

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE: SCIENCES DE LA VIE, DE SANTE ET DE  
L'ENVIRONNEMENT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2015

N° d'ordre :



## THESE DE DOCTORAT

Spécialité : **Biotechnologies Végétales et Microbiennes et Amélioration des Plantes**

Présentée par :

**NDèye Diara DIALLO**

**Production de Compost de Bagasse et mesure de son efficacité sur  
deux cultures : *Phaseolus vulgaris* et *Solanum lycopersicum*.**

Soutenue le 20 Janvier 2016 devant le jury composé de :

<b>Président :</b>	Samba Ndao SYLLA	Professeur titulaire	FST/UCAD
<b>Rapporteurs :</b>	Ibrahima NDOYE	Professeur titulaire	FST/UCAD
	Marc LABAT	Directeur de recherches	IRD/Marseille
	Saliou FALL	Maître de recherches	ISRA
<b>Examineurs :</b>	Falilou MBacké SAMBE	Maître de conférences	ESP/UCAD
	Massaer NGUERE	Chargé de recherches	ISRA
<b>Directeur de thèse :</b>	Cheikh Tidiane MBAYE	Maître de conférences	ESP/UCAD
<b>Encadreur :</b>	Malick MBENGUE	Maître assistant	ESP/UCAD

UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR  
ECOLE DOCTORALE: SCIENCES DE LA VIE, DE SANTE ET DE  
L'ENVIRONNEMENT

FACULTE (OU ECOLE) : FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES  
THESE DE DOCTORAT

**Spécialité** : Biotechnologies Végétales et Microbiennes et Amélioration des Plantes

**Résumé**

**Nom et prénoms du Candidat** : DIALLO NDèye Diara

**Titre de la thèse**: Production de compost de bagasse et mesure de son efficacité sur deux cultures : *Phaseolus vulgaris* et *Solanum lycopersicum*.

**Jury** : Président : Samba Ndao SYLLA

Membres : Ibrahima NDOYE

Marc LABAT

Saliou FALL

Falilou MBacké SAMBE

Massaer NGUERE

Malick MBENGUE

Cheikh Tidiane MBAYE

L'ajout de microorganismes durant un processus de compostage a longtemps été pratiqué, et a permis d'améliorer la qualité du produit final et de raccourcir le temps de compostage. Le compost obtenu qui est utilisé comme engrais ou amendement au sol, est capable d'améliorer le rendement des cultures, ainsi que les propriétés du sol.

Dans cette étude, une souche bactérienne a été isolée d'un compost mature, ses caractères biochimiques, physiologiques et moléculaires ont été déterminés, et ont permis son identification comme étant une souche de *Bacillus sp.* CMAGI2. Cette nouvelle espèce, *Bacillus sp.* CMAGI2 et une autre souche de référence *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>, ont été utilisées dans cette étude. Elles ont montré certaines capacités enzymatiques importantes durant un compostage à base de substrat d'origine agricole riche en composés lignocellulosiques. Cependant, seule *B. sp.* CMAGI2 a été capable d'agir en tant que bactérie promotrice de croissance des plantes. Ces deux souches ont été utilisées en tant qu'inoculum lors du compostage à base de bagasse de canne à sucre supplémenté de fumier de vache. Ce compostage a duré cinq mois et les paramètres physico-chimiques et biologiques ont été suivis. Les composts inoculés ont été mieux dégradés et ont montré de meilleurs caractères de maturité et de stabilité comparés au compost témoin. Les souches inoculées seules ont aussi montré un effet sensiblement inhibiteur sur les autres flores microbiennes présentes durant le processus de compostage, alors que le compost témoin et le compost mixte n'ont pas montré cet effet. Des essais de cultures agricoles ont été réalisés par rapport à un témoin (terreau) et les quatre composts produits n'ont montré aucune différence significative par rapport au témoin sur le rendement des cultures, malgré les différences de paramètres de maturité notées entre eux.

Somme toute, cette étude a montré que l'utilisation des souches de *Bacillus* pourrait s'avérer très intéressante lors d'un processus de biodégradation de matériel lignocellulosique.

**Mots-clés** : Compostage - Bagasse de canne à sucre - *Bacillus sp.* CMAGI2 - *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> - rendement - haricot vert – tomate.

## **Bagasse compost production and measure of it efficacy on two cultures: tomato and green bean.**

### **Abstract:**

The addition of microorganisms during a composting has long been practiced and improved the final product quality, to shorten the time of composting. The resulting compost is used as fertilizer or soil amendment, can improve crop yields and soil properties.

In this study, a bacterial strain was isolated from mature compost with biochemical; physiological and molecular characteristics were performed and identified as *Bacillus sp.* CMAGI2, and another type strain *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> were used in this study. These strains showed some important enzymatic capabilities during a composting-based rich agricultural lignocellulosic substrate compounds. Only, *B. sp.* CMAGI2 can promote the plant growth. These two strains were used as inoculum during composting of sugar cane bagasse supplemented with cow manure. Composting was done during five months and the physico-chemical and biological parameters were monitored. Inoculated composts were better degraded and showed better maturity and stability characters compared to the control compost. Inoculated strains alone also showed a sensibly inhibitory effect on the native microbial flora, whereas the control compost and mixed compost didn't show this effect. Agronomic evaluation was carried out and compared to a control (soil), and the four composts products showed no significant difference compared with the control on the crop yield, despite differences maturity parameters between them. This study showed of *Bacillus* strains could be very attractive when applied during the composting based on lignocellulosic material.

**Key-words:** Composting – Sugar cane bagasse - *Bacillus sp.* CMAGI2 - *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> - yield - Green bean – Tomato.

# *Dédicaces*

*A ALLAH LE TOUT-PUISSANT ET AU PROPHETE MOUHAMED (P.S.L.)*

A la mémoire de mon regretté père **Moustapha DIALLO**, qui nous manque terriblement, arraché à notre affection à ma dernière année de Thèse. En hommage à l'homme extraordinaire, généreux, image de père exemplaire qu'il a toujours été. A travers cette recherche, je lui adresse un petit clin d'œil espérant qu'il soit fier de moi. Que le bon DIEU l'accueille dans son Paradis Céleste.

A ma mère **Arame SY**, ma grande amie, ma confidente, je ne pourrai exprimer la profondeur de mes sentiments. Je serai toujours là pour toi et nulle déclaration ne m'allégerait de cette responsabilité. A Mes Chers frères : **Cheikh A. T. DIALLO** et **Alpha O. DIALLO**, spéciale dédicace à vous et merci pour votre soutien.

Que DIEU le tout puissant vous comble de santé, de paix et vous accorde une longue vie.

Je ne trouverai jamais assez de mots pour vous exprimer tout mon amour et ma profonde gratitude pour les sacrifices consentis.

A tous mes proches ainsi qu'à tous mes amis et toutes mes amies :

Je vous porte constamment dans mon cœur, je ne me lasserai pas de vous remercier et de vous aimer.

## *Remerciements*

Grand merci à Monsieur **Cheikh Tidiane MBAYE**, mon Directeur de thèse, pour l'encadrement et pour son soutien tout au long de ma thèse.

A Monsieur **Samba Ndao SYLLA**, président du jury, aux Messieurs **Ibrahima NDOYE**, **Saliou FALL** et **Marc LABAT**, un grand merci pour avoir accepté de juger ce modeste travail, aux Messieurs **Falilou Mbacké SAMBE** et **Massaer NGUERE** qui ont accepté d'être les examinateurs.

A Monsieur **Emmanuel TINE** pour son accueil au sein du **Laboratoire de Microbiologie et Génie Industriel (MAGI)**. Recevez mes plus vifs et sincères remerciements pour le soutien, la générosité, et la disponibilité que vous n'avez cessé de m'apporter.

A mon encadreur, Monsieur **Malick MBENGUE** dont la disponibilité ainsi que les qualités humaines le définissent. Je ne le remercierai jamais assez pour tous les efforts consentis pour la réussite de ce travail, le soutien ainsi que pour toutes les connaissances acquises durant toutes ces années à ses côtés.

Aux Messieurs **Philippe KONE** de l'EISMV, **Mamadou BALDE** de l'ESP, **Pape NGOM** de la Faculté des Sciences et Techniques.

A ma deuxième famille du labo MAGI, les techniciennes **Mme K. Ly**, **Adama D. NGom**, **Mariama**, **Senghor** ; aux doctorants : **Abdoulaye Thioye**, **Alioune Marone**, au Docteur **Baba NGom**, je vous considère comme mes sœurs et frères. A Monsieur **Barry** communément appelé Monsieur X, merci pour sa disponibilité, l'ambiance et la bonne humeur qu'il nous transmet au labo MAGI. Merci à cette famille pour le soutien que vous m'avez apporté durant ces quatre années, les bons moments passés ensemble, le soutien affectif lorsque j'étais dans les durs moments.

Aux stagiaires : **Rokhaya**, **Mariétou**, **Mame Ndieumbe**, **Ami Collé**, **Kourouma**, merci pour l'aide apportée pendant les manipulations.

Au personnel du Laboratoire LAE : Messieurs **Dieng**, **Ayessou** et spécialement à **Amina** pour les analyses ainsi que le personnel du département de Génie chimie et biologie appliquée.

Aux doctorants du labo LFCIA et du labo EPM: **Ben cissé**, **Babacar**, **Sow**, **Khadim**, **Moussa Diedhiou**, **Djiby Diedhiou**, **Diouf**, **NDoye**, **Thiam...**

Je remercie le laboratoire de microbiologie de l'IRD Marseille Luminy pour leur collaboration dans la caractérisation moléculaire.

Un grand merci à l'**USAID-Era** pour l'octroi de l'allocation de recherche.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit du service de l'**ISRA** et pour l'accompagnement pendant les dernières étapes à travers l'allocation de recherche dans le cadre du programme de productivité agricole en Afrique de l'Ouest (**PPAO/WAAP**) **ISRA/CERAAS**.

Je remercie Monsieur **Massaer NGuere** pour avoir accepté de m'accueillir dans son unité à la station de l'ISRA à Sangalkam, sa gentillesse, son ouverture et sa disponibilité m'ont beaucoup touché. A tout le personnel de l'**UPPF** : **Mohameth Kâ** que j'appelle maître de stage, **Sané**, **Tonton Kébé**, **Makoba**, **Monsieur Diaw**, **Mère Adama Kâ**, **tonton Yague** et ceux que je n'ai pas pu citer...Leurs qualités humaines et surtout l'amour du travail bien fait, dans un esprit d'organisation et de méthodes, sont pour moi des exemples à suivre. Un grand merci pour l'appui que vous m'avez apporté.

A mes ami(es) : **Binou**, **Mbenda**, **Adja**, **Dame**, **Badou Arame**, **Khady**, **NDèye Sokhna**, **Thiambel**.

A mes camarades de promotion du primaire, du secondaire et de l'université.

**Au corps enseignant de la Faculté des Sciences Techniques** : l'enseignement que vous nous avez dispensé avec dévouement est précieux et guidera à l'avenir notre vie professionnelle. Encore merci.

Aux personnes dont je n'ai pu citer les noms et qui comptent énormément dans ma vie, j'ai toute l'estime et la reconnaissance.

## *Liste des abréviations*

<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>AIA</b>	acide indole acétique
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>C.S.S</b>	Compagnie Sucrière Sénégalaise
<b>CEC</b>	Capacité d'Echange Cationique
<b>CMC</b>	Carboxyméthylcellulose
<b>CMCase</b>	Carboxyméthylcellulase
<b>D.N.S</b>	Acide 3,5-dinitrosalicylique
<b>EPT</b>	Eau Peptonée Tamponnée
<b>ESP</b>	Ecole Supérieure Polytechnique
<b>FAO</b>	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sulfure d'Hydrogène
<b>IRD</b>	Institut de Recherche pour le Développement
<b>ISRA</b>	Institut Sénégalais de Recherches Agricoles
<b>MAGI</b>	Laboratoire de Microbiologie Appliquée et de Génie Industriel
<b>MH</b>	masse humide
<b>MO</b>	matière organique
<b>MS</b>	masse sèche
<b>NCBI</b>	National Center for Biotechnology Information
<b>PCR</b>	Réaction de Polymérisation en chaîne
<b>PGPR</b>	Plant Growth-Promoting Rhizobacteria.
<b>pH</b>	potential Hydrogène
<b>RM</b>	Rouge de Méthyle
<b>rpm</b>	rotation par minute
<b>TCA</b>	Acide Trichloracétique
<b>TDA</b>	Tryptophane désaminase
<b>UCAD</b>	Université Cheikh Anta Diop
<b>UPPF</b>	Unité de Production de Plants Fruitiers
<b>VP</b>	Voges-Proskauer
<b><math>\rho</math>NPG</b>	$\rho$ -nitrophényl- $\beta$ -D-glucoside
<b><math>\mu_{\max}</math></b>	vitesse spécifique de croissance

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1 :</b> Interactions compost-sol (extrait de Richard, 2005).....	<b>25</b>
<b>Tableau 2:</b> Quelques caractéristiques du compost mature .....	<b>37</b>
<b>Tableau 3:</b> Caractéristiques de la souche CMAGI2 isolée .....	<b>52</b>
<b>Tableau 4:</b> Comparaison entre <i>Lysinibacillus fusiformis</i> , <i>Lysinibacillus sphaericus</i> et <i>Bacillus</i> CMAGI2.....	<b>58</b>
<b>Tableau 5:</b> Comparaison entre <i>Bacillus sp.</i> JU2 et <i>Bacillus</i> CMAGI2.....	<b>59</b>
<b>Tableau 6:</b> Activités enzymatiques des souches de <i>Bacillus</i> .....	<b>60</b>
<b>Tableau 7:</b> Activités de promotion de croissance de plantes .....	<b>62</b>
<b>Tableau 8:</b> Quelques caractéristiques de la bagasse et du fumier avant le compostage .....	<b>69</b>
<b>Tableau 9:</b> Températures (°C) des quatre composts durant le compostage .....	<b>79</b>
<b>Tableau 10:</b> Humidité (%) dans les différents andains au bout de 147 jours .....	<b>80</b>
<b>Tableau 11:</b> Evolution du pH au cours du temps.....	<b>80</b>
<b>Tableau 12:</b> Nombre microbien des différents composts durant le compostage .....	<b>91</b>
<b>Tableau 13:</b> Qualité microbiologique des composts finaux.....	<b>91</b>
<b>Tableau 14:</b> Evolution des activités cellulase, $\beta$ -glucosidase et xylanase des différents composts.....	<b>94</b>
<b>Tableau 15:</b> Evolution des activités phosphatases acides et alcalines des différents composts .....	<b>95</b>
<b>Tableau 16:</b> Qualité agronomique des composts finaux .....	<b>97</b>
<b>Tableau 17 :</b> Caractéristiques des composts finaux .....	<b>105</b>
<b>Tableau 18:</b> Répartition aléatoire des traitements pour la culture de tomate.....	<b>108</b>
<b>Tableau 19 :</b> Répartition aléatoire des traitements pour la culture du haricot vert.....	<b>109</b>
<b>Tableau 20:</b> Taux de levée chez le haricot vert en fonction des différents traitements .....	<b>110</b>
<b>Tableau 21:</b> Résultats de l'ANOVA pour les paramètres de la culture du haricot vert.....	<b>111</b>
<b>Tableau 22:</b> Productivité en fruits de tomates.....	<b>113</b>
<b>Tableau 23:</b> Rendement de la production de tomates .....	<b>114</b>
<b>Tableau 24:</b> Paramètres microbiologiques des fruits de tomate post-récolte .....	<b>114</b>
<b>Tableau 25 :</b> Coefficient de corrélation entre les différents paramètres de rendement de tomate .....	<b>115</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Liaisons hydrogène intra et intermoléculaires de la cellulose (extrait de Moine, 2005).....	18
<b>Figure 2:</b> Exemple d'une unité d'hémicellulose : Arabino-4-O-méthyl-glucurono-xylane (Extrait de Kögel-Knabner, 2002).....	19
<b>Figure 3:</b> Modèle de lignine tridimensionnelle (Extrait de Kögel-Knabner, 2002).....	22
<b>Figure 4 :</b> Classification des systèmes de compostage (adapté de Border, 2002).....	29
<b>Figure 5:</b> Compost en andains retournés (Source : Mr Tine, professeur à l'ESP).....	30
<b>Figure 6:</b> Tas statique aéré (source FAO, 2005) .....	31
<b>Figure 7:</b> Aspect des colonies de la souche CMAGI2 (source : cette étude).....	51
<b>Figure 8:</b> Cinétique de la souche CMAGI2 isolée à 40°C .....	53
<b>Figure 9:</b> Courbe de température de croissance de la souche CMAGI2 .....	53
<b>Figure 10:</b> Cinétique de croissance de la souche CMAGI2 à 40°C à pH 8 .....	54
<b>Figure 11:</b> Courbe de pH de la souche à 40°C .....	54
<b>Figure 12:</b> Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en NaCl. ....	55
<b>Figure 13:</b> Cinétique de croissance de la concentration en glucose de 5g/l.....	55
<b>Figure 14:</b> Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en glucose.....	56
<b>Figure 15:</b> Cinétique de la concentration en casamino-acids (5g/l).....	56
<b>Figure 16:</b> Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en casamino- acids .....	56
<b>Figure 17 :</b> Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en fructose.....	57
<b>Figure 18:</b> Activités endo-glucanases de <i>B. sp.</i> et <i>B. subtilis</i> .....	61
<b>Figure 19:</b> Activités $\beta$ -glucosidases de <i>B. sp</i> et <i>B. subtilis</i> .....	61
<b>Figure 20:</b> Production d'AIA de la souche <i>B. sp.</i> CMAGI2 au cours du temps.....	62
<b>Figure 21:</b> Composteur rempli de bagasse (type andain) (source : cette étude) .....	69
<b>Figure 22:</b> Evolution du carbone des composts .....	83
<b>Figure 23:</b> Changements de la teneur en azote durant le compostage .....	84
<b>Figure 24:</b> Taux de matière organique au cours du compostage.....	84
<b>Figure 25:</b> Evolution du rapport C/N .....	84

<b>Figure 26:</b> Evolution de la concentration en NaCl au cours du compostage .....	<b>85</b>
<b>Figure 27:</b> Evolution du dénombrement microbien dans les différents andains: (a) bactéries sporulées ; (b) bactéries ; (c) flore fongique; (d) Actinomycètes; (e) coliformes fécaux ; (f) streptocoques fécaux ; (g) <i>Clostridium</i> . <i>Les barres verticales représentent l'écart-type (n=3)</i> . .....	<b>87</b>
<b>Figure 28:</b> Taux de perte des plants de haricot vert .....	<b>111</b>
<b>Figure 29:</b> Evolution de la croissance des plants de tomate dans le temps.....	<b>112</b>

# ***SOMMAIRE***

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>2</b>
<b>CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>6</b>
<b>1. LE COMPOSTAGE.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1. Généralités sur le compostage.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.1. Définition.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.2. Principes et processus .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.1. Phase mésophile.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1.2.2. Phase thermophile.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1.2.3. Seconde phase mésophile ou de refroidissement .....</b>	<b>9</b>
<b>1.1.2.4. Phase de maturation.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2. Les paramètres du compostage.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.1. Microbiologie du compost .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.1.1. Les bactéries.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2.1.2. Les champignons .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.1.3. Autres : Nématodes, protozoaires, archées et algues .....</b>	<b>12</b>
<b>1.2.2. La température.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2.3. Le rapport C/N .....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.4. L'humidité.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2.5. Le pH .....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.6. La Capacité d'Echange Cationique (CEC).....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.7. L'aération.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2.8. La teneur en matière organique.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3. Les types de substrats .....</b>	<b>16</b>
<b>1.3.1. Les glucides .....</b>	<b>17</b>
<b>1.3.1.1. La cellulose.....</b>	<b>17</b>
<b>1.3.1.2. L'hémicellulose .....</b>	<b>18</b>
<b>1.3.1.3. L'amidon .....</b>	<b>19</b>

1.3.1.4.	Les pectines .....	20
1.3.1.5.	La chitine.....	20
1.3.1.6.	La muréine (ou peptidoglycane) .....	20
1.3.2.	La lignine et le complexe lignocellulosique .....	21
1.3.3.	Les lipides.....	22
1.3.4.	Les protéines .....	22
1.3.5.	Autres composés .....	23
1.3.5.1.	Les tanins .....	23
1.3.5.2.	Les terpènes .....	23
1.3.5.3.	Autres polymères lipidiques .....	24
<b>1.4.</b>	<b>Objectifs du compostage.....</b>	<b>24</b>
1.4.1.	Les effets physiques .....	26
1.4.2.	Les effets chimiques .....	26
1.4.3.	Les effets biologiques .....	27
<b>1.5.</b>	<b>Les différents types de compostage.....</b>	<b>28</b>
1.5.1.	Compostage à l'air libre (ou système ouvert) .....	29
1.5.1.1.	Le compostage en andains retournés.....	30
1.5.1.2.	Le compostage en tas statique .....	30
1.5.2.	Compostage dans une enceinte close (ou système fermé).....	31
<b>1.6.</b>	<b>Qualité des composts.....</b>	<b>32</b>
1.6.1.	Valeur minérale .....	32
1.6.2.	Valeur amendante .....	33
<b>1.7.</b>	<b>Les biofertilisants .....</b>	<b>33</b>
 <b>CHAPITRE 2: LA CARACTERISATION DES SOUCHES .....</b>		<b>36</b>
 <b>INTRODUCTION.....</b>		<b>36</b>
<b>2.1.</b>	<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>37</b>
2.1.1.	Matériel biologique .....	37
2.1.1.1.	Origine du matériel biologique .....	37

