

AT 15	Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies	Année 2023-2024
	<b><u>Étude de la flore de terreaux</u></b>	

### **Objectifs :**

- Dénombrer la FMAT sur 3 terreaux

### **Contexte :**

L'objectif général est de réduire l'empreinte environnementale des déchets ménagers.

Dans ce cadre on souhaite réaliser une étude comparative de terreaux de la filière. Pour cela nous allons réaliser une analyse comparative de la FMAT sur 3 terreaux différents, un d'origine commerciale et deux issus de la transformation de déchets organiques.

## **I- Dénombrement de la FMAT dans les terreaux**

### **1) Réflexions préliminaires**

**a-** Parmi les milieux proposés dans les fiches techniques en annexe I, choisir le milieu le plus adapté au dénombrement des bactéries dans les terreaux.

**b-** Réaliser l'organigramme de la manipulation

### **2) Mise en œuvre expérimentale**

**A réaliser par groupe de 4 :**

- Peser 25g de terreau et les mettre dans un sac à Stomacher
- Ajouter 225mL d'eau physiologique stérile dans le sac à Stomacher contenant le terreau
- Mélanger au stomacher pendant 10 min

**A réaliser en individuel :**

- Réaliser des dilutions décimales jusqu'à  $10^{-6}$  en eau physiologique stérile à partir d'une **suspension de terreau**
- Ensemencer en masse et **en duplicat** les dilutions  $10^{-4}$  à  $10^{-6}$  dans la gélose choisie.

## **II- Exploitation des résultats**

**Q1-** Présenter le résultat du dénombrement de façon appropriée.

**Q2-** A l'aide de la formule AFNOR, déterminer la concentration bactérienne dans la suspension de terreau.

**Q3-** Calculer le nombre de bactérie par g de terreau.

**Q4-** Établir un tableau récapitulatif de l'ensemble des résultats de la classe.

**Q5-** Conclure sur le terreau dont la flore bactérienne est la plus riche.

**Q6-** Indiquer si le terreau est une matrice polymicrobienne. Justifier.

**Q7- SYNTHESE :** A l'aide des documents proposés dans **l'annexe II**, élaborer une synthèse en ARGUMENTANT la réponse à la question suivante :

Quels sont les enjeux de l'étude de la biodiversité microbienne des sols ?

AT 15	Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies	Année 2023-2024
	<b><u>Étude de la flore de terreaux</u></b>	

## Annexe I

### GELOSE LACTOSEE AU TTC ET AU TERGITOL 7

#### DOMAINE D'UTILISATION

La gélose lactosée au TTC (chlorure de triphényltétrazolium) et au Tergitol 7 permet d'effectuer la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux, notamment celles destinées à la consommation humaine, par la méthode des membranes filtrantes. Ce milieu est préconisé dans la norme NF EN ISO 9308-1.

#### PRINCIPE

- Le Tergitol 7 inhibe la croissance des microorganismes à Gram positif, limite l'envahissement par les *Proteus* et favorise la récupération des coliformes.
- Les coliformes présentent des colonies de coloration jaune ou orangé, à l'intérieur d'un halo jaune visible sous la membrane. Cette coloration est provoquée par le virage du bleu de bromothymol lors de l'utilisation du lactose.
- Les autres microorganismes présentent des colonies dont la coloration rouge est due à la réduction du TTC en formazan insoluble.
- Les germes qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies entourées d'un halo bleu.

#### FORMULE - TYPE du milieu complet

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande .....10,0 g
- Extrait de viande .....5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....6,0 g
- Lactose .....20,0 g
- Tergitol 7 .....0,1 g
- Bleu de bromothymol .....50,0 mg
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium .....25,0 mg
- Agar agar bactériologique.....10,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

AT 15	Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies	Année 2023-2024
	<b>Étude de la flore de terreaux</b>	

## FICHE TECHNIQUE

# GELOSE POUR DENOMBREMENT (PCA)

### DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES TOTAUX

## 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose glucosée à l'extrait de levure, appelée par les Anglo-Saxons "Plate Count Agar" ou PCA, est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans les produits alimentaires, les produits d'alimentation animale et les échantillons de l'environnement.

Elle est aussi utilisée pour le dénombrement des microorganismes psychrotrophes.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF EN ISO 4833-1 et 2, NF ISO 17410, XP V08-034 ; T90-425 et ISO 14461-1.

## 2 HISTORIQUE

La gélose pour dénombrement est préparée avec les mêmes ingrédients que ceux utilisés à l'origine par Buchbinder *et al.* Dans leurs travaux, ils comparèrent plusieurs lots d'extrait de levure et montrèrent que les résultats obtenus (sans lait ajouté au milieu) étaient satisfaisants pour les numérations de germes contaminant des échantillons de lait cru et pasteurisé. La transparence du milieu et la taille satisfaisante des colonies obtenues permettaient de faciliter les comptages.

