J.J. 1997 Microbial activities during composting of pulp and paper-mill primary solids. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 13, 519–525.

57-Kwok, O.C.H., Fahy, P.C., Hoitink, H.A.J. & Kuter, G.A. 1987 Interactions between bacteria and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media. *Phytopathology* 77, 1206–1212.

ANNEXE 01 :

A. Matériels utilisées :

- Tubes à vis stériles
- Flacons stériles
- Boîtes de pétries
- Pipettes pasteurs
- Micropipette de 1000 μ l et de 100 μ l
- Bec benzène
- Anse de platine
- Agitateur magnétique chauffante
- Incubateur
- Réfrigérateur de 4°C.
- Autoclave
- Papier Aluminium
- Microscope de grossissement x100.
- Lames et lamelles stériles
- Bain maries.
- Vortex.

B. Les réactifs :

- violet de gentiane
- Fuschine de Ziehl
- Lugol
- Alcool
- Eau physiologie 0,9%.

C. Milieu utilisés :

- Gélose nutritif
- MEA
- PDA

Résumé : Le but de notre travail c'est l'étude de la microflore des composts de ferme et des composts commerciaux de la région d'Ain Témouchent, les résultats montrent que diversité microbienne, bactéries et champignons varie selon le milieu de culture et la température d'incubation.

09 genres de champignons ont été isolés et identifiées. Parmi ces espèces, on trouve les *Penicillium spp*, *Cladosporium spp*, *Fusarium spp*, *Alternaria spp*, *Dactylosprium spp*, *Gliocladium spp*, *Microsporium spp*, *Aspergillus spp*, et *Streptomyces spp* et des bactéries Gram(+) et à Gram(-) à des formes bâtonnet coccobacilles.

L'inventaire de la microflore de ces composts permettra d'obtenir une idée sur ses qualités et son degré de maturité.

Mots clés : Compost, compostage, microflore, isolement, identification.

Abstract : The aim of our work is to study the microflore of commercial composts and farm compost in Ain Temouchent, the results showed that diversity microbiens Bacteria and fungi varies according to the culture medium and the incubation's temperature. Nine(09) species of fungi were isolated and identified. They are *Penicillium spp*, *Cladosporium spp*, *Fusarium spp*, *Alternaria spp*, *Dactylosprium spp*, *Gliocladium spp*, *Microsporium spp*, *Aspergillus spp*, et *Streptomyces spp* and bacteria Gram(-) and Gram(-) with rod-shaped and coccobacilli. The inventory of the microflora of these composts will get an idea about its qualities and maturity.

Key words: Compost, composting, microflora, isolation, identification ,

ملخص: الهدف من هذا العمل هو دراسة الميكروفلورا للسماد الحيواني والسماد العضوي لمنطقة عين تيموشنت. النتائج أظهرت التنوع الميكروبي منبكتيريا وفطريات مختلفة على حسب الوسط النمو ودرجة حرارة الحضارة.

09 فطريات تم عزلها وتحديد سلالتها ' من بين هذه السلالات وجدنا

Penicillium spp, *Cladosporium spp*, *Fusarium spp*, *Alternaria spp*, *Dactylosprium spp*,

spp Gliocladium spp, *Microsporium spp*, *Aspergillus spp*, et وبكتيريا Gram(+) وGram(-)

Streptomyces spp ذات الأشكال الكروية البيضوية والبيضوية الشكل' المخزون الميكروبي للسماد العضوي

والسماد الحيواني تعطي لنا فكرة حول جودة السماد.

كلمات مفتاحية : السماد' التسميد' عزل 'تحديد' ميكروفلورا