2.1.1.2.	Origine des souches bactériennes.....	37
a)	<i>Bacillus subtilis</i> JCM 1465 <sup>T</sup> .....	37
b)	Souche de <i>Bacillus</i> isolé du compost.....	38
2.1.2.	Protocole d'isolement et d'identification de la souche du compost .....	38
2.1.2.1.	Isolement .....	38
2.1.2.2.	Caractérisation biochimique et physiologique .....	38
a)	Etude de la morphologie.....	38
b)	Test de sporulation .....	39
c)	Tests biochimiques .....	39
d)	Etude des conditions physiologiques de croissance.....	40
Influence de la concentration en fructose .....		41
2.1.2.3.	Caractérisation moléculaire .....	42
a)	Extraction et purification de l'ADN génomique.....	42
b)	Amplification de l'ADN .....	42
c)	Séquençage du fragment amplifié.....	43
d)	Analyse phylogénétique .....	44
2.1.3.	Tests Biochimiques .....	45
2.1.3.1.	Tests de capacités enzymatiques .....	45
a)	Activités cellulolytiques.....	45
b)	Activités hemicellulolytiques .....	46
c)	Activités pectinolytiques .....	46
d)	Activités ammonifiantes.....	46
e)	Activités solubilisant le phosphate .....	46
f)	Activités lipolytiques .....	47
g)	Activités amylolytiques .....	47
h)	Activités protéolytiques.....	47
2.1.3.2.	Tests d'activités enzymatiques .....	47
a)	Activité carboxyméthylcellulase (CMCase) ou endo-glucanase.....	48
b)	Activité $\beta$ -glucosidase ( $\beta$ -D-glucoside glucohydrolase).....	48
2.1.3.3.	Tests d'activités bactériennes promotrices de croissance des plantes.....	48
a)	Production d'acide indole acétique.....	48
b)	Solubilisation du phosphate.....	49
c)	Méthodes chimiques de détection de production de sidérophores .....	49

<b>2.2.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>50</b>
2.2.1.	Caractérisation de la souche isolée du compost.....	50
2.2.1.1.	Caractères morphologiques.....	50
2.2.1.2.	Caractères biochimiques et physiologiques .....	51
a)	Température .....	53
b)	pH.....	53
c)	Assimilation des substrats .....	54
2.2.1.3.	Caractérisation moléculaire .....	57
2.2.2.	Tests enzymatiques et de promotion de croissance des plantes .....	60
2.2.2.1.	Tests enzymatiques.....	60
2.2.2.2.	Tests de promotion de croissance des plantes.....	62
<b>2.3.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>63</b>
 <b>CONCLUSION.....</b>		<b>65</b>
 <b>CHAPITRE 3 : A. LE PROCESSUS DE COMPOSTAGE .....</b>		<b>67</b>
<b>3.1.</b>	<b>Matériel et méthodologie .....</b>	<b>68</b>
3.1.1.	Protocole de compostage suivi.....	68
3.1.1.1.	Préparation des souches bactériennes .....	68
3.1.1.2.	Procédé de compostage .....	68
3.1.1.3.	Protocole d'échantillonnage .....	70
3.1.2.	Paramètres physiques et chimiques.....	71
3.1.2.1.	Température .....	71
3.1.2.2.	Humidité et matière sèche .....	71
3.1.2.3.	Mesure du pH .....	71
3.1.2.4.	Détermination du taux de cendres.....	71
3.1.2.5.	Détermination de l'Azote total .....	72
3.1.2.6.	Dosage des chlorures.....	72
3.1.2.7.	Dosage du Carbone organique.....	73
3.1.2.8.	Rapport C/N.....	73
3.1.2.9.	Teneur en matière organique.....	73
3.1.2.10.	Dosage de certains minéraux.....	74

3.1.3. Paramètres biologiques.....	74
3.1.3.1. Analyses microbiologiques .....	74
3.1.3.2. Activités enzymatiques.....	76
a) Activités cellulases.....	76
b) Activités xylanases.....	77
c) Activités phosphatases .....	77
3.1.4. Analyses statistiques.....	78
<b>3.2. Résultats .....</b>	<b>78</b>
3.2.1. Activités physico-chimiques .....	78
3.2.1.1. Température, humidité et pH .....	78
3.2.1.2. Décomposition des matières premières durant le compostage.....	81
3.2.1.3. Concentration en NaCl des composts .....	85
3.2.2. Activités biologiques.....	86
3.2.2.1. Evolution des communautés microbiennes durant le compostage .....	86
3.2.2.2. Activités enzymatiques durant le compostage.....	92
a) Activités endo-glucanases et $\beta$ -glucosidases.....	92
b) Activités xylanases.....	93
c) Activités phosphatases .....	94
3.2.3. Qualité agronomique des composts .....	96
<b>3.3. Discussion.....</b>	<b>98</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>102</b>
<b>B. ESSAIS DES CULTURES SUR TERRAINS AGRICOLES .....</b>	<b>103</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>103</b>
<b>3.1. Matériel et méthodes.....</b>	<b>105</b>
3.1.1. Site expérimental .....	105
3.1.2. Matériel végétal .....	106
3.1.3. Essais des cultures .....	106
3.1.3.1. Essais sur la tomate .....	107
a) Méthodologie utilisée.....	107

b) Paramètres observés .....	108
3.1.3.2. Essais sur le haricot vert.....	108
a) Méthodologie utilisée.....	108
b) Paramètres observés .....	109
3.1.4. Analyses statistiques.....	109
<b>3.2. Résultats .....</b>	<b>110</b>
3.2.1. Essais sur haricot vert.....	110
3.2.1.1. Taux de levée.....	110
3.2.1.2. Perte en plants d'haricot vert.....	110
3.2.2. La culture de tomate .....	111
3.2.2.1. Hauteur des tiges de tomate .....	111
3.2.2.2. Rendement en tomate.....	112
a) Nombre de fruits récoltés .....	112
b) Poids des fruits.....	113
c) Flore microbienne des fruits post-récoltes .....	114
d) Relation entre les différents paramètres de rendement.....	115
<b>3.3. Discussion .....</b>	<b>116</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>118</b>
<b>DISCUSSION GENERALE .....</b>	<b>120</b>
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>123</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>127</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>146</b>

# ***INTRODUCTION GENERALE***

## Introduction générale

Dans le monde entier, les cultures légumières sont agressées par de nombreux ennemis (insectes, araignées, nématodes, champignons, bactéries, virus,...), ainsi elles doivent faire face à de nombreuses infections d'origine animale, virale et microbienne. Ce qui oblige les agriculteurs et phytopathologistes à trouver des moyens de lutte pour les combattre par l'utilisation des produits chimiques (engrais et pesticides). Selon la convention de Stockholm sur les polluants organiques, dix des douze produits chimiques les plus dangereux sont des pesticides (Gilden *et al.*, 2010). Ainsi une utilisation répétée des produits de synthèse entraîne souvent la pollution de l'environnement, l'apparition de souches résistantes et augmente la quantité des résidus sur les produits consommés. Ce qui s'avère être très dangereux aussi bien pour la santé humaine que pour l'environnement.

A côté de ces effets négatifs, l'agriculture en subit d'autres comme une grande perte du patrimoine humique, une dégradation des terres due aux mauvaises gestions de résidus de récolte, au phénomène d'érosion ainsi qu'à la pollution de l'environnement. Les techniques courantes et les méthodes agricoles (culture intensive...) contribuent à la réduction de la matière organique des sols, causant un déclin de leur fertilité qui s'observe aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement.

A cause des dangers environnementaux et socio-économiques, de l'exigence du marché extérieur ; il est impératif voire urgent de trouver d'autres moyens de lutte respectueux de toutes ces exigences car un des objectifs importants de l'agriculture durable est d'essayer de réduire les quantités d'intrants de synthèse tout en maintenant des rendements élevés et de qualité. Parmi ces méthodes, nous avons l'agriculture biologique qui peut être une alternative à ces produits chimiques, ou tout au moins permettre une diminution de leur utilisation. Elle représente un enjeu de taille pour le Sénégal, car elle participe à la protection de l'environnement, à la santé des agriculteurs ainsi qu'à l'obtention de produits sains de qualité. Parmi les méthodes d'agriculture biologique, nous pouvons citer le compostage car les composts de déchets verts et les composts de biodéchets peuvent être utilisés en agriculture biologique (Albrecht, 2007). Le compostage représente une méthode de recyclage des matières organiques et consiste en une série de décompositions biologiques contrôlées des déchets organiques solides, ou de mélanges de déchets solides et liquides, et a pour but

d'obtenir des produits finaux relativement stables. Ces derniers peuvent être utilisés comme engrais en agriculture (Drapeau et Jankovic, 1977). Il s'agit d'une décomposition de la matière organique par des microorganismes en présence d'air et d'eau et dans des conditions bien définies, ce qui aboutit à un produit mature, stable chimiquement, physiquement et biologiquement et pouvant être utilisé comme engrais.

Cette méthode de conversion et de valorisation des matières organiques offre d'intéressantes solutions et devrait être une priorité dans le domaine de l'exploitation agricole. Cependant, les agriculteurs de nombreuses régions du monde et surtout ceux des pays en voie de développement ne réussissent pas à profiter des potentialités offertes par ce système (FAO, 2005). Le compostage des déchets organiques et des végétaux est une nécessité agro économique et environnementale.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes proposés de porter nos travaux de thèse sur ce thème dont le sujet est : "Production de compost de bagasse de canne à sucre et mesure de son efficacité sur deux cultures : haricot vert et tomate".

Il s'agira dans cette thèse de produire du compost grâce à l'utilisation de souches bactériennes inoculées durant le processus de compostage, le compost obtenu sera ensuite utilisé comme engrais sur des cultures de haricot vert et tomate. Au cours des dernières années, les sujets d'investigation de la science qui étudie les bactéries ont été bien au-delà de la simple recherche d'agents pathogènes. La découverte par Martin Beijerinck en 1888, de la fixation d'azote par les bactéries logées dans les nodosités radiculaires des plantes légumineuses, a été mise à profit afin d'augmenter la fertilité des sols et la productivité des cultures alimentaires. Ainsi sans l'intervention de communautés microbiennes, le processus de compostage ne se produirait pas et la richesse microbienne du produit obtenu c'est-à-dire le compost pourrait être déterminant dans la croissance des cultures si le compost est utilisé en tant qu'engrais ou amendement.

Les cultures maraîchères (chou, carotte, tomate), introduites en 1971 dans la zone des Niayes (qui assurent 80% de la production maraîchère du Sénégal) se sont très peu développées malgré les énormes potentialités dont elles regorgent pour la consommation locale et pour l'exportation (FAO, 2001).

Parmi les produits horticoles d'exportation, le haricot vert représente un peu plus de la moitié des exportations et la tomate cerise près de 34% (Dia, 2012). A cet effet, nous nous sommes proposés de tester ces deux spéculations maraîchères avec les composts obtenus en tant qu'engrais.

Nos travaux de thèse ont été effectués en parallèle au Laboratoire de Microbiologie Appliquée et Génie Industriel de l'Ecole Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Sénégal) et aussi au centre horticole de l'Unité de Production de Plants Fruitières (UPPF) de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles à Sangalkam (Sénégal).

Ce présent manuscrit s'articule autour de quatre chapitres.

Le premier chapitre porte sur la synthèse bibliographique qui présente les généralités sur le compostage, les processus qui s'y passent, les notions de qualité et de maturité ainsi que la valeur agronomique des composts.

Le but du deuxième chapitre sera d'isoler et d'identifier des souches d'un compost mature. Nous avons testé les capacités enzymatiques et de croissance des souches afin d'évaluer leurs propriétés en tant qu'inoculum lors d'un processus de compostage à base de d'un substrat tel la bagasse de canne à sucre. Ce chapitre comprend une introduction, une partie où le matériel et la méthodologie employés seront exposés et les résultats obtenus sont présentés et discutés.

Le troisième chapitre est consacré à la production de compost. En effet, le compostage à base de bagasse inoculé de souches bactériennes est effectué et suivi dans le temps : la méthode et l'échantillonnage adoptés seront exposés, les analyses physico-chimiques et les analyses biologiques sont aussi déterminées. Cette partie s'articule autour d'une introduction, du matériel et des méthodes utilisés et enfin des résultats obtenus et discutés.

Afin de tester l'efficacité des composts produits, le quatrième chapitre portera sur des essais agricoles des composts sur des cultures maraichères. Il s'agit de tester l'effet germinatif, sur la croissance et le rendement des composts sur les plantes à tester. Une présentation et une description des matériels et méthodes utilisés dans cette étude seront exposées et enfin une dernière partie, où seront présentés les résultats et discussion.

# ***Chapitre 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

## **Chapitre 1: Revue bibliographique**

### **1. Le compostage**

Le compostage est un procédé très ancien et remonte au Moyen-âge (de Bertoldi et Zucconi, 1986). Les sumériens de l'antiquité (en basse Mésopotamie) construisaient des fosses afin d'y garder les déchets urbains pour une éventuelle application dans les champs agricoles. Mais l'une des descriptions les plus précises et les plus techniques du processus de compostage fut établie par les « Knights Templar » (militaires au temps des croisades) au XIII<sup>e</sup> siècle (Diaz et de Bertoldi, 2007). Au XX<sup>e</sup> siècle, un des premiers efforts documentés sur la manière de gérer les résidus organiques commença en Inde en 1933. En même temps, Sir Albert Howard faisait la première avancée majeure dans l'histoire du compostage sur les méthodes de procédure (Howard et Wad, 1931 ; Howard, 1933 ; Howard, 1935). Ainsi il s'agissait après, de comprendre et d'améliorer les nouveautés qui ont survécu depuis lors jusqu'à nos jours, des réactions mises en jeu dans le traitement en continu et à grande échelle des déchets.

#### **1.1. Généralités sur le compostage**

##### **1.1.1. Définition**

Etymologiquement, le mot *compostage* vient du mot latin *compositum* qui signifie mélange et fait référence à un processus de biodégradation d'un mélange de substrats organiques en présence de communautés microbiennes et c'est ce qui le différencie de la pourriture ou de la putréfaction (Ryckeboer *et al*, 2003a). Drapeau et Jankovic (1977) définissaient le compostage comme une méthode qui consiste en une série de décompositions biologiques contrôlées des déchets organiques solides, ou de mélanges de déchets solides et liquides, et a pour but d'obtenir des produits finaux relativement stables, qui peuvent être utilisés comme engrais en agriculture. Francou (2003) et Haug (1993) ont donné comme définition du processus de compostage ; une décomposition biologique et une stabilisation des substrats organiques, dans des conditions qui permettent le développement d'une température thermophile qui est le résultat d'une chaleur produite biologiquement, afin d'obtenir un produit final qui est stable, exempt de pathogènes qui peut être bénéfique lorsqu'il est

appliqué aux terres. Francou (2003) l'a défini aussi comme un processus contrôlé de dégradation des constituants organiques d'origine végétale et animale par une succession de communautés microbiennes évoluant en conditions aérobies, entraînant une montée en température, et conduisant à l'élaboration d'une matière organique humifiée et stabilisée. Le produit ainsi obtenu est appelé compost.

Ainsi beaucoup de définitions existent dans la littérature. De ce fait dans le général ; le compostage est une biodégradation de substrats organiques qui se passe dans des conditions bien définies afin d'avoir un produit stable et valorisable, le compost.

### **1.1.2. Principes et processus**

Selon la FAO (2005), il existe deux catégories de compostage. Le compostage anaérobie qui a lieu soit en absence d'oxygène, soit en quantité limitée se déroule en présence de microorganismes anaérobies qui produisent des composés comme le méthane, le sulfure d'hydrogène et d'autres substances qui peuvent entraîner une phytotoxicité si les produits obtenus sont utilisés comme produit d'épandage. Il faut noter que le compostage anaérobie s'effectue à basse température, ce qui signifie que les graines d'adventices et les pathogènes ne sont pas affectés et détruits ; il nécessite aussi davantage de temps.

Dans nos travaux ici, ce qui nous intéresse est le compostage aérobie qui a lieu en présence d'oxygène bien que des auteurs montrent qu'il peut exister des zones anaérobies durant le compostage (Tuomela *et al.*, 2000). Ainsi les micro-organismes aérobies qui interviennent, décomposent la matière organique et produisent du gaz carbonique (CO<sub>2</sub>), de l'ammoniac (NH<sub>3</sub>), de l'eau, de la chaleur et du compost qui est la matière organique humifiée finale relativement stable. Bien que le compostage aérobie puisse produire des composés organiques intermédiaires comme certains acides organiques (FAO, 2005 ; Sundberg, *et al.*, 2004), ceux-ci sont ensuite décomposés par des micro-organismes aérobies.

Insam et de Bertoldi (2007) considèrent la biodégradation du sol comme un processus continu tandis que le compostage est, au contraire, un système de culture en batch c'est-à-dire un processus discontinu avec des changements stables des conditions biochimiques et de la composition des substrats.

Un autre type de compostage appelé vermicompostage peut aussi être obtenu par dégradation enzymatique des matières organiques qui passent à travers le système digestif des vers de terre (FAO, 2005). Quelques espèces de vers sont capables de consommer et de décomposer

une large variété de résidus organiques tels les boues d'épuration, les déchets d'animaux, les résidus agricoles et les déchets industriels (Azarmi *et al.*, 2008).

Le processus de compostage aérobie comprend différentes étapes depuis la mise en tas jusqu'à la maturation et peut être résumé en quatre phases :

#### **1.1.2.1. Phase mésophile**

La première étape est appelée la phase mésophile du fait des températures atteintes inférieures à 45°C. Les matières organiques facilement dégradables (sucres, protéines) abondantes servent de substrats aux micro-organismes dont la température de croissance optimale est comprise entre 20 et 45°C. Ce sont les champignons, les actinomycètes et les bactéries encore appelés les décomposeurs primaires. Ils se multiplient alors rapidement, utilisant des enzymes pour dégrader les parois cellulaires, augmentant ainsi les activités d'oxydation des molécules résistantes, entraînant aussi une production intense de chaleur à un point tel qu'ils sont inhibés. Il en résulte une augmentation de la température du compost et le processus passe alors à la phase thermophile.

#### **1.1.2.2. Phase thermophile**

Les organismes qui s'adaptent aux hautes températures deviennent compétitifs durant cette phase qui peut atteindre des températures de 65°C et même plus. Selon Diaz et Savage (2007), la température durant un compostage peut atteindre environ 90°C. Ainsi, les bactéries et champignons thermophiles se développent, et continuent le processus en utilisant des enzymes telles que les cellulases (Stutzenberger, *et al.*, 1970 cité par Drapeau et Jankovic, 1977), les hémicellulases... pour dégrader les molécules les plus complexes et continuer la dégradation de celles restantes qui sont simples. Durant cette phase très active, une importante part de la matière organique est perdue par minéralisation du carbone organique, dégagement de CO<sub>2</sub> et un assèchement du compost dû à l'évaporation de l'eau. Cette chaleur générée est d'une haute importance pour l'hygiénisation, car elle tue les pathogènes, les graines adventices, les larves d'insectes... (Jeangille, 1995 ; Mehta *et al.*, 2014). Ainsi, certaines bactéries telles que *Salmonella* qui survivaient au cours du compostage des boues déshydratées d'égout étaient détruites en un temps très court lorsqu'elles étaient insérées dans un processus de compostage (Shell et Boyal, 1969 cité par Drapeau et Jankovic, 1977 ; Lemunier, *et al.*, 2005). D'autres études ont même montré que des microorganismes

génétiqnement modifiés, présents au cours du compostage pouvaient être diminués ou dégradés (Guan *et al.*, 2004)..

### **1.1.2.3. Seconde phase mésophile ou de refroidissement**

C'est une période de ralentissement de l'activité due à une diminution du nombre de thermophiles et à un épuisement des substrats. Pendant cette phase, la température diminue graduellement. Des micro-organismes mésophiles colonisent à nouveau le compost. Bien que les microorganismes de la première phase aient la capacité de dégrader les composés simples, ceux de la seconde étape mésophile sont quant à eux décomposeurs de composés tels que l'amidon et la cellulose restants (Insam et De Bertoldi, 2007).

### **1.1.2.4. Phase de maturation**

Il s'ensuit la phase de maturation pendant laquelle la température diminue progressivement, la qualité du substrat décline et la composition de la communauté microbienne est totalement altérée. En général, la proportion des champignons augmente en colonisant le milieu et en décomposant les matériaux complexes des membranes cellulaires végétales restantes pendant que le nombre de bactéries diminue. Finalement, la température baisse jusqu'à la température ambiante; et c'est pendant cette phase que sont élaborées les substances humiques. Ainsi le compost est mature et le processus est terminé.

## **1.2. Les paramètres du compostage**

### **1.2.1. Microbiologie du compost**

Insam et de Bertoldi (2007) affirment que Browne en 1933 fut le premier à prouver que la chaleur produite lors du compostage était due à une activité biologique. Dans les années 30, Waksman publiait plusieurs articles sur la microbiologie du compost et fut le premier à étudier les dynamiques des populations (Waksman, 1932). Le compostage est un procédé biotechnologique très complexe et il n'est pas très évident de suivre l'évolution microbienne qui s'y déroule, parce que tout simplement, les microorganismes responsables de la dégradation et des réactions biochimiques sont très difficiles à isoler et par conséquent à

dénombrer (Longieras, 2005). Il est connu qu'une fraction mineure est cultivable, cela a été confirmé par Torsvik (1980) et Kandeler (2007) qu'entre 1 et 5% des microorganismes du sol peut être cultivé par les techniques couramment utilisées en laboratoire. Ainsi la méthode de dénombrement en utilisant des milieux de culture reste limitée, ce qui entraîne que beaucoup de chercheurs doutent de la fiabilité de cette méthode pour la quantification de la biomasse microbienne du sol. Une alternative aux méthodes anciennes est basée sur les études moléculaires telles les techniques de biologie moléculaire, celles de la « Polymerase Chain Reaction (PCR), celles mesurant la quantité d'ATP, la biomasse microbienne. D'autres méthodes qui ne nécessitent pas de culture c'est-à-dire l'analyse des "phospholipids fatty acids" (PLFA) ou de l'extraction d'ADN ou d'ARN (Ryckeboer *et al.*, 2003b). Plus récemment, des recherches dans l'environnement incluant le compost, utilisent les métagénomiques (Dougherty *et al.*, 2012 ; Yeh *et al.*, 2013).

Durant un compostage, la dynamique de succession des communautés de microorganismes est très importante pour le processus de biodégradation et leur présence varie selon les conditions physico-chimiques et la nature des substrats. Les grands principaux groupes microbiens impliqués durant le compostage sont les champignons et les bactéries comprenant les actinomycètes.