## 3 PRINCIPES

Les substances nutritives apportées par la Tryptone, les facteurs vitaminiques de l'extrait de levure et le glucose (source énergétique) favorisent la croissance de la plupart des bactéries à dénombrer.

En bactériologie laitière, il est recommandé d'ajouter 1 g de lait écrémé en poudre par litre de milieu reconstitué (gélose pour dénombrement au lait écrémé ; BK161HA ou BM086).

## 4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone .....	5,0 g
- Extrait autolytique de levure .....	2,5 g
- Glucose .....	1,0 g
- Agar agar bactériologique .....	12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,0 ± 0,2.

AT 15	Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies	Année 2023-2024
	<b>Étude de la flore de terreaux</b>	

## FICHE TECHNIQUE

# GELOSE SYMPHONY

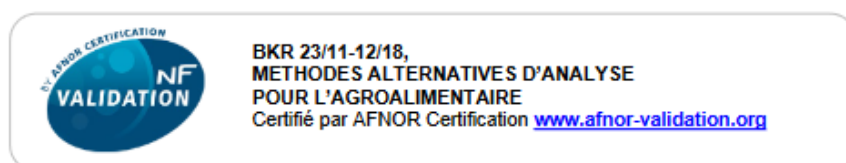
### DENOMBREMENT DES LEVURES ET MOISSURES

## 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Symphony est utilisée pour le dénombrement des levures et des moisissures dans tous les produits alimentaires et dans les produits d'alimentation animale, indépendamment de leur teneur en eau. Elle est aussi adaptée pour l'analyse des produits de l'environnement et pour les contrôles d'ambiance. Elle permet l'analyse des eaux en filtration sur membrane.

La méthode est certifiée NF VALIDATION, selon le protocole de validation ISO 16140-2 :2016, pour tous produits d'alimentation humaine et animale.

La méthode permet un dénombrement après seulement 54 heures d'incubation, contre minimum 5 jours pour les méthodes normalisées



Se référer au certificat disponible sur le site NF VALIDATION pour la date de fin de validité de la méthode. Les méthodes de référence utilisées pour la validation sont les normes NF ISO 21527-1 et NF ISO 21527-2.

## 2 PRINCIPES

Les peptones, le glucose et les activateurs de croissance ont été spécialement sélectionnés pour optimiser le développement rapide des levures et des moisissures.

Le rose bengale assimilé par les levures facilite leur dénombrement en colorant les colonies en rose.

Le système sélectif, associé au pH du milieu, permet d'inhiber la plupart des bactéries contaminantes.

Le milieu est formulé de façon à réduire la propagation des thalles de Mucor et faciliter ainsi leur dénombrement dès 54 heures d'incubation. Il est aussi adapté au dénombrement des spores de moisissures.

## 3 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- peptones.....	10,0 g
- Glucose.....	18,0 g
- Activateurs de croissance.....	1,0 g
- Système sélectif.....	1,0 g
- Agar agar bactériologique.....	15,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 5,6 ± 0,2.

## Annexe II

### DOCUMENT 1 :



# Qu'est-ce que l'IPBES ?

☰ Relations internationales

Dernière modification : 11 septembre 2023 | ⌚ 3 minutes

## L'essentiel

- La plateforme intergouvernementale scientifique et politique sur la biodiversité et les services écosystémiques (IPBES) a été créée en 1992.
- Cette plateforme publie régulièrement des **travaux scientifiques** sur l'état de la biodiversité à destination des gouvernements de ses États membres. Ces travaux servent de base aux **négociations internationales** pour freiner le déclin de la biodiversité.

### 3 Une expertise scientifique à destination des décideurs politiques ^

En mai 2019, l'IPBES publie le premier rapport d'évaluation mondiale sur la biodiversité et les services écosystémiques, fondé sur 15 000 références scientifiques et gouvernementales. Il révèle un **taux d'extinction des espèces** sans précédent et établit que la santé des écosystèmes dont dépend l'humanité pour sa survie se dégrade plus vite que jamais.

Les deux rapports publiés en juillet 2022, l'un sur la surexploitation d'espèces sauvages, l'autre sur les valeurs et l'évaluation de la nature, ont alimenté les réflexions de la COP 15 sur la biodiversité organisée en décembre 2022 au Canada. À l'issue de cette conférence, l'accord signé par les 195 pays plus l'Union européenne prévoit notamment de protéger 30% de la planète d'ici 2030 et de restaurer 30% des écosystèmes.