#### **1.2.1.1. Les bactéries**

Les bactéries ont été longtemps négligées probablement à cause d'une meilleure visibilité des actinomycètes et des champignons (Insam et de Bertoldi, 2007). Elles sont unicellulaires et de petite taille (entre 0,2 et  $\mu\text{m}$ ) ; possèdent 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 micro-organismes de plus grandes dimensions comme les champignons (Tuomela *et al.*, 2000). Les bactéries dominent avec les eubactéries et les actinomycètes par rapport aux champignons. Un autre avantage des bactéries est la capacité, pour certaines d'entre elles telles celles appartenant au genre *Bacillus*, de se protéger en produisant des spores très résistantes à la chaleur, aux radiations et aux désinfections chimiques (Haug, 1993). De plus, leur spectre d'activité est très large sur une grande gamme de pH. Les bactéries isolées dans les différents types de compost constituent une importante diversité de genres et d'activités (Albrecht, 2007). (Davis *et al.*, 1992; Rebollido *et al.*, 2008). Au début du processus de compostage, les bactéries mésophiles dominent et peuvent comprendre celles à

Gram négatif telles *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*... ; les genres à Gram positif *Enterococcus*, *Bacillus*... (Ghazifard *et al.*, 2001). Les thermophiles prennent place lorsque la température du compost commence à atteindre plus de 40°C. Les bactéries typiques de la phase thermophile appartiennent au genre *Bacillus* et dominent durant cette étape (Strom, 1985; Hassen *et al.*, 2001; Cho *et al.*, 2008).

### **Les Actinomycètes**

Parmi les bactéries, il existe un sous-groupe qui joue un rôle très important dans la dégradation : les Actinomycètes (Albrecht, 2007). Ce sont des bactéries à filaments multicellulaires et ressemblent aux champignons, beaucoup sont des saprophytes stricts et certains forment des associations parasites et mutualistes avec les plantes et les animaux (Goodfellow et Williams, 1983). Ils apparaissent aussi bien lors de la phase thermophile que pendant la phase de refroidissement et de maturation du compostage (Tuomela *et al.*, 2000). Les principaux genres isolés des composts pendant la phase thermophile sont : *Nocardia*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces*, *Micromonospora*, *Saccharomonospora spp.* (Waksman et Cordon, 1939; Goodfellow and Williams, 1983; Strom, 1985). Les Actinomycètes, plus précisément les Streptomycètes, ont la capacité de dégrader beaucoup de polymères présents dans le sol et la litière tels la cellulose, la lignine, les hémicelluloses, la pectine, la kératine, et la chitine (Goodfellow et Williams, 1983 ; Tuomela *et al.*, 2000 ; Kirby, 2006 ; Huang *et al.*, 2010). Quant aux *Nocardia*, ils sont impliqués dans la décomposition du matériel humique bien que les Streptomycètes synthétisent aussi les composés humiques (Goodfellow et Williams, 1983). Les genres *Streptomyces* et *Nocardia* représentent plus de 90 % de leur biomasse selon Mustin (1987).

#### **1.2.1.2. Les champignons**

Les champignons sont connus pour être les principaux et plus importants décomposeurs des substrats complexes lignocellulosiques (McCarthy et Williams, 1992 ; Kirby, 2006 ; Huang *et al.*, 2010 ; Bugg *et al.*, 2011). Au début du compostage, les Fungi compétissent avec les bactéries sur les substrats disponibles et facilement dégradables mais au fil du processus ; leur nombre diminue. En effet, la température est un des principaux facteurs qui affectent la croissance fongique ; les autres facteurs sont le niveau de pH, les sources de carbone et

d'azote, le taux d'humidité (Finstein et Morris, 1975 ; Tuomela *et al.*, 2000). D'après ces auteurs, un niveau modérément élevé d'azote est nécessaire pour la croissance fongique bien que quelques champignons, dits de la pourriture blanche, se développent à des taux d'azote bas. En effet, un milieu pauvre en azote est souvent un préalable à la dégradation de la lignine (Dix et Webster, 1995) or une carence en azote est un facteur limitant pour la dégradation de la cellulose.

Pendant la phase thermophile, différents genres de champignons thermophiles ont été isolés tels *Thermomyces*, *Penicillium*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia* (Finstein et Morris, 1975; Tuomela *et al.*, 2000 ; Ghazifard *et al.*, 2001 ; Ryckeboer *et al.*, 2003b ; Insam et de Bertoldi, 2007 ; LeGoff *et al.*, 2010). A la dernière étape du compostage où la température diminue, le nombre des champignons thermophiles décroît tandis que les mésophiles recolonisent le milieu (Ryckeboer *et al.*, 2003b).

### **1.2.1.3. Autres : Nématodes, protozoaires, archées et algues**

En plus des principaux microorganismes (i.e. bactéries, actinomycètes et champignons) qui interviennent durant le processus de compostage, il existe d'autres organismes qui ont été retrouvés.

Les nématodes sont les plus abondants des décomposeurs invertébrés et jouent un rôle important dans la maturité du compost (Mehta *et al.*, 2014). D'après Steel *et al.* (2009), immédiatement après le pic de la phase thermophile, la population de nématodes du compost comprend des opportunistes qui se nourrissent essentiellement de bactéries (membres des Rhabditidae, Panagrolaimidae et Diplogastridae). Ensuite, d'autres se nourrissent soit de bactéries, soit de champignons. Durant la phase de maturation, les nématodes prédateurs qui se nourrissent de bactéries deviennent dominant (*Mononchoides sp.*). D'autres animaux pluricellulaires sont retrouvés dans le compost tels les microarthropodes, les larves d'insectes, les annélides et des animaux supérieurs tels les mollusques et les crustacés ; il semblerait qu'ils aient un rôle important d'homogénéisation des composts (Albrecht, 2007).

Les protozoaires constituent une petite proportion de la biomasse microbienne dans le compost. Durant le processus, les protozoaires jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique, la suppression des maladies et le cycle des nutriments (Mehta *et al.*, 2014). Il existe des protozoaires bactériophages connus pour avoir un effet significatif sur le

nombre de bactéries dans les sols et sur le cycle de l'azote du compost (Mustin, 1987 ; Hoorman et Islam, 2010 ; Mehta *et al.*, 2014).

Les algues se développent en surface en présence de lumière. Le rôle des algues est mal connu, mais leur importance dans l'évolution de la matière organique en milieu aérobie est sans doute faible (Mustin, 1987 ; Albrecht, 2007).

Beaucoup d'Archées sont des thermophiles ou même des hyperthermophiles. Elles ont été isolées pour la première fois des tuyaux hypothermaux (Insam et de Bertoldi, 2007). D'après Stackebrandt *et al.* (1997), quelques rares cas d'Archées ont été isolées des composts mais il semblerait que ce soit des archées méthanogènes parce qu'une importante méthanogénèse a été observée dans les piles de composts (Cabanas-Vargas et Stentiford, 2006).

### **1.2.2. La température**

Lors de la dégradation aérobie, la température fait partie des facteurs les plus importants déterminant les différentes étapes du processus de compostage. Elle est en fait le facteur majeur sélectif des populations car chaque microorganisme a sa température optimale ; elle détermine aussi le taux d'activités métaboliques (Border, 2002 ; Ryckeboer *et al.*, 2003b). Le compostage qui est un processus exothermique, est une dégradation microbienne bio-oxydative d'un mélange de matières organiques et la chaleur produite est suffisante pour augmenter la température de la matière organique jusqu'à 60°- 75°C sur une période de 10 jours. En effet, seulement 40 à 50% de cette énergie peut être utilisée par les microorganismes pour synthétiser l'ATP, le reste est perdu comme chaleur dans la masse (Diaz et Savage, 2007). Pour un compostage rapide, les températures élevées sur un temps long doivent être évitées. En effet, elles inhibent la plupart des microorganismes surtout mésophiles présents qui devront recoloniser le substrat lors de la phase de maturation et ralentir le processus de dégradation de la matière organique (de Bertoldi *et al.*, 1983). Pour avoir une grande diversité microbienne, la température doit être comprise entre 30 - 45°C, une bonne hygiénisation est obtenue à une température supérieure à 55°C, quant à la biodégradation elle se fait entre 45 et 55°C (de Bertoldi *et al.*, 1983 ; Finstein *et al.*, 1983 ; Stentiford, 1993).

### **1.2.3. Le rapport C/N**

Ce rapport est très important durant le compostage fournissant le niveau du degré de biodégradabilité car le carbone et l'azote sont des sources d'énergie et de protéines respectivement pour les microorganismes (Charnay, 2005 ; Ahmad *et al.*, 2007 ; Diaz et Savage, 2007). Beaucoup d'auteurs ont donné des valeurs initiales optimales pour un bon processus de compostage et des valeurs finales correspondant à un compost mature et stable (Francou, 2003 ; Ahmad *et al.*, 2007 ; Diaz et Savage, 2007). Il semblerait que le ratio optimal est entre 25 et 40 et serait un préalable pour une bonne biodégradation bien que ces valeurs dépendent du type de substrat utilisé (Tuomela *et al.*, 2000 ; Francou, 2003).

### **1.2.4. L'humidité**

L'eau est essentielle au processus de décomposition et devient un facteur limitant aux activités microbiennes lorsqu'elle manque (Richard *et al.*, 2002 ; Diaz et Savage, 2007). En effet, elle est produite par voie métabolique durant le compostage et s'évapore des substrats, raison pour laquelle lors du processus des arrosages sont effectués à des fréquences déterminées (Finstein et Morris, 1975 ; Diaz et Savage, 2007).

L'humidité semble être le paramètre ayant la plus grande influence. Cela suggère un contrôle du procédé par l'humidité et non comme habituellement par la température (Charnay, 2005). L'humidité optimale pour une biodégradation peut varier largement selon les différents substrats et se situe entre 50 et 70% sur matière sèche (Border, 2002 ; Richard *et al.*, 2002 ; FAO, 2005 ; Diaz et Savage, 2007 ; Potgieter, 2012) pour atteindre à la fin des valeurs aux alentours de 30%.

Lorsque l'humidité est limitante c'est-à-dire une déshydratation élevée du substrat, l'activité biologique est arrêtée ou très ralentie créant ainsi un compost qui peut être physiquement stable mais biologiquement instable (de Bertoldi *et al.*, 1983 ; Diaz et Savage, 2007 ; Potgieter, 2012). Or un excès d'eau tend à boucher les pores et empêcher les échanges gazeux, entraînant ainsi un processus en anaérobiose.

### **1.2.5. Le pH**

C'est un paramètre très important durant le processus car le pH du substrat détermine le type de microorganisme qui y intervient, étant donné que chaque microorganisme a son optimum de pH pour une meilleure activité (Border, 2002). Ainsi durant le compostage, initialement des substances à large gamme de pH (3-12) peuvent être compostées (FAO, 2005 ; Ahmad *et al.*, 2007 ; Diaz et Savage, 2007). Toutefois l'optimum se trouve entre 5 et 8 car à des pH faibles, il y'a une chute au début à des valeurs très acides due à l'activité des bactéries formant de l'acide qui dégradent la matière organique (Sundberg *et al.*, 2004 ; Diaz et Savage, 2007). A des valeurs plus élevées de pH, une grande quantité d'ammoniaque est libérée dans l'atmosphère (FAO, 2005).

### **1.2.6. La Capacité d'Echange Cationique (CEC)**

C'est un paramètre souvent déterminé lors du compostage et qui correspond à la quantité maximale de cations (ions positifs) que la matrice peut adsorber, autrement dit, la CEC traduit le pouvoir de fixation du sol vis à vis des éléments nutritifs chargés positivement. Elle est exprimée en milliéquivalents par cent grammes (meq/100g) ; elle se situe entre 1 et 100 meq/100g (Reganold et Harsh, 1985). La CEC évolue dans le même sens que le pH du fait de la libération de charges négatives avec l'augmentation du pH (Francou, 2003) et régule la mobilité des ions métalliques (Tittarelli *et al.*, 2007). Le processus d'humification produit des groupes fonctionnels et augmente l'oxydation de la matière organique, provoquant ainsi un accroissement de la CEC (Larbi, 2006 ; Albrecht, 2007). Ainsi durant le compostage, une augmentation progressive de la CEC est notée et une CEC supérieure à 60 meq/100g est nécessaire pour considérer un compost comme mûr (Jimenez et Garcia, 1991 ; Negro *et al.*, 1999) et la valeur de CEC est cependant fortement influencée par la composition des intrants (Larbi, 2006).

### **1.2.7. L'aération**

L'aération qui correspond à un apport d'oxygène détermine le compostage qui est un processus aérobie car nécessitant des grandes quantités d'oxygène indispensables pour un bon déroulement (FAO, 2005). Ainsi, l'aération est importante ; elle permet la fourniture d'air aux

organismes décomposeurs car si l'air est limitant, leur croissance diminue, ce qui a pour effet de ralentir la décomposition. Elle chasse aussi les gaz produits par la biodégradation (Chakroune *et al.*, 2005 ; Diaz et Savage, 2007). L'apport d'oxygène réduit l'humidité initiale si elle est trop élevée, améliore l'homogénéité du substrat et diminue une possible élévation de température (Charnay, 2005) dans les climats chauds, compte tenu des risques plus élevés de surchauffe et d'incendie (FAO, 2005).

Les systèmes d'aération sont divers et variés : retournements mécaniques, aération forcée ou pilotée, avec ou sans recirculation (Bari et Koenig, 2001).

### **1.2.8. La teneur en matière organique**

La matière organique, source de carbone et d'azote, comprend des composés déjà disponibles pouvant être assimilés directement par les microorganismes, et d'autres plus complexes qui doivent d'abord subir une dégradation enzymatique avant leur assimilation. Au cours de la biodégradation, la matière organique est minéralisée entraînant ainsi à une diminution relative de matière organique (rapport entre la masse de matière organique perdue et la masse de matière organique initiale) ; qui est très variable en fonction des conditions de compostage et de la durée de celui-ci (Francou, 2003 ; Charnay, 2005). La matière organique est importante pour la fertilité du sol car elle joue un rôle essentiel dans les propriétés du sol telles sa capacité de rétention d'eau, son pH, sa complexation, sa structure...

### **1.3. Les types de substrats**

Le substrat à composter est une source de nutriments pour les microorganismes. Il existe les macronutriments tels le carbone (C), l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K) et les micronutriments cobalt (Co), manganèse (Mn), magnésium (Mg), cuivre (Cu), ainsi que d'autres éléments. Quant au Calcium (Ca), il est entre les macro et les micronutriments et jouerait un rôle de tampon durant le processus de compostage. Ces nutriments peuvent être sous une forme directement assimilable par la flore, mais ils peuvent aussi être sous une forme qui doit subir une transformation enzymatique avant assimilation.

Toutes les matières organiques d'origine végétale et animale, tous les déchets fermentescibles sont compostables individuellement, ou en mélange tout en respectant un équilibre. Ainsi, différents déchets organiques peuvent être compostés et sont classés en quatre catégories d'après Francou (2003) :

- les déchets végétaux ;
- les déchets de cuisine d'origine végétale ou animale ;
- les papiers et cartons ;
- les boues issues du traitement des eaux.

Les nutriments cités plus haut constituent la matière organique des substrats initiaux durant le compostage et les composés organiques sont énumérés ci-dessous :

### **1.3.1. Les glucides**

Ce sont des hydrates de carbone et comprennent les oses qui correspondent aux sucres simples, les holosides qui résultent de la polycondensation des sucres simples entre eux et les hétérosides qui sont des molécules complexes obtenues par association de sucres simples avec des substances non polymérisées (Arnaud, 1990).

Les polysaccharides résultent de la condensation entre elles d'un grand nombre de molécules de sucres simples (Francou, 2003 ; Albrecht, 2007) et constituent la forme principale des glucides dans la matière organique en décomposition (Stevenson, 1994). Ce sont des polymères d'origine végétale et microbienne et ceux d'origine végétale les plus abondants sont la cellulose et l'hémicellulose.

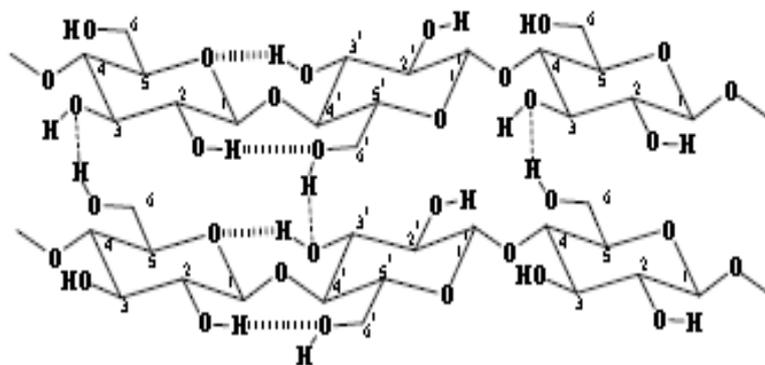
#### **1.3.1.1. La cellulose**

La cellulose est le composé organique le plus abondant dans la biosphère (Alef et Nanniperi, 1995 ; Francou, 2003 ; Albrecht, 2007). La quantité de cellulose biosynthétisée par les plantes terrestres est estimée à 100 milliards de tonnes par an, constituant à elle seule 50% de la masse végétale (Moine, 2005). C'est un polymère linéaire insoluble d'unités anhydroglucoses liées entre elles par des liaisons glycosidiques de type  $\beta$ -1,4. D'après Pourquié et Vandecasteele (1993) ; Alef et Nanniperi (1995) et Insam et de Bertoldi (2007), le

clivage enzymatique de la cellulose résulte de l'activité de trois types d'enzymes qui constituent le système enzymatique des cellulases :

- Endo- $\beta$ -1,4-glucanases séparent de façon aléatoire les liaisons  $\beta$ -1,4 à l'intérieur des chaînes de cellulose, il en résulte des cellodextrines, des cellobioses et du glucose ;
- Exo- $\beta$ -1,4-glucanases attaquent la molécule de cellulose en bout de chaînes du côté non réducteur en libérant les cellobioses ;
- $\beta$ -glucosidases hydrolysent la liaison  $\beta$ -glucosidique du cellobiose mais également le cellotriose et le cellotétraose et cela libère du glucose qui est assimilé par les microorganismes.

La cellulose existe sous forme amorphe, ou sous forme cristalline plus résistante à la dégradation enzymatique et microbienne (Stevenson, 1994). Dans des conditions aérobies, des microorganismes aérobies (champignons, bactéries et actinomycètes) sont impliqués dans la dégradation de la cellulose (Francou, 2003 ; Insam et de Bertoldi, 2007).



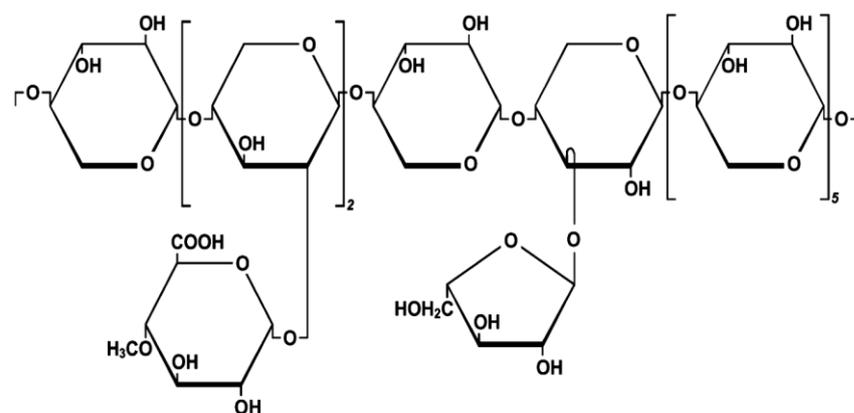
**Figure 1:** Liaisons hydrogène intra et intermoléculaires de la cellulose (extrait de Moine, 2005)

### 1.3.1.2. L'hémicellulose

Les hémicelluloses sont des polysaccharides très abondants dans la nature et sont des constituants végétaux qui accompagnent la cellulose dans la constitution du bois (Moine, 2005). Les hémicelluloses sont des oses courts, branchés et plus facilement hydrolysables que la cellulose (Pourquié et Vandecasteele, 1993) et sont constituées de divers monosaccharides principalement les hexoses et les pentoses. Elles sont formées d'une chaîne de monosaccharides liés par des liaisons glycosidiques résultant de la condensation d'un

hydroxyle hémiacétalique d'un ose avec un hydroxyle alcoolique d'un autre. Cet enchaînement peut être constitué d'un seul type de monomère (homopolysaccharide) ou de plusieurs types différents (hétéropolysaccharide).

Parmi les hémicelluloses, le xylan est le plus important et le plus retrouvé dans la paille, la bagasse (plus de 30%) et le bois (2 à 25%) (Insam et de Bertoldi, 2007). Les enzymes principales de dégradation du xylan sont les xylanases qui sont produites par les bactéries et les champignons et comprennent les endo-xylanases et les exo-xylanases (Alef et Nanniperi, 1995 ; Insam et de Bertoldi, 2007).



**Figure 2:** Exemple d'une unité d'hémicellulose : Arabino-4-O-méthyl-glucurono-xylane (Extrait de Kögel-Knabner, 2002)

### 1.3.1.3. L'amidon

L'amidon est le principal polysaccharide de réserve des plantes et est formé d'une chaîne de molécules de glucose. Il est composé de 20% d'amylose et d'amylopectine (Insam et de Bertoldi, 2007). L'amylose est une molécule non ramifiée de D-glucose et l'amylopectine est ramifiée et contient des résidus d'ions Ca et Mg. L'amidon ressemble à la cellulose puisqu'il est formé de glucose avec des liaisons 1,4. Cependant, les monomères de la cellulose sont des sous-unités de bêta-glucose alors que l'amidon est formé de sous-unités d'alpha-glucose (Raven *et al.*, 2003). Ainsi avec ses longues chaînes et non ramifiées, la cellulose est moins accessible aux enzymes comparés aux polysaccharides de réserve qui sont dégradés plus facilement par les amylases produites par les microorganismes et les plantes (Bâ, 2013).

#### 1.3.1.4. Les pectines

Les pectines sont des polysides rattachés aux glucides et constituent avec les hémicelluloses, la matrice qui entoure la cellulose au niveau des parois cellulaires végétales (Raven *et al.*, 2003). Ce sont des polymères d'acides galacturoniques liés en  $\alpha$  (1-4) et de faibles quantités de L-rhamnose, des chaînes latérales de natures diverses, arabinanes, galactanes et arabinogalactanes sont aussi greffées sur le squelette rhamnogalacturonique (Moine, 2005). Les pectines sont dégradées par trois types d'enzymes (Arnaud et Guiraud, 1993) :

- les pectines estérases qui libèrent le méthanol ;
- les polygalacturonases (exo ou endomoléculaires) ;
- les pectines lyases qui dépolymérisent et donnent de l'acide galacturonique ou des polymères de petite taille.

L'activité pectinolytique se rencontre chez les bactéries par exemple du genre *Erwinia*, les levures (*Saccharomyces*, *Candida*) et de nombreux champignons.

#### 1.3.1.5. La chitine

La chitine est un autre polymère structural important et est moins importante que la cellulose du point de vue du poids mais sont très similaires chimiquement (Insam et de Bertoldi, 2007). Le monomère de la cellulose est le glucose alors que celui de la chitine est le N-acétylglucosamine. Beaucoup de champignons (*Aspergillus*) et de bactéries (*Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*) sont capables d'utiliser la chitine comme source de carbone et d'azote. La chitine est le principal composant des parois cellulaires des champignons ainsi que de l'enveloppe externe relativement dure, ou exosquelette, des insectes et des crustacés comme les crabes et les homards (Raven *et al.*, 2003).

#### 1.3.1.6. La muréine (ou peptidoglycane)

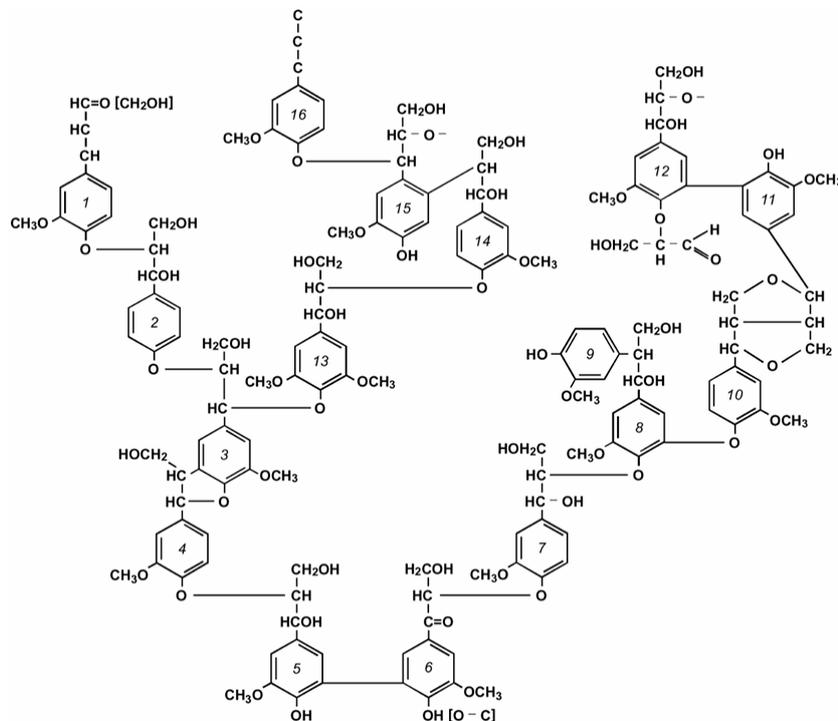
Les peptidoglycans sont des polymères qui constituent les parois cellulaires des bactéries comprennent une partie glucidique et une partie peptidique. Le polysaccharide est un

glycosaminopeptide où la N-acétyl-glucosamine (NAG) et l'acide N-acétyl-muramique (NAM) sont liés par des liaisons osidiques  $\beta$  (1-4) (Insam et de Bertoldi, 2007).

### **1.3.2. La lignine et le complexe lignocellulosique**

La lignine est le deuxième composé organique après la cellulose le plus abondant sur la Terre (Raven *et al.*, 2003) et elle est un polymère formé de trois types de monomères aromatiques de type phénylpropène : l'alcool coumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique, que l'on désigne sous le terme général de monolignol. Les lignines sont difficilement dégradables, très résistantes à de nombreux agents chimiques et biochimiques seules certaines bactéries et champignons, sont capables d'assurer la lignolyse (Tuomela *et al.*, 2000). Les champignons les plus efficaces lors de la dégradation biologique des lignines sont les pourritures blanches et cela nécessite des conditions aérobies sous l'action des phénol-oxydases (Tuomela *et al.*, 2000 ; Francou, 2003). L'action des pourritures blanches peut conduire à la minéralisation complète de la lignine. Certains facteurs extérieurs comme l'acidité du milieu ou la matrice minérale protégeant l'accessibilité de la lignine peuvent rendre encore plus difficile la biodégradation des lignines. Elles sont très réactives, parce qu'elles contiennent entre autres des fonctions phénoliques et hydroxyles, et sont insolubles dans les solvants du fait qu'elles constituent un réseau infini (Moine, 2005). La lignification, qui est le processus de dépôt de la lignine, a joué un rôle primordial au cours de l'évolution des plantes terrestres (Raven *et al.*, 2003).

La ligninocellulose est un complexe formé de polymères de lignine, de cellulose et d'hémicelluloses car à la fin du développement cellulaire, la lignine incruste ainsi la cellulose et les hémicelluloses, ce qui assure la rigidité de la paroi, mais pose des problèmes lors de l'extraction des hémicelluloses (Moine, 2005). Les fibres de cellulose peuvent être étroitement liées aux hémicelluloses et à la lignine par des liaisons hydrogènes ou des liaisons covalentes, ester ou éther (Kogel-Knabner, 2002). Les lignines jouent un rôle très important dans la théorie de l'humification. Elles sont considérées comme une source possible des substances humiques (Francou, 2003).



**Figure 3:** Modèle de lignine tridimensionnelle (Extrait de Kögel-Knabner, 2002)

### 1.3.3. Les lipides

Les lipides jouent aussi un rôle important dans la nature, tant chez les animaux que chez les végétaux et se retrouvent dans les déchets surtout dans les boues de station d'épuration (Albrecht, 2007). Les composés lipidiques neutres servent à la protection des surfaces des plantes et au stockage de l'énergie (Francou, 2003 ; Raven *et al.*, 2003). La dégradation lipidique est variable et la plupart des lipides sont rapidement dégradés pendant le compostage mais les plus complexes sont particulièrement récalcitrants (Francou, 2003). Les lipases se rencontrent chez beaucoup de champignons et les bactéries (Arnaud et Guiraud, 1993).

### 1.3.4. Les protéines

Les protéines sont parmi les molécules organiques les plus abondantes et représentent jusqu'à 50% au moins du poids sec chez la plupart des organismes vivants (Raven *et al.*, 2003). Les plantes avec leur forte teneur en cellulose contiennent moins de la moitié de protéines. Les molécules protéiques sont volumineuses et complexes, elles contiennent souvent au moins

plusieurs centaines de monomères d'acides aminés. Elles ont des rôles très divers et étant ubiquistes, elles sont retrouvées dans les biodéchets. Les protéines jouent un rôle majeur dans la théorie ligninoprotéique de formation des substances humiques (Stevenson, 1994) où les composés aminés réagissent avec la lignine modifiée, mais aussi dans le cas des réactions de Maillard (Albrecht, 2007). Les protéases interviennent dans la cassure des liaisons peptidiques des protéines en polypeptides et les oligopeptides en acides aminés (Alef et Nanniperi, 1995). Ainsi, il y'a les exopeptidases, les endopeptidases et les carboxypeptidases qui interviennent en tant qu'enzymes protéases retrouvées chez les microorganismes et les plantes (Vranova *et al.*, 2013). Les espèces protéolytiques sont les bactéries (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Microsporium*, *Clostridium*) et les Fungi (*Pythium*, *Aspergillus*, *Penicillium*) (Arnaud et Guiraud, 1993 ; Vranova *et al.*, 2013).

### **1.3.5. Autres composés**

#### **1.3.5.1. Les tanins**

Les tanins sont des composés phénoliques présents à des concentrations relativement élevées dans les feuilles des plantes ligneuses et constituent un mécanisme de défense des plantes contre les pathogènes, les herbivores et des conditions environnementales hostiles (Raven *et al.*, 2003 ; Albrecht, 2007). On distingue deux groupes de tanins:

- Les tanins insolubles condensés qui lient les parois cellulaires et les protéines et les rendent physiquement et chimiquement moins accessibles aux décomposeurs ;
- Les tanins solubles hydrolysables qui sont composés de deux types d'unités de base, à savoir un glucide (la plupart du temps le D-glucose) et des acides phénoliques. Les tanins hydrolysables réagissent avec les protéines et réduisent leur dégradation microbienne et donc les rejets azotés (FAO, 2005).

Ce sont les champignons qui sont aptes à dégrader les tanins mais ce sont une source importante de composés résistants à la dégradation microbienne (Francou, 2003).

#### **1.3.5.2. Les terpènes**

Les terpènes sont des hydrocarbures retrouvés dans le règne végétal et leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques. Les monoterpènes sont principalement les

constituants odorants des essences végétales (pinène, menthol, limonène) et les diterpènes contiennent l'acide abiétique (colophane) constituant principal de la résine de pin et utilisé pour l'encollage de papier (Francou, 2003).

### **1.3.5.3. Autres polymères lipidiques**

Les stéroïdes sont aussi des hydrocarbures, des lipides qui dérivent des triterpénoïdes et jouent divers rôles chez les plantes tels les stérols qui sont des composants importants des membranes chez tous les organismes à l'exception des procaryotes. Ils peuvent aussi fonctionner comme des hormones.

La cutine et la subérine sont des lipides particuliers qui composent la structure des parois cellulaires végétales. Elles forment une matrice dans laquelle est enrobée la cire qui est un composé lipidique à longues chaînes, elles forment ainsi une barrière pour empêcher les pertes d'eau et d'autres molécules à la surface des plantes (Kogel-Knabner, 2002 ; Raven *et al.*, 2003).

## **1.4. Objectifs du compostage**

Le compostage a été depuis longtemps utilisé à travers le monde dans la stabilisation des résidus organiques depuis les déjections animales aux déchets urbains (Diaz, 2007). Il permet de transformer des déchets en un produit utile à l'environnement car l'intérêt premier d'un compost est d'être un amendement organique au sol (Francou, 2003), il permet aussi de réduire les masses et volumes des déchets. Cette valorisation permet de boucler les cycles naturels, d'améliorer la productivité du sol (Charnay, 2005). Ainsi cette biodégradation peut régler la problématique de gestion collective des déchets ménagers, des déchets verts, des boues de station d'épuration, des déchets agro-alimentaires et industriels...dont les solutions de gestion ne seront plus l'incinération, les rejets dans la nature, les décharges publiques ou les traitements onéreux.

**Tableau 1** : Interactions compost-sol (extrait de Richard, 2005)

<b>Caractéristiques</b>	<b>Changements typiques</b>
<b>Physique</b>	
infiltration	augmentation
érosion	diminution
stabilité des agrégats	augmentation
capacité de rétention d'eau	augmentation
porosité totale	augmentation
perméabilité	augmentation
masse volumique	diminution
<b>Chimique</b>	
pH	tampon proche du neutre
capacité d'échange cationique	augmentation
conductivité électrique	augmentation
concentration en nutriments	augmentation
disponibilité en nutriments	variation
éléments de trace et métaux	variation
<b>Biologique</b>	
activité microbienne	augmentation
biomasse microbienne	augmentation
diversité microbienne	augmentation
activité enzymatique	augmentation
phytotoxicité	variation
phytostimulation	augmentation
suppression des maladies végétales	variation

Le compost, produit stable obtenu à la fin du processus de compostage, qui est source de matières organiques joue un rôle important dans la fertilité du sol et pour une production agricole durable (FAO, 2005 ; Tittarelli *et al.*, 2007). L'application du compost au sol crée toute une série de changements des propriétés physiques, chimiques et biologiques (Richard, 2005). Certaines de ces propriétés sont élevées au début de l'incorporation mais diminuent en fonction du temps, d'autres persistent et quelques unes sont latentes ou se manifestent selon les conditions du milieu. Les composts peuvent être utilisés pour améliorer les cultures, la santé du sol, les niveaux de nutriments, la croissance des plantes, la matière organique et la suppression des maladies causées par les pathogènes telluriques des plantes (FAO, 2005 ; Mehta *et al.*, 2014). D'après Kettler (2000), les amendements de composts favorisent le processus de reforestation en améliorant la nutrition et la croissance des plantes, et surtout en augmentant leur potentiel de survie en période de sécheresse.

Une meilleure compréhension des interactions complexes compost-sol devient intéressante pour des avancées scientifiques et une gestion pratique des systèmes agronomiques et

horticulturaux du compost. Le tableau résume les différentes interactions compost-sol trouvées.

#### **1.4.1. Les effets physiques**

L'amendement du sol avec du compost peut affecter les fonctions physiques du sol. Ainsi, il peut réduire la masse volumique apparente des sols, améliorer la capacité de rétention d'eau et la disponibilité de l'eau aux plantes, la porosité, la perméabilité (Agnew et Leonard, 2003). Le transport et la conservation de l'eau, les échanges gazeux, le transfert de chaleur sont d'autres effets que peut apporter le compost au sol (Richard, 2005). De même, l'incorporation de compost au sol s'avère efficace pour lutter contre la dégradation de la surface du sol (Bresson *et al.*, 2001 cité par Albrecht, 2007). Les amendements en matière organique stable augmentent le pouvoir tampon et la capacité d'échange des sols, deux paramètres qui conditionnent la nutrition minérale des plantes (Mustin, 1987). Ils augmentent aussi le drainage, l'aération, la pénétrabilité des racines (Termoshuizen *et al.*, 2004). L'application de compost peut également influencer l'assimilation d'énergie d'un sol en raison de sa couleur foncée (Podzol et sol brun). Les parcelles amendées avec du compost montrent un bilan radiatif journalier de moindre amplitude et sa température superficielle est tendanciellement plus élevée (Larbi, 2006).

#### **1.4.2. Les effets chimiques**

L'ajout de compost au sol entraîne immédiatement des changements importants dans la concentration des nutriments, des métaux et d'autres composés chimiques qui résultent du taux d'application et de la composition des deux substrats (Richard, 2005). La capacité d'échange cationique globale est augmentée, l'acidité du sol réduite ainsi qu'une chélation des minéraux et des métaux lourds du sol diminuant ainsi les risques d'exportation des métaux lourds vers la plante (Bolan *et al.*, 2003 cité par Albrecht, 2007). Le compost peut être utilisé pour remédier aux composés organiques chimiques toxiques, par une amélioration de leur biodégradation et par une réduction de leur mobilité et de leur biodisponibilité (Richard, 2005).

Les influences de l'application de compost sur les propriétés physiques et chimiques du sol sont probablement dues plutôt à des changements quantitatifs de la matière organique et non qualitatifs (Larbi, 2006).

### **1.4.3. Les effets biologiques**

En plus d'augmenter l'activité microbienne du sol, le compost augmente l'activité spécifique des enzymes, la quantité de biomasse microbienne active ainsi la diversité de l'écologie microbienne du système sol-compost.

Divers biomolécules ont été retrouvées dans le compost et ont des effets promoteurs de croissance des plantes tels l'acide indole acétique, les acides fulviques et humiques ; tout en augmentant la photosynthèse, la synthèse protéique et d'autres changements biochimiques qui induisent la régulation de la croissance végétale (Kettler, 2000 ; Richard, 2005).

Un autre point essentiel de l'effet biologique du compost au sol est la suppression des maladies végétales qui est plus de nature biologique que physique ou chimique (Noble et Coventry, 2005 ; Mehta *et al.*, 2014). En effet depuis plusieurs années, certains types de composts sont connus pour supprimer les pathogènes telluriques des plantes par différents mécanismes qui sont les facteurs de suppression (Hoitink et Fahy, 1986 ; Noble et Coventry, 2005 ; Larbi, 2006 ; Adam, 2008 ; Mehta *et al.*, 2014) :

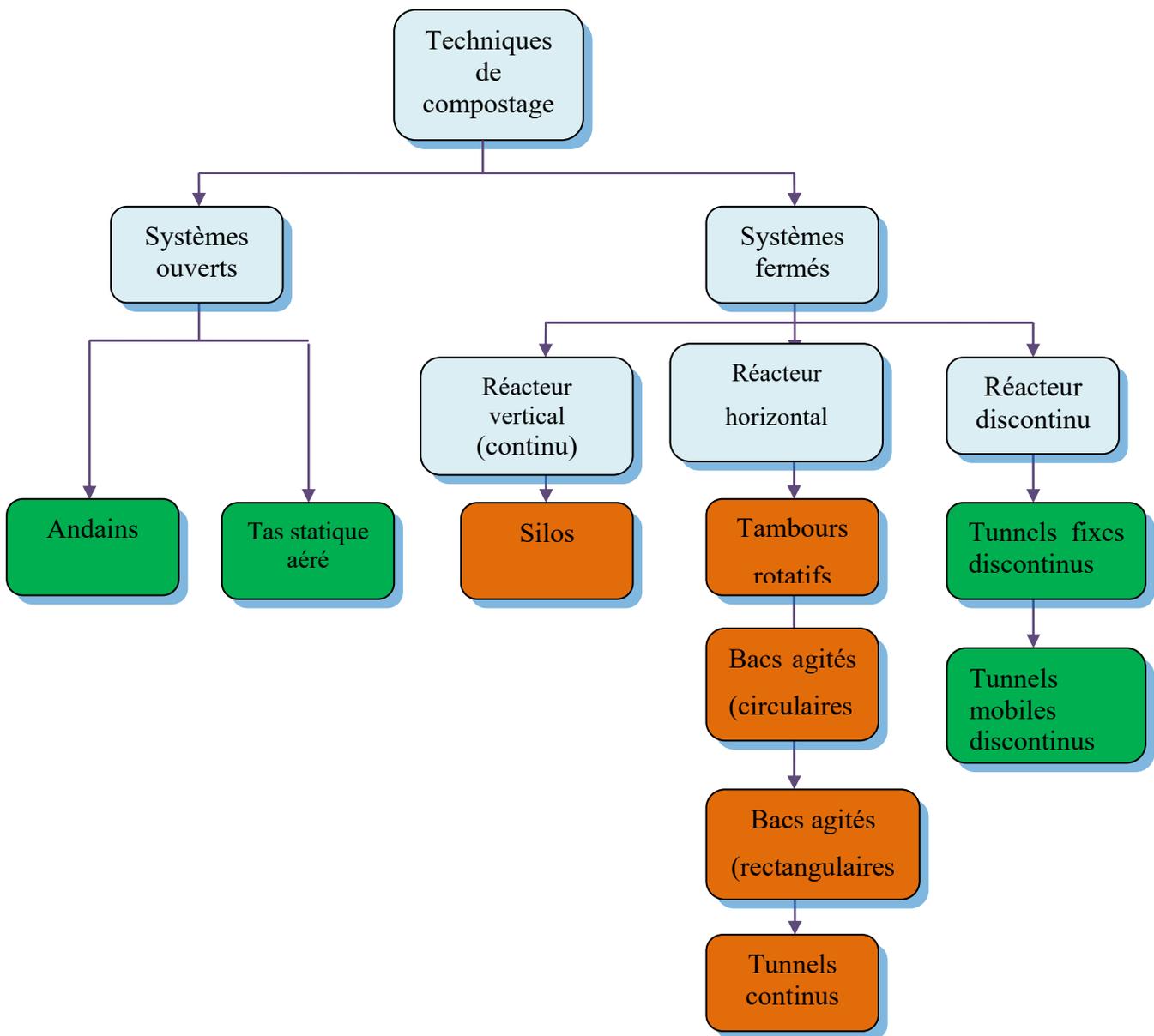
- la compétition pour les nutriments parmi les populations microbiennes ;
- l'antibiose qui est un processus antagoniste ou interaction biologique entre des microorganismes où l'un sécrète des substances métaboliques nocives à l'autre tels des antibiotiques, des enzymes, des composés volatiles, des composés toxiques... ;
- l'hyperparasitisme est un type d'antagonisme où le microorganisme attaque directement le pathogène et le tue ;
- La résistance systémique acquise ou SAR (Systemic Acquired Resistance) et la résistance systémique induite ou ISR (Induced Systemic Resistance) sont des systèmes de défense des plantes aux attaques des pathogènes. Ce sont des capacités développées par la plante et induites par certains microorganismes du sol ; bien qu'ils soient phénotypiquement similaires, il semble que les voies d'inductions de la SAR et l'ISR soient différentes ;

- Prolifération inefficace des pathogènes : Certains signaux chimiques des racines ou des exsudats sont utilisés par le pathogène pour une identification de l'hôte, mais certaines études ont montré que le compost pouvait imiter ces signaux ou déclencher la germination du pathogène avant que ce dernier n'entre en contact avec l'hôte.

Les objectifs du compostage sont nombreux et importants, en plus de la stabilisation biologique des déchets, de la diminution des sites de décharge, il y a d'autres bonnes raisons de pratiquer le compostage. Les raisons environnementales sont que le compostage permet de réduire les émissions de gaz à effet de serre (Francou, 2003) contrairement à la mise à la décharge des déchets. Les raisons économiques sont la diminution d'utilisation des engrais chimiques, l'augmentation des rendements de culture.