**DOCUMENT 2 :**



Ainsi, il est aujourd’hui incontestable que les activités humaines conduisent à un déclin massif de la diversité des microbiotes intestinaux humains et de racines des plantes cultivées. L’érosion de la biodiversité commence au plus proche des populations humaines, dans nos intestins comme dans nos champs. Mieux comprendre aujourd’hui le fonctionnement de ces microbiotes et les facteurs qui les perturbent ouvrira la voie à un meilleur contrôle de ces symbioses afin de prévenir leur déclin, d’atténuer les conséquences de leur absence, et d’au contraire profiter de leurs bienfaits.

(...)

À partir d’un échantillon contenant des microorganismes, les molécules d’ADN de ces derniers sont extraites puis, grâce à des amorces spécifiques d’une région d’ADN (par exemple l’ARNr 16S pour les bactéries ou la région ITS pour les champignons), des codes-barres moléculaires sont amplifiés et séquencés. Sur ordinateur, les séquences d’ADN codes-barres obtenues sont ensuite regroupées par similarité sous forme d’unités taxonomiques opérationnelles (OTU) puis comparées à des bases de données afin de déterminer leur taxonomie. Dans cet exemple, quatre OTU sont détectées, chacune assignée à une espèce bactérienne. Cependant, les bases de données sont largement incomplètes car de nombreuses espèces bactériennes n’ont pas encore été décrites. Il arrive donc fréquemment qu’une OTU ne puisse être assignée à l’échelle de l’espèce, mais seulement à l’échelle du genre ou de la famille.

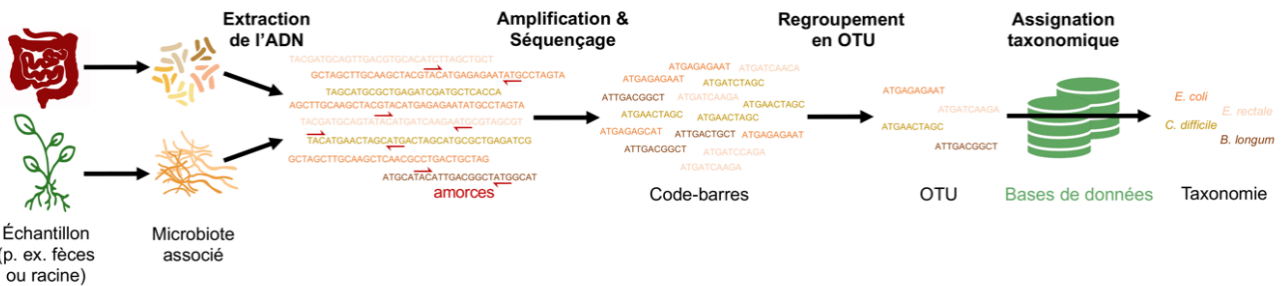


Figure 1 - Le metabarcoding comme moyen de documenter la biodiversité microbienne



AT 15	Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies	Année 2023-2024
	<b>Étude de la flore de terreaux</b>	

### **DOCUMENT 3**

La diversité microbienne des sols subit-elle la 6e extinction ?

Publié par [Bourgogne-Franche-Comté Nature](#), le 29 novembre 2021



## **Le mot de l'expert**

**Lionel RANJARD, Directeur de recherche à l'Unité Mixte de Recherche Agro écologie INRAE Dijon**

### **Quelles sont les applications de votre recherche ?**

Les scientifiques travaillent de plus en plus en lien avec les agriculteurs et viticulteurs dans une approche participative. Ils mettent à leur disposition des outils opérationnels de diagnostic pour analyser leurs sols et identifier avec eux quels seraient les itinéraires techniques les plus vertueux. Une baisse inexplicable de rendements est observée par endroits et nous suspectons que l'altération de la biologie du sol en soit à l'origine. En veillant sur la biodiversité de ses sols, le milieu agricole ne cherche pas forcément à gagner en productivité, mais à assurer une durabilité de sa production. La transition vers des pratiques agroécologiques ne se fait pas par coercition, mais par sensibilisation, formation et convergence.

### **DOCUMENT 4 :**



Phyteis est l'organisation professionnelle qui fédère, en France, les 18 entreprises accompagnant les agriculteurs dans la protection de leurs cultures grâce à l'agronomie digitale, les biotechnologies, la bioprotection et la phytopharmacie conventionnelle.