### **1.5. Les différents types de compostage**

Il existe plusieurs techniques de compostage disponibles allant des systèmes traditionnels à ceux industriels et aussi du compostage à petite jusqu'au compostage à grande échelle qui varient selon le type, la quantité de déchets et la capacité financière. Le but principal des différentes techniques utilisées jusqu'à nos jours est d'améliorer et d'accélérer le processus biologique naturel qu'est le compostage tout en influençant sur la qualité du compost (Ahmad et al., 2007). Selon Kannangara *et al.* (2000), la méthode de compostage semblerait avoir une influence sur la capacité au processus de compostage à supprimer la maladie. La large variété des systèmes de compostage utilisés peut être groupée en deux grandes catégories (Border, 2002 ; Diaz *et al.*, 2007) : le compostage à l'air libre et le compostage dans une enceinte close.



**Figure 4 :** Classification des systèmes de compostage (adapté de Border, 2002)

### 1.5.1. Compostage à l'air libre (ou système ouvert)

C'est la technologie la plus utilisée à travers le monde (Border, 2002 ; Charnay, 2005). Le but principal de cette méthode est l'accumulation des substrats en piles. Dans les pays en développement, la méthode la plus répandue est le compostage à système ouvert (60%) ; et c'est une technique simple de contrôle, à faible coût d'investissement, nécessite une main d'œuvre importante où le compost est de qualité agronomique satisfaisante avec une bonne homogénéisation lors de la dégradation (Charnay, 2005). La fermentation à système ouvert peut se faire selon deux principales méthodes.

### 1.5.1.1. Le compostage en andains retournés

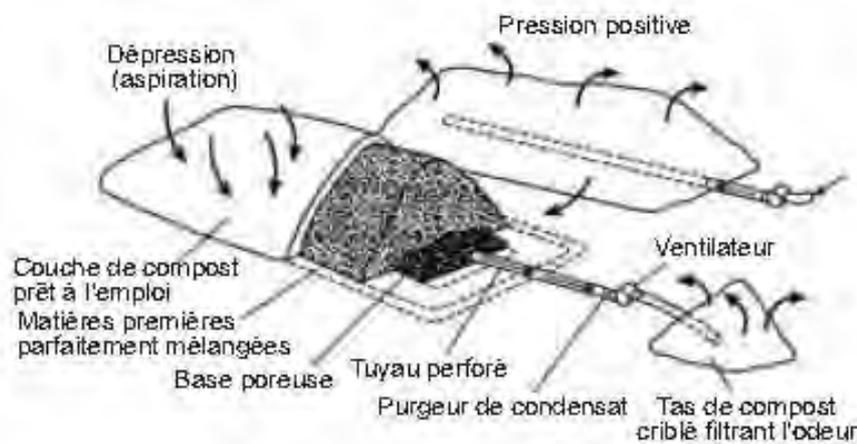
Il consiste à placer un mélange de matières premières dans de longs tas étroits appelés andains remués ou tournés de façon régulière (FAO, 2005). Il est très important de suivre un programme de retournement car la fréquence de retournement est fonction du taux de décomposition, du taux d'humidité et de la porosité des matériaux, ainsi que de la durée désirée de compostage. Le taux de décomposition est plus important au début du processus, la fréquence de retournement diminue au fur et à mesure que les andains mûrissent (Charnay, 2005 ; Albrecht, 2007). Les limites de cette méthode est d'ordre de santé publique car la température nécessaire pour éliminer certains pathogènes n'est pas toujours atteinte, et la procédure de retournement joue un rôle important dans la recontamination de l'andain avec le matériel utilisé (Diaz *et al.*, 2007).



**Figure 5:** Compost en andains retournés (Source : Mr Tine, professeur à l'ESP)

### 1.5.1.2. Le compostage en tas statique

La méthode du tas statique aéré utilise le système d'aération par tuyau mais elle utilise un ventilateur pour fournir de l'air au compost. Le mélange initial des matières premières est crucial afin d'éviter une mauvaise répartition de l'air et un compostage irrégulier. Cette méthode est peut-être la moins chère parmi toutes les méthodes disponibles mais elle a des limites liées au type de substrat utilisé car le mélange a également besoin d'une bonne structure afin de conserver sa porosité durant toute la période de compostage (Albrecht, 2007 ; Diaz *et al.*, 2007).



**Figure 6:** Tas statique aéré (source FAO, 2005)

### 1.5.2. Compostage dans une enceinte close (ou système fermé)

Dans cette méthode, tout le processus de compostage se passe dans un réacteur, dans un bâtiment, un container ou un récipient (Ahmad *et al.*, 2007) qui sont le plus souvent appelés bioréacteurs puisque le compostage est un processus biologique (Diaz *et al.*, 2007). Ces méthodes sont basées sur l'aération forcée et des techniques de retournement mécanique qui visent à accélérer le processus de compostage. Il existe une gamme de méthodes de compostage en containers utilisant différentes combinaisons de récipients, de systèmes d'aération et de mécanismes de retournement. Il existe différentes méthodes de compostage en bioréacteurs (Charnay, 2005 ; FAO, 2005 ; Diaz *et al.*, 2007) :

- Le compostage en casier ;
- Le compostage en réacteur horizontal ;
- Le compostage en réacteur vertical.

Ce type de compostage correspond à des systèmes commerciaux spécialement conçus, et dont les avantages potentiels comprennent: une main-d'œuvre réduite, une moindre sensibilité aux intempéries, un contrôle efficace du processus, un compostage plus rapide, de faibles exigences en surface occupée, et une bonne qualité du produit final (FAO, 2005).

## **1.6. Qualité des composts**

La qualité d'un compost est difficile à définir et demeure une notion évasive. Elle se juge également sur ses qualités comme amendement organique dans les sols. La variabilité et la complexité des composants physico-chimiques et biologiques dans le système compost-sol affecte la possibilité d'étudier les effets de l'addition de matière organique dans le sol (Tittarelli *et al.*, 2007). Le compost étant utilisé dans le domaine agricole, il doit répondre à des critères de qualité afin de pouvoir concourir dans le marché des engrais. En effet, les plus importants facteurs affectant le succès de l'utilisation de compost comme amendement agricole sont les degrés de stabilité et de maturité (Albrecht, 2007). Les termes de maturité et de stabilité d'un compost sont souvent confondus et employés dans un même sens alors qu'ils correspondent à des paramètres différents. Il n'existe pas de définition universelle pour ces paramètres et de nombreux auteurs proposent leur propre définition (Charnay, 2005).

La stabilité correspond à la biomasse microbienne présente correspondant à la transformation de la MO initiale en une MO finale stable (Bernal *et al.*, 1998 ; Albrecht, 2007). quant à la maturité, elle considère l'effet du compost sur les végétaux qui peut être estimé par sa phytotoxicité (Bernal *et al.*, 1998 ; Zmora-Nahum *et al.*, 2005 ; Albrecht, 2007). Vu les différences dues aux origines des matières initiales à composter et des techniques de compostage utilisées, les différents critères ne sont pas souvent cohérents et plusieurs auteurs suggèrent ainsi qu'aucun critère n'est utilisable isolément. Ils recommandent donc une combinaison de différentes techniques (Goyal *et al.*, 2005 ; Albrecht, 2007).

La qualité d'un compost se juge également sur son aptitude à améliorer la fertilité du sol. L'évaluation de la valeur agronomique d'un compost est plus difficile que celle des fertilisants minéraux. Ceci est dû à la complexité associée à la définition des paramètres spécifiques de qualité.

### **1.6.1. Valeur minérale**

La valeur minérale correspond à la quantité d'éléments nutritifs majeurs et d'oligo-éléments disponibles dans le compost sous forme directement assimilables, ou fournis par voie de minéralisation. Le compost assure une faible mobilité des nutriments, notamment de l'azote. Ceci signifie que la minéralisation du sol ne libérera que 5 à 20% de l'azote total du compost dans la première année, mais il peut assurer par la suite une disponibilité continue en azote

(Charnay, 2005). D'après (Soudi, 2005), en moyenne une tonne de compost fournit les quantités moyennes d'éléments majeurs suivantes : 10 kg de N ; 3 à 9 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ; 3 à 6 kg de K<sub>2</sub>O.

### **1.6.2. Valeur amendante**

La valeur amendante est l'aptitude des composts à entretenir ou augmenter le stock de matière organique du sol (Francou, 2003). Elle représente les effets bénéfiques de la matière organique, donc à sa teneur et sa stabilité, et des substances humiques sur les propriétés des sols. Elle devient de ce fait plus recherchée et plus importante que la valeur minérale.

### **1.7. Les biofertilisants**

Les biofertilisants sont de nos jours une partie intégrante des systèmes de nutrition des plantes. En effet, ils permettent une meilleure fertilisation du sol et ce sont des produits qui agissent directement par rapport à l'absorption des oligo-éléments (Cavalcante *et al.*, 2008). Ils peuvent être sous forme d'engrais verts, ou un mélange de bactéries et/ou de microorganismes vivants contrairement aux engrais chimiques. Ce ne sont pas des sources de nutriments pour les plantes mais les aident à accéder aux nutriments disponibles dans leur environnement.

Les microorganismes souvent utilisés comme biofertilisants peuvent être des bactéries du sol fixatrices d'azote (*Rhizobium*, *Azotobacter*), des cyanobactéries fixatrices d'azote (*Anabaena*), des bactéries qui solubilisent le phosphate (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Penicillium*) et des champignons mycorhiziens arbusculaires (Brar *et al.*, 2012). Ils peuvent être considérés comme des activateurs, des accélérateurs dans les processus de dégradation. En effet, ils améliorent la fertilité, augmentent le rendement des cultures, accélèrent la croissance, permettant ainsi une production précoce et importante ; ils peuvent aussi induire une tolérance des plantes au stress abiotique (Balachandar, 2012).

Les biofertilisants sont aussi appliqués dans les processus de compostage afin de diminuer la durée, d'améliorer la qualité du compost (FAO, 2005). L'inoculation avec les microorganismes appropriés capables de rendre les composés plus facilement disponibles est une stratégie utile pour améliorer la qualité, les propriétés des produits finaux, raccourcir le

temps de compostage et peuvent activer la biodégradation (Bolta *et al.*, 2003 ; Vargas-Garcia *et al.*, 2006 ; Jurado *et al.*, 2015). Leur addition peut permettre d'obtenir un biofertilisant multifonctionnel. L'ajout de microorganismes thermo-tolérants, ceux qui solubilisent le phosphate incluant les bactéries, les champignons, les actinomycètes augmentent le contenu en phosphore, la population qui solubilisent le phosphate et celles protéolitiques (Mehta *et al.*, 2014). Une bonne sélection des microorganismes utilisés comme inoculants ainsi que la taille de l'inoculum durant le processus de compostage sont essentiels pour une réussite de ce type de biodégradation (Vargas-Garcia *et al.*, 2007). De ce fait, si le substrat est d'origine agricole, l'utilisation des microorganismes lignocellulolytiques est plus adéquate pour bien conduire le compostage. Dans beaucoup d'études, des microorganismes utilisés comme inoculants durant un compostage sont constitués des champignons tels que *Trichoderma sp.*, *Pleurotus sp.*, *Aspergillus* (FAO, 2005 ; Kausar *et al.*, 2013). Une large variété de bactéries est aussi utilisée durant le compostage *Clostridium thermocellum*, *Streptomyces spp.*, *Ruminococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Cellulomonas spp.*, *Bacillus spp.*, *Serratia*, *Proteus*, *Staphylococcus spp.*, et *Bacillus subtilis* (Mehta *et al.*, 2014).

Un autre aspect de l'inoculation de microorganismes durant un compostage est d'obtenir un compost suppressif aux maladies végétales. Ainsi, cette addition des microorganismes au compost est d'un grand potentiel mais à considérer avec précaution car le moment adéquat d'introduction est crucial. Beaucoup de microorganismes en tant qu'agent de biocontrôle peuvent avoir un rôle déterminant dans l'activité suppressive des composts, ainsi leur ajout peut s'avérer intéressant lors du processus de compostage permettant d'améliorer la qualité suppressive aux maladies ainsi que les propriétés de promotion de croissance (Noble et Coventry, 2005 ; Joshi *et al.*, 2009 ; Mehta *et al.*, 2014).

## ***Chapitre 2 : LA CARACTERISATION DES SOUCHES***

## Chapitre 2: La caractérisation des souches

### Introduction

Les microorganismes surtout les bactéries existent depuis plus de 3 billions d'années sur la planète Terre (Philip *et al.*, 2005) et participent depuis longtemps aux différents cycles de la nature. Ainsi, les bactéries interviennent dans beaucoup de processus environnementaux utiles à l'Homme tels que la bioremédiation, la biolixiviation, la décomposition des déchets organiques et celle de la matière organique du sol, les bactéries promotrices de croissance des plantes, celles qui agissent sur le biocontrôle des pathogènes des plantes... A cause de leur petite taille, un rapport surface-volume grand, du taux élevé de croissance et de division, de la plasticité de leur génome, les bactéries se développent très rapidement (Tuomela *et al.*, 2000 ; Philip *et al.*, 2005).

Durant le processus de compostage, en plus des bactéries, d'autres communautés microbiennes s'y succèdent et jouent aussi d'importants rôles à des étapes précises et bien définies telles les champignons, les Actinomycètes. Ces trois microorganismes sont les grands groupes majeurs actifs durant la biodégradation (Border, 2002 ; Ahmad *et al.*, 2007 ; Albrecht, 2007 ; Insam et de Bertoldi, 2007). Les bactéries sont les plus diverses des groupes microbiens et les plus dominantes durant ce processus (Tuomela *et al.*, 2000 ; Ryckeboer, *et al.*, 2003b ; Insam et de Bertoldi, 2007 ; Mehta *et al.*, 2014). Les bactéries (inclus les actinomycètes) sont en nombre plus élevé que les autres microorganismes. Par conséquent, elles sont responsables de la décomposition initiale et de la génération de chaleur dans le compost tant que les conditions de croissance sont réunies (Ryckeboer, *et al.*, 2003b).

Le groupe phylogénétique des *Firmicutes* est présent à toutes les étapes du processus de compostage et parmi ces *Firmicutes*, les genres *Bacillus* et *Paenibacillus* sont les plus rencontrés (Strom, 1985 ; Hassen *et al.*, 2001 ; Cho *et al.*, 2008).

Dans ce chapitre, il est question d'isoler à partir d'un compost mature issu d'un processus de compostage en andains, les souches qui y sont présentes. Seules les souches présentant les caractéristiques du genre *Bacillus* sont identifiées et caractérisées.

Dans la deuxième partie, nous avons évalué les capacités enzymatiques et les activités de promotion de croissance des plantes des souches de *Bacillus*. En effet, les considérations d'un microorganisme à être sélectionné en tant qu'inoculum lors du processus de compostage sont son adaptation dans l'environnement, la taille de l'inoculum (Vargas-Garcia *et al.*, 2005) et ses capacités à sécréter les enzymes nécessaires lors du processus de biodégradation.

## 2.1. Matériel et méthodes

### 2.1.1. Matériel biologique

#### 2.1.1.1. Origine du matériel biologique

Le matériel biologique est un compost mature de bagasse de canne à sucre de la C.S.S. qui est obtenue après extraction des tiges de canne à sucre. Le compost est issu d'un compostage en andains et présente les caractéristiques (**tableau 2**) qui selon le groupe de laboratoires d'analyses de la direction des mines et de la géologie (Dakar-Sénégal) l'assimile à un sol arable.

**Tableau 2:** Quelques caractéristiques du compost mature

Caractéristiques	H %	pH	M.O. %	A.T. %	C %	C/N	P %	Ca meq/100g	Mg meq/100g	Na meq/100g	K	Couleur
Compost mature	4,05	9,1	23,18	1,76	23,18	13,17	1,02	7,51	4,62	1,35	1,48	brun

H : Humidité ; pH : potentiel d'Hydrogène ; M.O. : Matière Organique ; A.T. : Azote Total ; C : Carbone ; C/N : Rapport C/N ; P : Phosphore ; Ca : Calcium ; Mg : Magnésium ; Na : Sodium ; K : Potassium

#### 2.1.1.2. Origine des souches bactériennes

L'origine des souches à utiliser lors du processus de compostage est présentée ci-après:

##### a) *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>

*Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> qui est la souche type est une souche bactérienne qui a été gracieusement offerte par des partenaires belges de l'Université de Gembloux (Belgique) sous la forme lyophilisée des spores. Les souches ont été réactivées puis repiquées sur gélose nutritive (annexe 1) puis conservées dans une chambre froide à 4°C et dans des cryotubes à -80°C dans du glycérol 20% pour les analyses ultérieures.

## **b) Souche de *Bacillus* isolé du compost**

Cette souche a été isolée d'un compost final mature cité ci-dessus au Laboratoire de Microbiologie Appliquée et Génie Industriel (MAGI) de l'Ecole Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Sénégal) (Diallo *et al.*, 2015).

Le protocole d'isolement et d'identification, est exposé ci-après.

### **2.1.2. Protocole d'isolement et d'identification de la souche du compost**

#### **2.1.2.1. Isolement**

L'isolement sur le compost final est fait selon la norme ISO 6887 en conditions aérobies.

Dans un flacon stérile, 10 g d'échantillon de compost sont prélevés de manière stérile sous la hotte à flux laminaire (*Telstar, modèle AV 100*) et rajoutés dans 90 ml d'un milieu d'eau peptonée tamponnée stérile (voir annexe1). Le flacon est mis à agiter à 150 rpm pendant 30 mn grâce à un agitateur mécanique *Kika-labortechnik (KS250 Basic)* afin que les bactéries présentes migrent dans la solution. Ensuite, des dilutions en cascades de facteur 10 sont effectuées dans des tubes contenant 9ml du milieu d'eau peptonée à partir de la suspension mère du compost de bagasse. Toutes les dilutions obtenues sontensemencées dans des boîtes de Pétri contenant des milieux de culture de gélose nutritive (GN) (*Bio-Rad, USA*) puis les boites sont incubées à 30°C pendant 24 h.

Les souches bactériennes obtenues sont isolées pour obtenir des souches pures par la méthode d'épuisement ou de cadrans. Toutes les souches isolées purifiées sont conservées dans de la gélose nutritive GN (*Bio-Rad*) à 4°C et dans du glycérol à 20% à -80°C.

#### **2.1.2.2. Caractérisation biochimique et physiologique**

##### **a) Etude de la morphologie**

- **Etat frais**

La forme des bactéries, leur mobilité, l'éventuelle présence et la position des spores sont observées au microscope optique (*Olympus CH30, Japon*). Une colonie de chaque souche bactérienne obtenue est mise dans de l'eau physiologique stérile puis une goutte de cette

suspension est montée entre lame et lamelle, puis étalée en faisant glisser la lamelle sur la longueur de la lame. La préparation ainsi faite empêche la mobilité des cellules et les mouvements browniens.

- **Coloration de Gram**

Une colonie bien isolée est étalée sur une lame propre et fixée à l'alcool flambé. C'est une méthode de coloration qui repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Après les différentes colorations, les lames sont observées au microscope optique (*Olympus CH30*, Japon).

**b) Test de sporulation**

Les cultures bactériennes des différentes souches sont incubées au bain-marie à 80°C pendant 10 et 20 mn. Après incubation, une goutte de suspension est mise entre lame et lamelle ainsi, les spores y sont recherchées au microscope optique et elles y apparaissent réfringentes de couleur verte. La sporulation peut aussi être confirmée par croissance de cette souche traitée à la chaleur (10 mn ou 20mn à 80°C) sur bouillon nutritif (BN) (*Bio-Rad*) ou agar nutritif (*Bio-Rad*) après une incubation à 37°C pendant 24h.

**c) Tests biochimiques**

Ce sont les tests classiques utilisés dans les méthodes standards classiques en microbiologie : les tests de recherche de la catalase, de l'oxydase, du type respiratoire, de présence ou non de la nitrate réductase, de la production d'indole, de la dégradation de l'urée, de l'esculine, du L-tryptophane, de la voie de fermentation utilisée (test Vosges Proskauer). La recherche du métabolisme pour l'utilisation d'un hydrate de carbone (métabolisme oxydatif ou fermentatif) a été aussi déterminée.

**Galleries Api :** Ce sont des tests rapides de caractérisation biochimique qui permettent d'étudier en même temps plusieurs caractères biochimiques à partir d'une seule culture pure. Ainsi, les galleries API 20NE qui permettent l'identification des non entérobactéries, API 50CH pour l'étude du métabolisme des hydrates de carbone ont été utilisées durant cette étude. Le protocole est fait selon les instructions du fabricant (*BioMérieux*, France).

Après avoir fait les tests de Gram, de recherche de l'oxydase, de la catalase, de détermination du type respiratoire, et grâce aux clés dichotomiques des bactéries à Gram positif (Shewan, 1977) et à Gram négatif (Lee *et al.*, 1977; Dainty *et al.*, 1979), seules les souches présentant des caractères du genre *Bacillus* sont retenues pour la suite de l'étude.

#### **d) Etude des conditions physiologiques de croissance**

Il s'agit de faire la cinétique de la souche qui est l'évaluation de la population microbienne dans le temps. Ainsi, les conditions optimales de croissance de la souche sont déterminées par calcul de la vitesse spécifique de croissance grâce à des mesures de la densité optique (DO) à intervalles réguliers des paramètres ciblés.

La vitesse spécifique de croissance  $\mu_{\max}$  est mesurée pendant la phase exponentielle de croissance et s'exprime en  $h^{-1}$ . Elle est calculée selon la formule suivante:

$$\text{Log}(DO_f) = \mu_{\max} (t_f - t_i) + \text{Log}(DO_i)$$

avec  $DO_i$  et  $DO_f$  étant respectivement la densité optique au début et à la fin de la phase exponentielle et  $t_f - t_i$  la durée de cette phase.

Pour les paramètres à effectuer, les erlenmeyers sont ensemencés à 10% et les mesures sont effectuées jusqu'à la stabilisation de la turbidité et réalisées dans les mêmes conditions que les témoins.

Le milieu de base utilisé pour les paramètres de la température et du pH est composé pour 1 l d'eau distillée: extrait de viande (3g) ; peptone (5g) ; glucose (2g) et ajusté à pH 7. Pour les cinétiques comme celles du chlorure de sodium (NaCl), du glucose, du fructose, du maltose et des casamino-acids, il est constitué pour 1 l d'eau distillée: extrait de viande (0,1g) ; peptone (0,1g).