*«En comprenant mieux le fonctionnement du microbiote du sol, les chercheurs peuvent créer des bioproduits qui interagissent positivement dans la croissance de la plante, ajoute Marie Rigouzzo, responsable du groupe biotechnologies pour Phyteis. L'objectif est de booster l'immunité naturelle des cultures mais aussi de les protéger contre les maladies. »*

AT 15	<i>Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies</i>	Année 2023- 2024
	<b><u>Étude de la flore de terreaux</u></b>	

## Sources

<https://www.vie-publique.fr/fiches/274837-quest-ce-que-la-plateforme-sur-la-biodiversite-ipbes>

<https://www.echosciences-bfc.fr/articles/la-diversite-microbienne-des-sols-subit-elle-la-6e-extinction>

<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/ecologie/biodiversite/la-biodiversite-microbienne-a-l-epreuve-de-l-action-humaine>

<https://phyteis.fr/actualites/caracteriser-le-microbiote-du-sol-pour-renforcer-la-bioprotection/>



AT 15	Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies	Année 2023-2024
	<b><u>Étude de la flore de terreaux</u></b>	

## Vieux documents

### Source 1 : Vieille ressource (1970) qui parle de la FMAT...

#### 4° Densité et biomasse bactérienne dans les sols

La densité bactérienne dans les sols - déterminée à partir des méthodes classiques de dilution et comptage sur milieux de cultures liquides ou solides - oscille entre  $10^6$ ,  $10^9$  et même  $10^{10}$  unités/g de sol. Par microscopie directe, les densités observées sont 300 à 1000 fois plus élevées. En admettant une densité de  $10^9$  cellules bactériennes/g de sol, la biomasse correspondante est de l'ordre de 2500 kg/ha. En effet, en supposant que la masse spécifique des cellules bactériennes fraîches est de 1,0 environ et que leur volume moyen est de  $1/13$ , chaque gramme de sol renferme:  $1 \text{ JL3} \times 1 \times 10^{-12} \times 10^9 \text{ g} = 1 \times 10^{-3} \text{ g}$  de cellules bactériennes. Si l'on considère d'autre part qu'à une parcelle d'une superficie de 1 ha correspond un poids de terre biologiquement active de l'ordre de 2500 t, on trouve par ha 2500 kg de Bactéries.

Il s'agit là d'un chiffre moyen puisque les estimations de la biomasse bactérienne varient de 330 kg à 7000 kg/ha suivant les cas, les chiffres les plus élevés ayant été signalés dans les sols cultivés en Légumineuses. On admet que la biomasse bactérienne est, en général, sensiblement inférieure à celle des Champignons bien que la densité des Bactéries soit environ 100 fois plus élevée que celle des Champignons; la biomasse des Bactéries est du même ordre de grandeur que celle des Actinomycètes bien que la densité de ces derniers micro-organismes soit environ 10 fois plus faible. Dans la plupart des cas, la biomasse des Bactéries dépasse la biomasse des Algues, Protozoaires et Nématodes réunis (CLARK, 1967). Dans les sols soumis à des conditions écologiques très dures (régions arctiques, régions arides), les densités bactériennes sont évidemment beaucoup plus faibles; mais elles tombent rarement au-dessous de  $10^4$  à  $10^5$  dans les horizons superficiels.

Bien que le sol n'apparaisse pas à première vue comme un milieu exceptionnellement favorable à la prolifération des Bactéries, on y a souvent mis en évidence des densités (voir, par exemple, le tableau LXXX) comparables à celles que l'on observe dans des milieux apparemment plus propices, tels fumiers, déjections animales

YVON DOMMERGLIES **Directeur de Recherche** au c. N. R. s.

FRANÇOIS MANGENOT **Professeur à la Faculté des Sciences** de Nancy

### Source 2 : La microbiologie des sols au service de la production agricole



<https://youtu.be/gyrme0m21Kw>

Regarder de 2:00 à 18:06

AT 15	Terminale - Biochimie Biologie Biotechnologies	Année 2023-2024
	<b>Étude de la flore de terreaux</b>	

**Source 3 : Les rôles des micro-organismes dans le sol**



[https://www.gissol.fr/wp-content/uploads/2019/10/Posters\\_Gis\\_web\\_Micro\\_organisme-2.pdf](https://www.gissol.fr/wp-content/uploads/2019/10/Posters_Gis_web_Micro_organisme-2.pdf)

**Source 4 : évaluation de la biodiversité microbienne des sols**



[https://www.gissol.fr/fiches\\_pdf/Ecomic.pdf](https://www.gissol.fr/fiches_pdf/Ecomic.pdf)

**Source 5 : Bioturbation with and without soil fauna**



<https://youtu.be/Mxp1nnrUG0Q> 2 minutes 26

**Source 6 : dans dossier/ la terre et l'humus**



<http://www.astrosurf.com/luxorion/eco-terre-humus.htm>

**Source 7 : Évolution de la biodiversité bactérienne des sols**



<https://naturefrance.fr/indicateurs/evolution-de-la-biodiversite-bacterienne-des-sols>