#### **Influence de la température**

Les milieux de culture fraîchement inoculés à 10% sont incubés aux différentes températures : 10, 20, 25, 30, 37, 40, 45, 50, 55°C et la cinétique est suivie jusqu'à la stabilisation de la croissance. La lecture se fait chaque heure avec un spectrophotomètre à UV mini-1240 de marque *Shimadzu* fixé à la longueur d'onde  $\lambda = 650$  nm.

### **Influence du pH**

Après que la température optimale ait été déterminée, la cinétique de croissance du pH en fonction du temps s'est faite à cette température et à différentes valeurs de pH entre 5 et 10 variant d'une unité. Les milieux de culture sont ajustés avec de la soude (NaOH) ou avec de l'acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ) et une fois stérilisés, les tubes sont inoculés avec des cultures jeunes (moins de 24h) à 10%. La lecture s'est faite chaque heure à l'aide du spectrophotomètre jusqu'à la stabilisation.

### **Influence de la concentration en NaCl**

Des quantités variables de chlorure de sodium en g/l sont rajoutées au milieu de base utilisé : 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50. Tous les tubes sont stérilisés et inoculés à 10% de cultures jeunes puis ils sont incubés dans les conditions optimales de pH et de température précédemment déterminées. La lecture se fait également à l'aide d'un spectrophotomètre jusqu'à la stabilisation de la croissance.

### **Influence de la concentration de glucose**

Dans le milieu de base, des quantités de glucose variant de 5g/l dans une gamme de 0 à 20 g/l sont rajoutées. L'inoculation est réalisée à 10% de cultures jeunes et l'incubation se fait dans des conditions de pH et de température optimales précédemment déterminées. La densité optique est lue aussi à 650 nm à l'aide du spectrophotomètre.

### **Influence de la concentration en casamino-acids**

La même méthodologie que pour le glucose est utilisée pour les casamino-acids qui est le substrat dont la concentration optimale est à déterminer. Les concentrations sont en g/l : de casamino-acids : 0, 5, 10, 15, 20.

### **Influence de la concentration en fructose**

Afin d'étudier l'influence de la concentration en fructose sur la croissance de la souche isolée, la vitesse maximale de croissance a été mesurée en fonction de différentes concentrations en fructose (de 0 g/l à 20 g/l variant de 5 g/l). Les mêmes conditions optimales de pH et de température ont été utilisées et la lecture est faite au spectrophotomètre à la même longueur d'onde.

### 2.1.2.3. Caractérisation moléculaire

La caractérisation moléculaire de la souche isolée a été effectuée au Laboratoire de Microbiologie de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) à Marseille Luminy en France et a permis d'obtenir le premier positionnement taxonomique. Elle a pour but d'identifier la bactérie isolée et de trouver d'éventuelles relations avec celles déjà connues par comparaison de leur ADN<sub>r16S</sub>.

#### a) Extraction et purification de l'ADN génomique

Les cellules bactériennes sont récoltées par centrifugation de 25 ml de culture. L'ADN génomique a été extrait à l'aide du kit « WizardGenomic DNA extraction kit » (*Promega*) selon le protocole fourni qui est basé sur le principe de la lyse alcaline. Après extraction, l'ADN est remis en suspension dans 50 µl de tampon Tris-HCl 10mM pH 8,5 et conservé à – 20° C.

L'intégrité de l'ADN obtenu est contrôlée par migration électrophorétique dans un gel d'agarose 1% dans un tampon TAE 1X. L'électrophorèse permet de séparer des fragments d'ADN sous l'action d'un champ électrique. A pH neutre, les fragments chargés négativement migrent vers l'anode. Le produit est déposé sur le gel d'agarose est soumis à l'action d'un champ électrique de 100 mV pendant 30 mn. Le Bromure d'Ethidium (BET), présent dans le gel, et qui s'intercale entre les bases de l'ADN émet une fluorescence orange de 254 et 365 nm visualisée sous un rayonnement UV à l'aide d'un transilluminateur (TEX-35 M) (*Bioblock scientific*).

#### b) Amplification de l'ADN

La réaction de polymérisation en chaîne, connue sous le nom de « PCR » (Polymerase Chain Reaction) permet d'amplifier une région spécifique de l'ADN génomique.

Composition des mélanges réactionnels de PCR :

Les réactions de PCR sont effectuées dans des tubes de 0,25 ml, les mélanges réactionnels de 50 µl chacun sont constitués de :

- Tampon (10x) 5 µl
- dNTPs (10 mM) 0,5 µl
- MgCl<sub>2</sub> (25 mM) 5 µl
- Matrice d'ADN génomique 50 ng
- Amorce *Fdl* (50 pmol/µl) 0,5 µl
- Amorce *Rdl* (50 pmol/µl) 0,5 µl
- *Taq* DNA polymérase (3U/µl) 0,2 µl
- H<sub>2</sub>O distillée stérile (qsp) 50 µl

Le couple d'amorces des *Bacteria* utilisé pour l'amplification de l'ADNr16S est :

*Fdl* : 5'-AGA-GTT-TGA-TCC-TGG-CTC-AG-3' (amorce sens)

*Rdl* : 5'-AAG-GAG-GTG-ATC-CAG-CC-3' (amorce anti-sens)

La réaction d'amplification consiste en une première étape de dénaturation de l'ADN génomique suivi par une succession d'étapes de dénaturation, appariement et élongation, au cours desquels le fragment d'intérêt est multiplié un très grand nombre de fois sous l'action de la polymérase. La réaction est terminée par une dernière étape dont le but est de terminer toutes les élongations en cours. Le gène de l'ARN 16S est amplifié avec l'appareil *Perkin Elmer Applied Biosystems : Gene Amp PCR system 2400*. La réaction est réalisée selon la programmation suivante :

- Dénaturation initiale de l'ADN à 95°C pendant 2 mn en 1 cycle ;
- Dénaturation à 95°C pendant 30 s ;
- Appariement à 55°C pendant 30 s en 30 cycles ;
- Élongation à 72°C pendant 2 mn ;
- Élongation à 72°C pendant 5 mn en 1 cycle.

La suspension d'ADN obtenue après PCR est analysée par électrophorèse sur gel d'agarose 1% afin de vérifier son état et d'estimer sa taille et sa concentration.

### c) Séquençage du fragment amplifié

5µl du mélange sont déposés sur un gel d'agarose (1% w/v) afin de contrôler la spécificité de l'amplification. L'ADN amplifié a alors été purifié directement à partir du mélange PCR à

l'aide du kit « Nucleospin DNA purification Kit » (*Macherey-Nagel*) selon le protocole décrit. Le fragment purifié a été resuspendu dans 25 µl de Tris-HCl 10 mM, pH 8,5.

Le séquençage de l'ADNr 16S a été réalisé par la société privée Génome Express, (Grenoble France) selon la méthode de Sanger améliorée par l'utilisation de fluorochromes (méthode Big Dye Terminator).

Les échantillons sont préparés en utilisant un volume final de 20 µl avec 100 ng de produits PCR, 5 pmoles de primer et 8 µl de « Big Dye® Terminators premix » selon le protocole fourni par *Applied Biosystems*.

Le programme de la réaction à l'aide de l'appareil *9700 thermal cycler Perkin Elmer* est établi comme suit :

- première étape de chauffage à 96° C pendant 3 mn ;
- 30 cycles à 96° C pendant 30 s ;
- 55° C pendant 30 s ;
- 60° C pendant 4 mn.

L'excès de « Big Dye Terminators » a été éliminé à l'aide de colonnes d'exclusion. Les échantillons séchés dans une centrifugeuse sous vide et dissous dans 1,6 µl de tampon Formamide déionisée, EDTA pH 8,0 (5 : 1) (v/v) ont été chargés ensuite sur le séquenceur *Applied Biosystems 375XL*. La migration s'est effectuée pendant 12 heures dans un gel d'acrylamide.

#### **d) Analyse phylogénétique**

L'analyse phylogénétique, réalisée par comparaison de la séquence obtenue avec des séquences d'ADN codant pour d'autres sous-unités 16S de l'ARN ribosomal partiel (ADNr 16S) a été réalisée.

Les séquences sont importées dans BioEdit v5.0.9 et la séquence complète du fragment a été reconstituée. Cette séquence a été alignée à l'aide du programme d'alignement de séquence du RDP (Ribosomal database Project) (Maidak *et al.*, 2001). La séquence consensus a été manuellement ajustée pour correspondre au modèle des structures secondaires de l'ADNr 16S (Winker et Woese, 1991).

Une recherche sur Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) disponible sur le site de (NCBI) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) avec la séquence complète par l'intermédiaire de GenBank a été comparée avec des séquences d'autres microorganismes, ce qui a permis

d'identifier les organismes les plus proches. Les positions dans la séquence et les ambiguïtés d'alignement ont été omises, et les distances d'évolution au niveau des paires ont été calculées en utilisant la méthode de Jukes et Cantor (1969). Les dendrogrammes ont été construits en utilisant la méthode du Neighbor-Joining (Saitou et Nei, 1987).

### **2.1.3. Tests Biochimiques**

Des tests biochimiques ont été effectués sur les deux souches de *Bacillus* : *Bacillus sp.* CMAGI2 et *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>.

#### **2.1.3.1. Tests de capacités enzymatiques**

Les souches ont été testées pour voir leur capacité à produire des enzymes extracellulaires qui sont très importantes et peuvent intervenir durant la biodégradation. Ainsi les activités cellulolytiques, pectinolytiques, hémicellulolytiques, ammonifiantes, solubilisation du phosphate, lipolytiques, amylolytiques et protéolytiques ont été effectuées. Les différentes souches sont ensemencées dans leur milieu de culture spécifique ainsi que dans les conditions optimales de croissance, la culture bactérienne obtenue est utilisée comme inoculum lors des tests.

##### **a) Activités cellulolytiques**

Les suspensions bactériennes (10 µl) sont inoculées dans un milieu contenant 1 l d'eau distillée (Ariffin *et al.*, 2006): Milieu A (annexe 2) auquel du carboxyméthylcellulose 1% a été rajouté.

Les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 5 à 15 jours. Après incubation, la révélation qui indique l'activité est faite selon la méthode de Kasana *et al.* (2008) qui consiste à inonder les boîtes avec une solution de lugol (KI 2 g et I<sub>2</sub> 1g dans 300 ml d'eau distillée) pendant 3 à 5 mn. Une zone claire autour de la colonie bactérienne traduit la présence de l'activité cellulolytique des souches.

### **b) Activités hemicellulolytiques**

Un halo clair autour des colonies traduit de l'activité hemicellulolytique lorsque 10 µl de suspension bactérienne sont inoculés sur un milieu composé du milieu A et de xylan 1% incubé à 37°C pendant 5 à 10 jours (Strauss *et al.*, 2001).

### **c) Activités pectinolytiques**

Après avoir inondé avec du HCl 1N le milieu de culture composé du milieu A, de l'acide polygalacturonique 1%, les bactéries pectinolytiques montrent un halo clair autour de leurs colonies après une incubation à 37°C pendant 5-10 jours (Strauss *et al.*, 2001).

### **d) Activités ammonifiantes**

Cette activité est déterminée à partir de 1 ml de culture bactérienne dans 9 ml d'un milieu liquide (milieu A sans agar) contenant 0,02% d'asparagine. Après une incubation de plus de 15 jours, la révélation est faite en ajoutant 1 ml du réactif de Neesler qui vire à la couleur orange-brun lorsque la souche est ammonifiante.

### **e) Activités solubilisant le phosphate**

Ce test est une méthode décrite par Sylvester-Bradley *et al.* en 1982 et qui permet de détecter la capacité des bactéries à solubiliser le phosphate sous la forme de phosphate de Calcium. Il consiste à inoculer des cultures jeunes des souches bactériennes dans un bouillon glucose – extrait de viande (GE) composé pour 1 L d'eau distillée: 5 g glucose, 3 g d'extrait de viande, pendant 24 h à 37°C. Puis 10 µl de culture bactérienne sont déposés sur la gélose glucose-extrait de viande (GEA) qui correspond au bouillon GE auquel 15 g d'agar sont rajoutés. En plus deux solutions sont préparées séparément et sont rajoutées stérilement à 1L du GEA juste avant de couler dans les boîtes de pétri formant ainsi le phosphate de calcium insoluble qui rend le milieu opaque : 5 g de  $K_2HPO_4$  dissous dans 50 ml d'eau distillée et 10 g  $CaCl_2$  dissout dans 100 ml d'eau distillée (Beneduzi *et al.*, 2008). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 5 à 7 jours et les colonies présentant un halo clair sont considérées comme les bactéries qui solubilisent le phosphate.

#### **f) Activités lipolytiques**

Les bactéries lipolytiques montrent une zone d'hydrolyse avec un halo clair autour de leurs colonies lorsqu'elles sont ensemencées dans un milieu composé de peptone 0,5%, extrait de viande 0,3%, huile d'olive 1% et agar 2% ajusté à pH 7 puis incubées à 37°C pendant 24-72 h (Sagar *et al.*, 2013).

#### **g) Activités amylolytiques**

L'activité amylolytique des bactéries est déterminée par leur croissance sur le milieu A contenant de l'amidon 1% ; et qui montre après incubation à 37°C pendant 3 à 7 jours un halo clair autour des colonies après avoir inondé les boîtes avec 1 ml d'une solution d'iode.

#### **h) Activités protéolytiques**

Le test consiste à ensemencer 10 µl de culture bactérienne dans un milieu composé du milieu A et de 1% de lait stérilisé séparément puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 5 jours. L'activité protéolytique correspond à un halo clair autour des colonies des bactéries qui dégradent la caséine.

### **2.1.3.2. Tests d'activités enzymatiques**

La cinétique de production des enzymes cellulases ( $\beta$ -glucosidase et endo-cellulase) en fonction du temps s'est aussi faite sur les deux souches. Le milieu de base liquide utilisé a une composition identique au milieu A (annexe 2) mais exempt d'agar. Des erlenmeyers de 250 ml sont remplis de milieux et inoculés des souches à 10% puis incubés à 40°C tout en les agitant avec un agitateur mécanique (200 rpm/mn). A des intervalles de temps, des échantillons de 5 ml sont prélevés puis centrifugés à 3900 rpm pendant 20 mn à l'aide d'une centrifugeuse et le filtrat récupéré est utilisé dans le dosage colorimétrique des enzymes.

#### **a) Activité carboxyméthylcellulase (CMCase) ou endo-glucanase**

Cette activité est celle décrite par (Wood et Bhat, 1988) et (Ghose *et al.*, 1987) et le dosage colorimétrique des sucres réducteurs libérés en utilisant le réactif à l'acide 3,5-dinitrosalicylique (D.N.S.) est adapté de celui de Miller (1959). Dans des tubes à essai, 0,2 ml de filtrat est ajouté dans 1,8 ml CMC 1% dissous dans un tampon citrate de sodium 0,05 M pH 4,8 puis incubés dans un bain-marie à 50°C pendant 30 mn. A la fin de l'incubation, 3 ml du réactif DNS sont mis dans les tubes à essai pour stopper la réaction. Ensuite, tous les tubes sont placés dans un bain-marie bouillant (100°C) pendant 5 mn et immédiatement après refroidis dans un bain d'eau glacée. L'absorbance est lue à 575 nm au spectrophotomètre UV/Vis *Analytik Jena (Specord 200 Plus)* équipé d'un logiciel basique *WinASPECT PLUS®*. Les échantillons sont faits en triple, tous les échantillons, les témoins, les blancs ainsi que la gamme étalon sont faits en même temps et dans les mêmes conditions de l'expérience. Une unité d'activité de CMCase correspond à 1  $\mu$ mol de glucose libéré par minute par ml d'enzyme.

#### **b) Activité $\beta$ -glucosidase ( $\beta$ -D-glucoside glucohydrolase)**

La méthode utilisée est celle adaptée de la méthode de Wood et Bhat (1988).

Le Dosage se fait d'abord en mélangeant 0,2 ml de filtrat bactérien avec 1,8 ml de substrat de *p*-nitrophényl- $\beta$ -D-glucoside (*p*NPG) 0,15g/l préparé dans un tampon citrate de sodium 50 mM pH 4,8. Les tubes à essai sont incubés à 50°C pendant 30 mn puis 2 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1M sont rajoutés au milieu réactionnel pour stopper la réaction ainsi c'est le *p*-nitrophénol libéré qui est mesuré colorimétriquement au spectrophotomètre UV/Vis à la longueur d'onde de 400nm. Une unité de  $\beta$ -glucosidase est exprimée en 1  $\mu$ mol de *p*-nitrophénol libéré par ml d'enzyme par minute.

### **2.1.3.3. Tests d'activités bactériennes promotrices de croissance des plantes**

#### **a) Production d'acide indole acétique**

La capacité des souches de *Bacillus* à produire de l'acide indole acétique (AIA), hormone appartenant à la famille des auxines qui sont des phytohormones de croissance est d'abord

mise en évidence dans ce test selon la méthode Almoneafy *et al.* (2012). Les souches sont inoculées dans un milieu de bouillon nutritif dans lequel l'acide aminé L-tryptophane a été rajouté à une concentration de 40 µg/ml puis mises à incuber à 37°C pendant 48h dans un rotateur mécanique *Kika-labortechnik (KS250 Basic)* (150 rpm/mn). Après incubation, la culture bactérienne est centrifugée à 3900 rpm pendant 15 mn avec une centrifugeuse *Bioblock Scientific (sigma)*. 1 ml du filtrat obtenu est mixé avec 1 ml du réactif de Salkowski (1,5 ml de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,5 M dans 80 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 60%) puis le tout est incubé à température ambiante pendant 30 mn (Glickmann et Dessaux, 1995). Ainsi une production d'AIA par la souche correspond à une coloration rose du mélange. La cinétique de la production d'AIA par les souches est suivie au cours du temps en prélevant à chaque échantillonnage 2 ml de culture bactérienne et un suivi du protocole de Almoneafy *et al.* (2012). Ainsi la coloration rose obtenue peut être quantifiée colorimétriquement par lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde  $\lambda = 550$  nm en utilisant une gamme étalon d'acide indole acétique à partir d'une solution mère de 50 µg/ml selon la méthode décrite par Gordon et Weber (1951).

#### **b) Solubilisation du phosphate**

Ce test est identique au test des activités solubilisant le phosphate décrit dans la section 2.1.3.1. Tests de capacités enzymatiques. Elle est décrite selon la méthode de Sylvester-Bradley *et al.* (1982).

#### **c) Méthodes chimiques de détection de production de sidérophores**

Les sidérophores sont des composés de faible poids moléculaire et produits par une très grande variété de microorganismes (Bertrand, 2009). Ce sont des composés qui facilitent l'assimilation du fer dans beaucoup d'environnements allant des sols à la surface des océans (Baakza *et al.*, 2004). Dans cette étude, leur détection est faite par des méthodes basées sur des réactions chimiques et elles sont spécifiques aux types de sidérophores. Ainsi la recherche des sidérophores de type hydroxamate et type catécholates a été effectuée.

– Type hydroxamate

Le test utilisé est celui du perchlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) (Neilands, 1981). A 1 ml de filtrat de culture bactérienne, 1 à 5 ml de solution de chlorure ferrique 2% sont rajoutés. La formation de couleur pourpre ou violette indique la présence de sidérophores de type hydroxamate. Un pic qui peut être noté au spectrophotomètre UV/Visible entre les longueurs d'onde de 420 à 450 nm indique la nature hydroxamate.

– Type catécholates

C'est le test d'Arnow (Arnow, 1937) qui consiste à rajouter à 1 ml de filtrat de culture bactérienne, 1 ml de HCl 0,5 N et 1 ml d'une solution de nitrite de molybdate (mélange de nitrate de sodium  $\text{NaNO}_2$  à 10% et de molybdate de sodium  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  à 10%). Une fois mélangé, une couleur jaune qui se forme, puis 1 ml de NaOH 1 N est ajouté qui une coloration rouge indiquant la présence du sidérophore de type catéchol. L'absorbance peut être lue au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 515 nm.

Le deuxième test au perchlorure de fer est celui de Neilands (1981). Il consiste à mettre 1 ml de filtrat bactérien et 1 ml de  $\text{FeCl}_3$  2%. Un pic à la longueur d'onde de 495 nm indique la présence de sidérophores de type catécholates.

## 2.2. Résultats

Après isolement, cinq souches pures potentiellement différentes ont été obtenues. Les tests effectués sur ces souches pour leur identification ont montré qu'une seule souche semblait être apparentée au genre *Bacillus*.

### 2.2.1. Caractérisation de la souche isolée du compost

#### 2.2.1.1. Caractères morphologiques

Une seule souche a été retenue pour la suite de l'étude : la souche CMAGI2. La bactérie isolée du compost donne sur gélose nutritive des colonies lisses rondes, un peu translucides et très légèrement jaunâtres (**figure 7**). D'après la coloration de Gram, elle est de Gram positif, a

une forme de bacilles longs aux bouts arrondis, elle est isolée et rarement en paire et est mobile à ciliature péritriche.

C'est une souche qui est capable de sporuler lorsque les conditions sont défavorables, car après un traitement à la chaleur (80°C pendant 20 mn), elle a produit des spores qui sont apparues réfringentes de couleur verte au microscope et sont de forme ronde à position terminale.



**Figure 7:** Aspect des colonies de la souche CMAGI2 (source : cette étude)

#### **2.2.1.2. Caractères biochimiques et physiologiques**

Les tests biochimiques et physiologiques ont permis de confirmer les résultats des caractères morphologiques, qu'une seule souche du compost appartenait au genre *Bacillus*. Ainsi, le type respiratoire, différents tests de substrats, l'utilisation des galeries ont été effectués et sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 3:** Caractéristiques de la souche CMAGI2 isolée

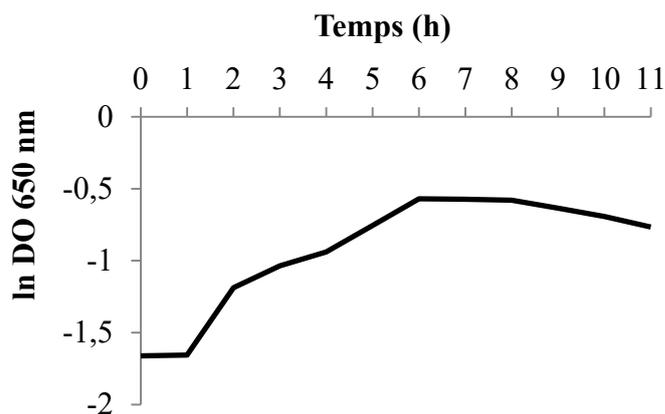
	Résultats
Gram	+
Forme bacille	+
Mobilité	+
Croissance strictement aérobie	-
Sporulation	+
VP	-
RM	-
Oxydase	+
Catalase	+
Nitrate réductase	+
Tryptophane Déaminase	-
ADNase	-
Hydrolyse de l'urée	-
Production d'indole	-
Production de H <sub>2</sub> S	-
L-tryptophane	-
Hydrolyse de l'esculine	+
Hydrolyse de la gélatine	-
Fermentation du glucose	-
Assimilation de quelques substrats :	
Glucose	+
Mannose	-
Mannitol	-
Maltose	-
Fructose	+
Amidon	-
Arabinose	+
Citrate	+
Galactose	+
Saccharose	+
Rhamnose	-
Acide adipique	+
Acide caprique	-
Acide malique	+
D-lactose	-

+ : résultat positif au test

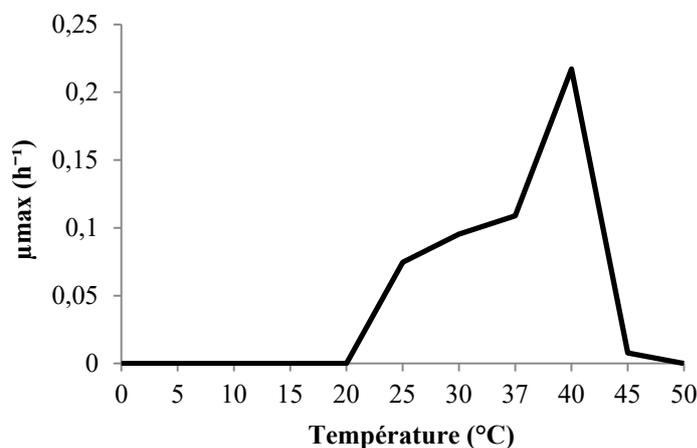
- : résultat négatif au test

### a) Température

La détermination de la température et du pH optimaux de la souche CMAGI2 est primordiale car elle conduit à une bonne croissance de la bactérie et permet d'effectuer les autres tests dans les conditions optimales. Le taux maximal de croissance a été évalué à différentes valeurs de températures allant de 10°C à 55°C. D'après la **figure 9**, la bactérie pousse entre 25°C et 45°C avec une température optimale à 40°C et un  $\mu_{\max}$  de 0,2172 h<sup>-1</sup>(**figure 8**). La souche CMAGI2 est une bactérie mésophile.



**Figure 8:** Cinétique de la souche CMAGI2 isolée à 40°C

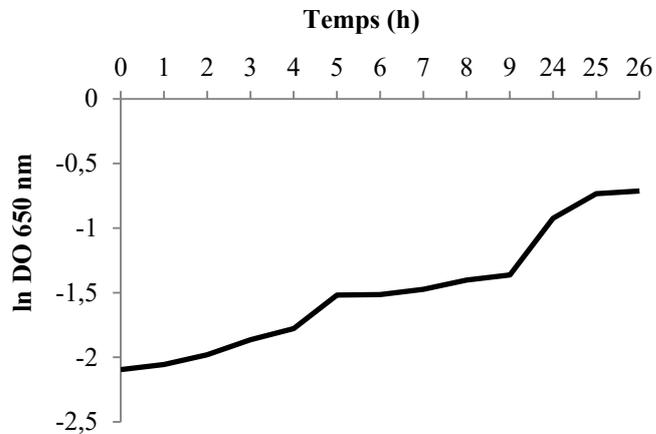


**Figure 9:** Courbe de température de croissance de la souche CMAGI2

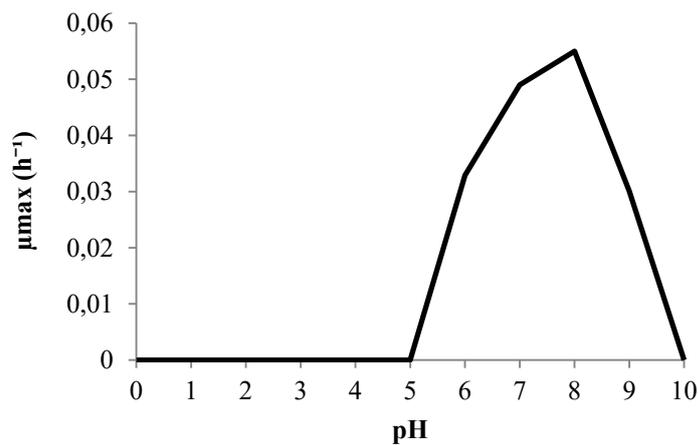
### b) pH

La cinétique du pH a aussi été évaluée à la température optimale de 40°C et montre que cette bactérie pousse dans la gamme de pH se situant entre 6 et 9. Le pH optimal de croissance de la souche CMAGI2 est à pH 8 avec un  $\mu_{\max}$  =0,0550 h<sup>-1</sup>, mais le pH 7 ( $\mu_{\max}$ =0,0490 h<sup>-1</sup>)

(figures 10 et 11) est aussi favorable car ces deux valeurs de pH ont des  $\mu_{\max}$  très peu différentes. Ces résultats nous amènent à conclure que la souche CMAGI2 est une bactérie neutrophile.



**Figure 10:** Cinétique de croissance de la souche CMAGI2 à 40°C à pH 8

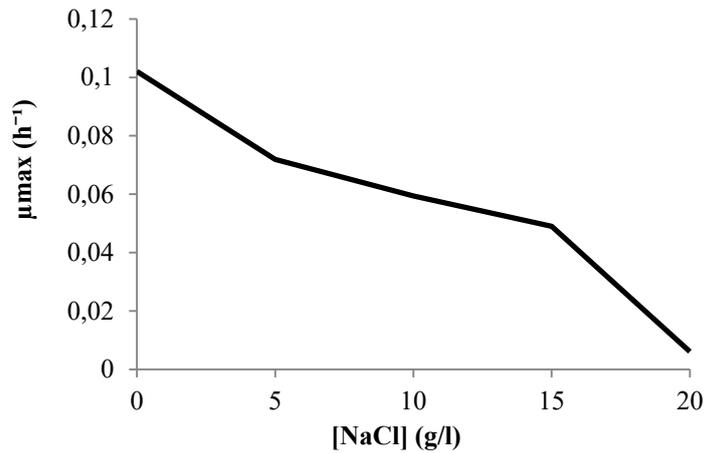


**Figure 11:** Courbe de pH de la souche à 40°C

### c) Assimilation des substrats

#### NaCl

L'absence de NaCl ne gêne en rien la croissance de la souche CMAGI2, ce qui explique que la cinétique sans sel a une valeur  $\mu_{\max}$  la plus élevée (figure 12). Une teneur en NaCl de 5g/l est la plus adéquate pour une bonne croissance, donc le sel n'est pas une exigence pour sa croissance, mais il peut être toléré par la souche jusqu'à une concentration de 20 g/l.



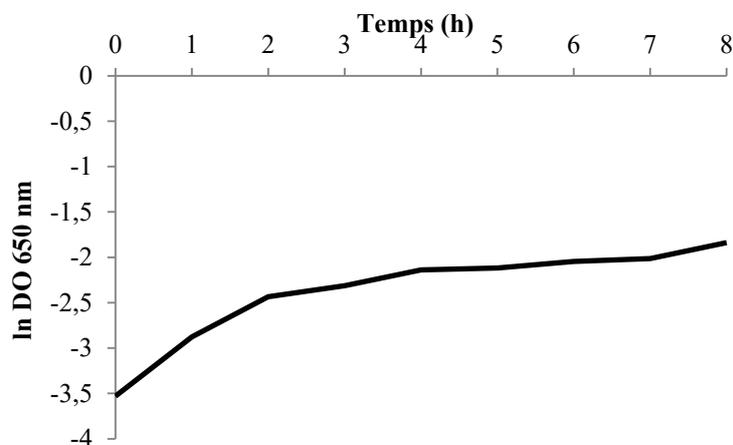
**Figure 12:** Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en NaCl.

### Glucose et casamino-acids

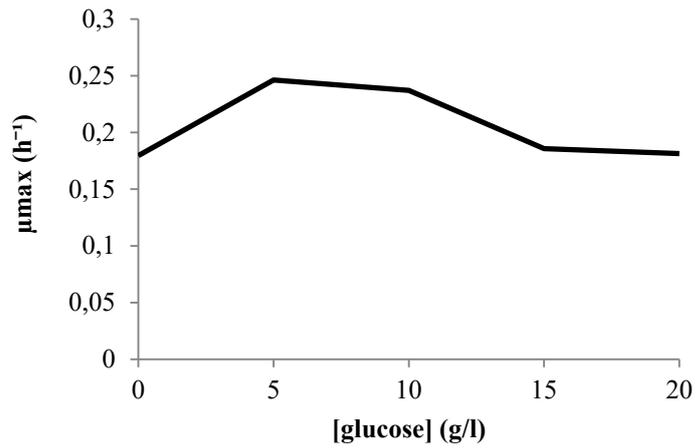
La cinétique des différentes concentrations de quelques substrats a été estimée dans les conditions optimales de croissance ainsi les vitesses spécifiques de croissance ont été déterminées (**figures 13, 14, 15, 16, 17**).

La concentration en glucose de 5 g/l se trouve être la meilleure concentration pour une meilleure croissance de la souche car la vitesse  $\mu_{\max}$  est de  $0,2463\text{h}^{-1}$  qui est plus élevée que la vitesse spécifique sans glucose dans les mêmes conditions de température et de pH.

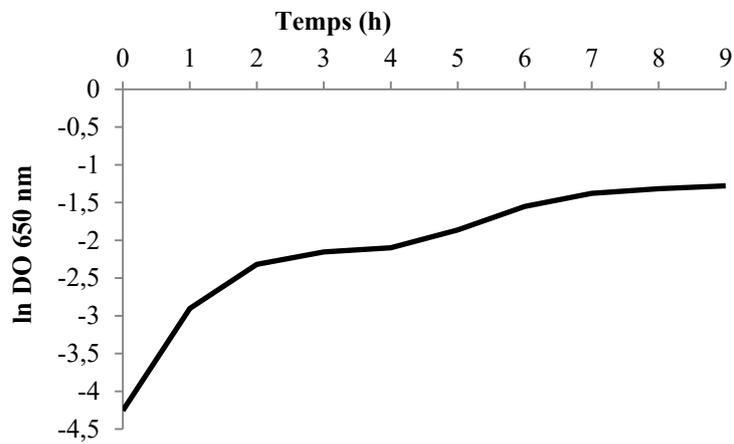
Les casamino-acids donnent aussi la meilleure concentration à 5 g/l et c'est à cette concentration que nous obtenons la plus grande valeur de  $\mu_{\max}$  de  $0,9678\text{ h}^{-1}$ . Nous pouvons dire que ces deux substrats contribuent à accélérer la croissance en biomasse de la souche CMAGI2.



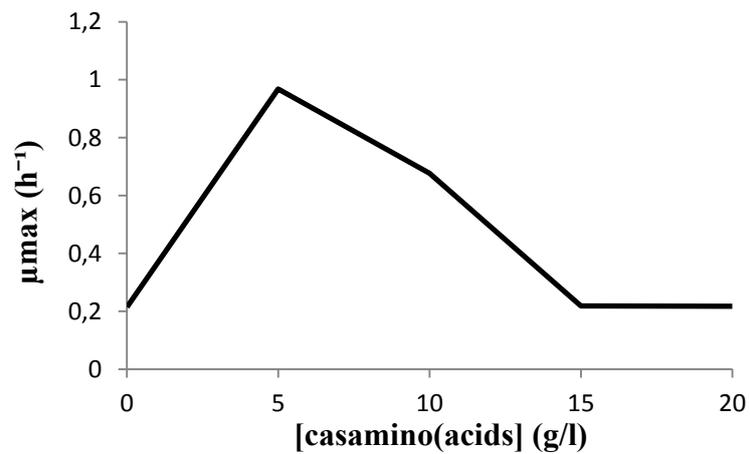
**Figure 13:** Cinétique de croissance de la concentration en glucose de 5g/l



**Figure 14:** Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en glucose



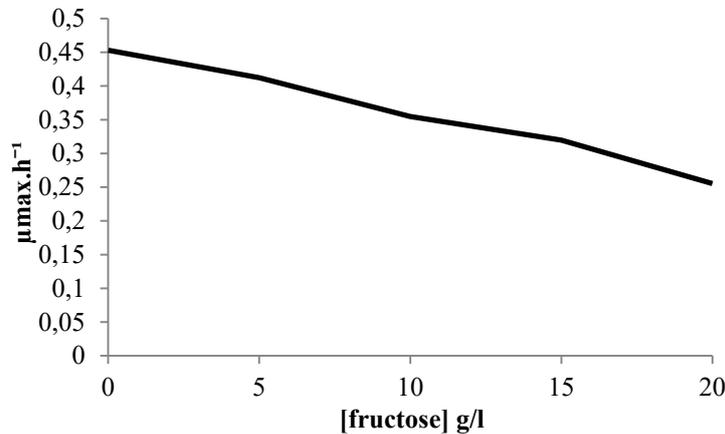
**Figure 15:** Cinétique de la concentration en casamino-acids (5g/l)



**Figure 16:** Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en casamino- acids

## Fructose

La souche CMAGI2 peut croître dans les milieux contenant du fructose mais ce substrat n'est pas une exigence pour sa croissance. En effet, la bactérie pousse mieux sans le fructose (figure 17).



**Figure 17 :** Courbe de croissance de la souche CMAGI2 en fonction de la concentration en fructose.

### 2.2.1.3. Caractérisation moléculaire

La caractérisation moléculaire des souches isolées du compost mature a été effectuée au Laboratoire de Microbiologie de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) à Marseille Luminy (France). L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée, suivie de l'amplification des gènes 16S ainsi que leur séquençage. Ainsi, les séquences obtenues nous ont permis d'identifier quatre souches potentiellement différentes, et qu'une seule souche semblerait présenter les caractéristiques du genre *Bacillus* ; ce qui confirme les tests biochimiques et physiologiques.

La soumission des séquences obtenues à NCBI BLAST pour les comparer avec d'autres séquences d'autres microorganismes plus proches de notre souche a permis l'étude du positionnement taxonomique grâce à l'arbre phylogénétique de la souche *Bacillus* CMAGI2. Ainsi après soumission, la souche a montré des similarités sur une couverture totale de 100% avec quatre autres souches différentes.

B. CMAGI2 est proche à 99% avec *Lysinibacillus fusiformis* XW18 (numéro d'accèsion à GenBank EU545408) qui est une bactérie provenant des eaux de rivière polluées par les déchets de volaille et qui a été isolée par Adelowo et Fagade (2012).

La bactérie CMAGI2 est aussi proche à 99% avec *Lysinibacillus sphaericus* wh22 (numéro d'accèsion à GenBank FJ418643) provenant de boues d'épuration pharmaceutiques (Wu *et al.*, 2009) et *Lysinibacillus sphaericus* C3-41 (numéro d'accèsion à GenBank CP000817), une souche isolée d'un site de reproduction de moustiques (Hu *et al.*, 2008).

**Tableau 4:** Comparaison entre *Lysinibacillus fusiformis*, *Lysinibacillus sphaericus* et *Bacillus* CMAGI2

Caractéristiques	<i>Bacillus</i> CMAGI2 isolée	<i>Lysinibacillus</i> <i>fusiformis</i> <sup>a, b</sup>	<i>Lysinibacillus</i> <i>sphaericus</i> <sup>a, b, c,</sup> <sup>d</sup>
Oxydase	+	+	+
Catalase	+	+	+
Uréase	-	+	-
Nitrate réductase	+	-	-
VP	-	-	-
Indole	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-
Esculine	+	-	-
Gélatine	-	+	-
Citrate	+	-	+
TDA	-	ND	-
Gamme de température (°C)	25 - 45	17 - 40	10 - 40
Gamme de pH	6,0 – 9,0	6,0 - 9,5	6,0 - 9,5

<sup>a</sup>: (Ahmed *et al.*, 2007)

<sup>b</sup>: (Claus et Berkeley, 1986)

<sup>c</sup>: (Priest *et al.*, 1988)

<sup>d</sup>: (Wu *et al.*, 2009)

ND : non déterminé

La souche *B. CMAGI2* présente beaucoup de caractères similaires avec le genre *Lysinibacillus* (**tableau 4**) tels que des tests positifs à l'oxydase, la catalase et des tests négatifs (indole, H<sub>2</sub>S, VP). D'après Ahmed *et al.* (2007), le genre *Lysinibacillus* ne possède pas l'enzyme nitrate réductase, ce qui le distingue d'ailleurs du genre *Bacillus* or la souche CMAGI2 possède l'enzyme nitrate réductase. De ce fait, il semblerait que *B. CMAGI2* n'appartienne pas au genre *Lysinibacillus*.

La souche *B. CMAGI2* est proche à 99% avec *Bacillus sp. JU2* (2010) (numéro d'accèsion à GenBank GU566326) ; une souche qui semblerait être une bactérie pathogène et qui a été isolée des échantillons des eaux de boisson provenant de centres hospitaliers en Inde (Pavan *et al.*, 2013).

**Tableau 5:** Comparaison entre *Bacillus sp. JU2* et *Bacillus CMAGI2*

Caractéristiques	<i>Bacillus sp. JU2</i> <sup>a</sup>	Souche <i>Bacillus CMAGI2</i> isolée
Oxydase	+	+
Catalase	-	+
Uréase	-	-
Nitrate réductase	ND	+
VP	-	-
Indole	-	-
Gélatine	+	-
Citrate	-	+

<sup>a</sup> : (Pavan *et al.*, 2013)

ND: non déterminé

La souche *B. CMAGI2* présente les mêmes résultats positifs que *B. sp. JU2* pour l'oxydase et les mêmes résultats négatifs pour l'uréase, le type de voie de fermentation utilisée (test VP) ainsi que la production d'indole. Pour les autres tests, les deux souches donnent des résultats différents (**tableau 5**). La souche *B. sp. JU2* possède l'enzyme la gélatinase comme *L. fusiformis* la possède (**tableau 4**) et est apparentée à 99,8% avec *L. fusiformis* NBRC 15717

(numéro d'accèsion à GenBank AB271743) (Pavan *et al.*, 2013). Ainsi, *Bacillus* CMAGI2 est probablement une nouvelle espèce du genre *Bacillus* (*Bacillus sp.* CMAGI2) qu'il faudra décrire.

## 2.2.2. Tests enzymatiques et de promotion de croissance des plantes

### 2.2.2.1. Tests enzymatiques

Les deux souches de *Bacillus* : *B. sp* CMAGI2 et *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> ont été testées pour évaluer leurs capacités cellulolytiques, pectinolytiques, hemicellulolytiques, ammonifiantes, de solubilisation du phosphate, lipolytiques, amylolytiques et protéolytiques.

**Tableau 6:** Activités enzymatiques des souches de *Bacillus*

Activités enzymatiques	<i>B. sp</i> CMAGI2	<i>B. subtilis</i> JCM 1465 <sup>T</sup>
Cellulolytique	+	+
Hémicellulolytique	-	+
Lipolytique	+	+
Solubilisation phosphate	+	-
Amylolytique	-	+
Protéolytique	+	+
Pectinolytique	-	+
ammonification	+	+

+ : Positif

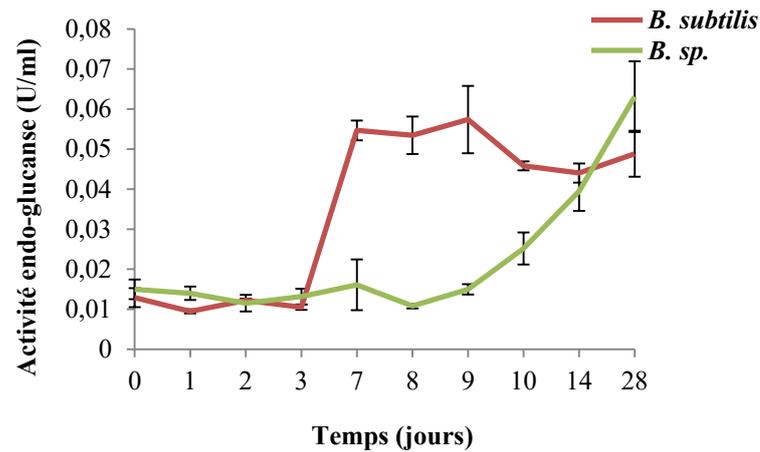
- : Négatif

Les activités cellulases des deux souches ont été suivies durant la fermentation pour une production de cellulases pendant une période d'un mois.

La production de cellulases débute à partir du 3<sup>ème</sup> jour pour *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> avec une activité endo-glucanase maximale de 0,057 U/ml au bout de 9 jours.

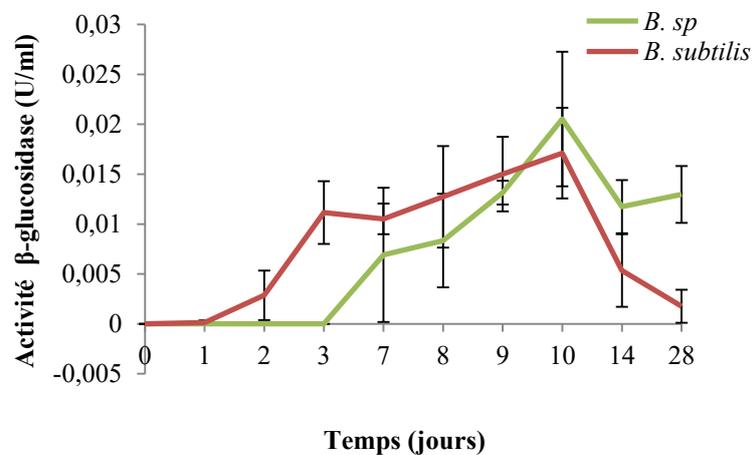
La souche *B. sp.* CMAGI2 a une production beaucoup plus lente, qui débute à partir du 9<sup>ème</sup> jour pour atteindre une activité maximale d'endo-glucanase de 0,063 U/ml au bout de 14 jours (**figure 18**).

Cette cinétique observée pour les deux souches est confirmée par le test cellulolytique sur gélose. En effet au bout de 15 jours d'incubation, la souche *B. sp.* CMAGI2 présente le rapport le plus élevé du diamètre du halo clair sur diamètre de la colonie comparé à *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>. Ainsi, *B. sp.* CMAGI2 dégrade plus la cellulose par rapport à *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> mais prend plus de temps à la dégradation.



**Figure 18:** Activités endo-glucanases de *B. sp.* et *B. subtilis*

Les activités  $\beta$ -glucosidases présentent des activités plus faibles comparées aux endo-glucanases. *B. sp.* CMAGI2 montre une activité maximale  $\beta$ -glucosidase de 0,020 U/ml en 10 jours d'incubation, tandis qu'une activité de 0,017 U/ml a été notée pour *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> au bout de 10 jours d'incubation (**figure 19**).

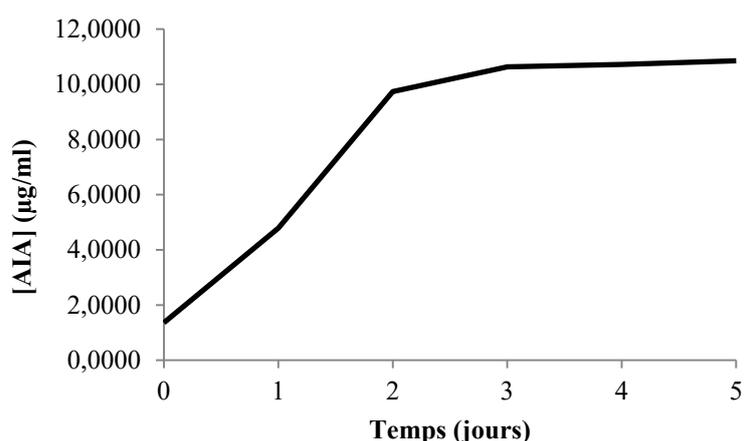


**Figure 19:** Activités  $\beta$ -glucosidases de *B. sp.* et *B. subtilis*

### 2.2.2.2. Tests de promotion de croissance des plantes

Beaucoup d'études ont montré que certaines souches de la rhizosphère PGPR des genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Rhodobacter*, *Azospirillum*...favorisaient la croissance des plantes et augmentaient le rendement des plantes par des mécanismes tels que la solubilisation du phosphate, la production de sidérophores et la production d'auxine. Nous avons voulu étudier la capacité des souches de *Bacillus* utilisées dans cette étude à exprimer ces activités qui sont retrouvées chez les bactéries présentes autour des racines.

D'après le **tableau 7**, seule la souche *B. sp.* CMAGI2 a donné des réponses positives aux tests de la solubilisation du phosphate et de production d'AIA avec une production maximale d'AIA de 10,85 µg/ml (**figure 20**). Pour les sidérophores, ceux de types hydroxamate et catécholate n'ont pas été détectés.



**Figure 20:** Production d'AIA de la souche *B. sp.* CMAGI2 au cours du temps

Quant à la souche de *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>, elle ne montre aucun résultat positif aux tests de capacités promotrices de croissance des plantes (**tableau 7**).

**Tableau 7:** Activités de promotion de croissance de plantes

Activités	<i>B. sp.</i> CMAGI2	<i>B. subtilis</i> JCM 1465 <sup>T</sup>
Production d'AIA	+	-
Production de sidérophores	-	-
Solubilisation du phosphore	+	-

### 2.3. Discussion

Il était question dans ce chapitre de caractériser les souches bactériennes présentes dans un compost mature issu d'un compostage en andains dont certaines caractéristiques y sont présentées et d'évaluer leurs capacités enzymatiques. Une fois que les caractérisations physiologique et moléculaire ont été faites, la suite de l'étude s'est faite uniquement sur la souche du genre *Bacillus* retenue. Ce genre est le plus retrouvé et le plus dominant des bactéries durant la biodégradation (Strom, 1985 ; Hassen *et al.*, 2001 ; Cho *et al.*, 2008).

Une seule souche parmi les bactéries isolées du compost mature appartient au genre *Bacillus* d'après les tests biochimiques, physiologiques et moléculaires. La souche est Gram positif, mobile, de type respiratoire strict, sporule et possède l'oxydase de même que la catalase. Ainsi, elle présente quelques caractéristiques du genre *Bacillus* selon les critères du « Bergey's manual of Systematic Bacteriology » (Claus et Berkeley, 1986). La caractérisation moléculaire a montré des similitudes avec quatre autres souches grâce à l'analyse phylogénétique. Ainsi, après comparaison des séquences obtenues et celles d'autres microorganismes par recherche sur BLAST, la souche est apparentée au genre *Lysinibacillus*. D'après Ahmed *et al.* (2007), le genre *Lysinibacillus* ne possédant pas l'enzyme nitrate réductase, ce qui signifie que la souche isolée serait *Bacillus sp.*

Beaucoup d'études portant sur le compostage (Strom, 1985 ; Beffa *et al.*, 1996a ; Hassen *et al.*, 2001 ; Ryckeboer *et al.*, 2003a ; Vargas-Garcia *et al.*, 2005 ; Cho *et al.*, 2008 ; MacCready *et al.*, 2013) ont montré que le genre *Bacillus* est dominant et retrouvé à toutes les étapes du processus. La capacité de sporulation que possède le genre *Bacillus*, lui confère un avantage par rapport aux autres microorganismes, ainsi leur abondance et leur thermotolérance leur permettent d'être actifs ou de survivre durant tout le processus de compostage (Cho *et al.*, 2008).

Les capacités métaboliques et physiologiques des deux souches de *Bacillus* à sécréter des enzymes (**tableau 6**) sont importantes dans cette étude car elles serviront d'inoculum lors du processus de compostage. En effet, le substrat utilisé lors du compostage qui est la bagasse de canne à sucre avec une fraction lignocellulosique très importante nécessite l'intervention de microorganismes à capacités enzymatiques lignocellulosiques (Vargas-Garcia *et al.*, 2006). La capacité des microorganismes à assimiler la matière organique dépend de leur faculté à produire les enzymes nécessaires à la dégradation du substrat.

Les recherches portant sur les champignons impliqués dans la dégradation enzymatique de la bagasse et celle des composés lignocellulosiques en général sont bien documentées (Eriksson *et al.*, 1974 ; Pandey *et al.*, 2000 ; Muthuvelayudham et Viruthagiri, 2006 ; Gautam *et al.*, 2012 ; Kausar *et al.*, 2013 ; Yoon *et al.*, 2013). En revanche, des études portant sur la dégradation lignocellulosique bactérienne sont moins bien connues, les Actinomycètes et le genre *Clostridium* étaient les seuls capables de croître en présence de cellulose comme seule source de carbone (Alef et Nanniperi, 1995). De plus en plus, des études montrent l'implication aussi d'autres bactéries à la dégradation de ces substances complexes (Bugg *et al.*, 2011 ; Acharya *et al.*, 2012). Les microorganismes capables de dégrader les polymères à travers la production d'enzymes extracellulaires peuvent utiliser une grande variété de sources de carbone durant le compostage, et cela leur donne un avantage nutritionnel (Jurado *et al.*, 2014). D'après Priest (1977), le genre *Bacillus* peut sécréter une variété d'enzymes extracellulaires solubles, ce qui reflète sa diversité. Ainsi des travaux ont récemment montré sa capacité à produire des enzymes telles les cellulases (Ozaki et Ito, 1991 ; Singh *et al.*, 2004 ; Ariffin *et al.*, 2006 ; Acharya *et al.*, 2012). Les souches de *B. sp.* CMAGI2 et *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> bien qu'elles possèdent des capacités enzymatiques à dégrader plusieurs polymères dans les expériences *in vitro*, leur efficacité effective pourra être confirmée lorsqu'elles seront testées *in vivo* à l'échelle du processus de compostage.

Les bactéries vivant autour des racines communément appelées PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) ont des propriétés de compétition par rapport aux pathogènes du sol et des propriétés de croissance de la plante hôte (Adam, 2008). Ainsi quelques propriétés de promotion de croissance ont été retrouvées chez *B. sp.* CMAGI2 telles, la solubilisation du phosphate et la production de phytohormones. La non détection chimique des sidérophores de type hydroxamate ou catécholate des souches ne signifient pas qu'elles ne sont pas capables de produire des sidérophores mais qu'elles ne produisent pas ce type de sidérophores. Etant donné qu'un grand nombre de facteurs environnementaux (pH, température, la source de carbone, concentration en fer du milieu, l'addition d'ions métalliques) influence la production des sidérophores (Adam, 2008 ; Bertrand, 2009). Le genre *Bacillus* a un avantage par rapport aux autres bactéries grâce à la formation de spores résistantes au changement de conditions du milieu, il pourrait se retrouver dans le sol après le compostage et germer à nouveau lorsque l'environnement redevient favorable. Ainsi *B. sp.* CMAGI2, grâce à ses propriétés promotrices de croissance, pourrait avoir des effets directs sur la croissance des plantes et l'augmentation du rendement. Il peut solubiliser le phosphate et le rendre disponible à la

plante et des études ont montré que l'inoculation des microorganismes solubilisant le phosphate lors d'un compostage pouvaient améliorer le contenu en nutriments du compost (Sadasivam *et al.*, 1981 ; Bhardwaj et Gaur, 1985). Il peut aussi synthétiser des hormones telle l'auxine favorable à la croissance et au développement des plantes. La mobilité de la souche peut lui conférer une capacité de colonisateur grâce à la présence de flagelle, la vitesse de croissance de la bactérie peut aussi créer la compétition par rapport à d'autres microorganismes surtout les pathogènes.

Les souches de *Bacillus* étudiées présentent des propriétés qui permettront de les utiliser dans diverses applications telles la production d'enzymes, l'amélioration ou la bioaugmentation du processus de compostage, être utilisées en tant que biofertilisants, bactéries promotrices de croissance des plantes ou antagonistes aux pathogènes du système végétal dans le contrôle biologique.

## Conclusion

A l'issu des travaux effectués dans ce chapitre, il a été isolé d'un compost mature à base de bagasse de canne à sucre issu d'un processus de compostage en andains une souche de *Bacillus sp.* CMAGI2 qui a pu être identifiée et caractérisée afin de connaître ses conditions optimales de croissance. Des tests ont permis d'estimer ses capacités enzymatiques et ses propriétés promotrices de croissance de plantes. Une autre souche de *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> qui possède des capacités enzymatiques est aussi utilisée dans cette étude. Les deux souches serviront d'inoculum lors du processus de compostage. Il reste à savoir leur comportement lorsqu'elles seront en contact avec les communautés microbiennes naturellement présentes durant la biodégradation et aussi leur présence dans le sol en tant qu'engrais sur des cultures. Ces résultats obtenus dans ce chapitre ont fait l'objet d'une publication dans la revue *Afrique Science* intitulée : **Isolement, identification et caractérisation d'une souche de *Bacillus sp.* à partir d'un compost.**

***Chapitre 3 : LE PROCESSUS DE COMPOSTAGE  
ET ESSAIS DE CULTURES SUR TERRAINS  
AGRICOLES***

## Chapitre 3 : A. Le processus de compostage

### Introduction

Le compostage est un processus biologique qui convertit la matière organique grâce à l'action des microorganismes en un produit stable qui peut être utilisé bénéfiquement en agriculture (Border, 2002). Le compost utilisé comme amendement organique ou fertilisant est essentiel à la fertilité et à l'équilibre du sol tout étant bénéfique à la croissance des plantes, il participe à la lutte contre l'effet de serre additionnel (Francou, 2003 ; FAO, 2005 ; Ahmad *et al.*, 2007 ; Insam et de Bertoldi, 2007, Jurado *et al.*, 2015). En pratique, tout le problème réside dans le suivi et le contrôle de l'évolution au travers des différentes étapes pour la réalisation des objectifs du compostage. Il est important de suivre certains paramètres afin de contrôler la biodégradation pour obtenir un compost mature et stable tant physiquement, chimiquement que biologiquement.

Beaucoup d'études ont montré que l'inoculation avec des souches microbiennes comme starter pouvaient augmenter la population microbienne, améliorer la qualité microbiologique, diminuer le temps de compostage (Bolta *et al.*, 2003 ; Ahmad *et al.*, 2007 ; de Figueirêdo *et al.*, 2013). Cependant, des résultats contradictoires ont été présentés sur la problématique de l'inoculum qui aurait au contraire un effet négatif sur certains paramètres (Golueke *et al.*, 1954 ; Finstein et Morris, 1975). Il apparaît nécessaire d'opérer une bonne sélection de microorganismes à utiliser en tant qu'inoculum pour la réussite de la biodégradation (Vargas-Garcia *et al.*, 2007). Ainsi le genre *Bacillus* appartient au groupe des *Firmicutes* et il est le plus retrouvé à toutes les étapes du processus de compostage et le plus abondant surtout durant la phase thermophile (Strom, 1985 ; Hassen *et al.*, 2001 ; Ryckeboer *et al.*, 2003a ; Vargas-Garcia *et al.*, 2005 ; Cho *et al.*, 2008 ; MacCready *et al.*, 2013 ; Jurado *et al.*, 2014). Grâce à leur capacité de sporulation, le genre *Bacillus* est capable de résister à des conditions défavorables et peut rester viable dans le sol pendant de longues périodes et offrir ainsi une protection durable des cultures contre les agents pathogènes (Elumalai et Rengasamy, 2012)

Dans ce chapitre, il s'agit d'effectuer un processus de compostage à base de bagasse de canne à sucre inoculée de souches de *Bacillus sp.* CMAGI2 et *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> au centre horticole de l'ISRA à Sangalkam. Quatre composteurs sont construits pour réaliser quatre types de composts en fonction de l'inoculation du type de bactéries. Ainsi, il s'agit de déterminer les paramètres physico-chimiques, de suivre l'évolution des changements de la flore microbienne et des activités enzymatiques.

### 3.1. Matériel et méthodologie

#### 3.1.1. Protocole de compostage suivi

##### 3.1.1.1. Préparation des souches bactériennes

Durant le compostage, l'inoculum à utiliser est en général composé d'une ou de plusieurs souches avec des capacités enzymatiques permettant d'améliorer la biodégradation (Vargas-Garcia *et al.*, 2005 ; Vargas-Garcia *et al.*, 2007 ; Zeng *et al.*, 2010 ; Jurado *et al.*, 2014).

Le compostage de bagasse de canne à sucre est inoculé avec deux types de souches de *Bacillus* : *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> et *Bacillus sp.* CMAGI2.

La souche *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> a été gracieusement offerte par des partenaires belges de l'Université de Gembloux (Belgique). Elle est réactivée sur gélose nutritive puis conservée à 4°C et aussi à -80°C dans 20% de glycérol dans des cryotubes. Pour une bonne production de biomasse de cette souche, le milieu utilisé est composé pour 1 litre d'eau distillée de 5g peptone et 3g d'extrait de viande ajusté à pH 7.

*Bacillus sp.* CMAGI2 est isolé d'un compost mature de bagasse de canne à sucre au laboratoire (Diallo *et al.*, 2015). Le milieu qui permet une bonne production se compose pour 1 litre d'eau distillée de 3g d'extrait de viande, 5g de glucose, 5g de peptone, 5g de casamino-acids ajusté à pH 8.

Pour préparer l'inoculation des souches bactériennes lors du processus de compostage, des erlenmeyers stériles de 5 l contenant le milieu spécifique à chaque bactérie sontensemencés à 10% de suspensions de jeunes colonies de souches bactériennes de 18 à 24 h. Les erlenmeyers sont incubés à 40°C pendant plus de 24 h. Après incubation la concentration finale des cultures bactériennes est de 10<sup>9</sup> UFC/ml.

##### 3.1.1.2. Procédé de compostage

Cette étude a pour but le compostage de la bagasse provenant de cannes à sucre de la Compagnie Sucrière Sénégalaise (C.S.S.) qui se situe au nord du Sénégal, plus précisément à Richard-Toll dans la région de Saint-Louis. Le processus consiste à utiliser la bagasse comme substrat et de l'inoculer avec les souches bactériennes spécifiées plus haut. Le compostage s'est fait dans des composteurs de types petits andains (**figure 21**) à l'air libre à l'Unité de Production de Plants Fruitières (UPPF) de la station de Sangalkam de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA)/Dakar (Sénégal).



**Figure 21:** Composteur rempli de bagasse (type andain) (source : cette étude)

**Tableau 8:** Quelques caractéristiques de la bagasse et du fumier avant le compostage

Paramètres	Bagasse	Fumier
Humidité (%)	9,58 (0,83)	8,35 (0,34)
pH	3,56 (0,03)	8,62 (0,01)
Carbone (%)	66,38 (0,49)	33,54 (1,50)
Azote (%)	0,34 (0,00)	2,66 (0,00)
Ratio C/N	195,23 (1,43)	12,61 (0,56)
Cendres (%)	20,50 (1,13)	51,55 (1,32)
Matière organique (%)	79,50 (1,13)	48,45 (1,32)

la valeur entre parenthèses correspond à l'écart-type (n=3)

Quatre (4) types de composts ont été effectués :

- Un compostage exempt de souches bactériennes (non inoculé): Compost témoin ;
- Un compostage inoculé avec des souches de *Bacillus subtilis* : Compost1 ;
- Un compostage inoculé avec *Bacillus sp.* CMAGI2 isolé au laboratoire : Compost2 ;
- Un compost composé d'un mélange des deux souches (*Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> et *B. sp.* CMAGI2): Compost3.

La méthode utilisée est le type de compostage en andains (FAO, 2005) qui est une méthode de compostage beaucoup utilisée aussi bien dans les pays industrialisés que ceux en développement (Charnay, 2005). Les andains ont 5 m de longueur, 1 m de largeur et 60 cm de profondeur. Le processus est effectué dans quatre composteurs dont chacun est rempli d'un volume de 2m<sup>3</sup> de bagasse etensemencé à 1% (20 litres) de souches bactériennes excepté le témoin (ne contient pas de bactéries). Les ensemencements se sont faits trois fois durant tout le processus de compostage. L'humidification initiale était de 60% et l'eau d'arrosage utilisée provenait du forage de la dite station. Durant le premier mois, le retournement qui était manuel se faisait chaque semaine puis bimensuellement à partir du deuxième mois et mensuellement à partir du troisième mois jusqu'à la fin du processus. A partir du troisième mois (98<sup>ème</sup> jour), une masse de fumier de vaches, déjà décomposée provenant d'une ferme familiale sise à Sangalkam, est chauffée puis refroidie et rajoutée aux quatre andains avec 2,5 volumes de bagasse pour 1 volume de fumier. Le processus de compostage a duré cinq mois.

### **3.1.1.3. Protocole d'échantillonnage**

Les sachets d'échantillons stériles (d'environ 20 cm de largeur et 30 cm de longueur) et les gants en latex jetables sont gardés dans un contenant protégé des contaminations. Le préleveur se lave les mains proprement, les sèche, les vaporise de l'éthanol 95°, revêt les gants tout en s'assurant de ne rien toucher d'autre que le sachet d'échantillonnage et le matériel de prélèvement qui a été préalablement nettoyé et vaporisé d'alcool. L'échantillon est pris de manière sécuritaire en tenant le sac d'une main et en prélevant le compost avec l'autre main pour le placer rapidement dans le sac, qu'il referme aussitôt. Les échantillons sont conservés dans des glacières contenant des blocs réfrigérants durant le transport vers le laboratoire. Les échantillonnages constituent le mélange de trois points différents situés sur toute la longueur et à mi-profondeur des andains et 1 kg de compost est prélevé par andain, ce qui constitue les échantillons des analyses microbiologiques et chimiques.

Les mesures de la température, de l'humidité et du pH sont effectuées chaque semaine jusqu'au 147<sup>e</sup> jour.

Les analyses microbiologiques sont faites à différents stades du compostage : 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 63, 84, 105, 112, 126, 147 jours.

Les autres analyses restantes sont déterminées chaque mois : 0, 28, 56, 84, 112, 147 jours.

### 3.1.2. Paramètres physiques et chimiques

#### 3.1.2.1. Température

La température est prise in-situ et les valeurs correspondent à la moyenne de trois prises sur toute la longueur de l'andain à mi - profondeur grâce à un thermomètre électronique *Checktemp1* de marque *Hanna instruments* muni d'une sonde.

#### 3.1.2.2. Humidité et matière sèche

La mesure de l'humidité se fait immédiatement après l'échantillonnage afin d'éviter toute perte d'eau. La méthode utilisée est celle du séchage à l'étuve à 105°C jusqu'à poids constant (près de 24 heures) où l'ensemble (compost + creuset) est pesé avant et après passage à l'étuve. Deux répétitions sont réalisées.

La matière sèche et l'humidité sont calculées selon la formule suivante :

$$\% H = \frac{[M0 - M1]}{M0} \times 100$$

$$\% MS = 100 - \% H$$

MS = matière sèche contenue dans l'échantillon

H = humidité de l'échantillon

M0 = masse d'échantillon (g) avant passage à l'étuve

M1= masse d'échantillon (g) après passage à l'étuve

#### 3.1.2.3. Mesure du pH

La mesure du potentiel hydrogène (pH) s'effectue sur 10g de compost mélangés à 100 ml d'eau distillée et mis à agiter pendant 30mn à température ambiante. La lecture est directe avec un pH-mètre à électrode *Cyberscan 510* (*laboratoires Humeau*).

#### 3.1.2.4. Détermination du taux de cendres

Les cendres sont déterminées par pesée dans des creusets en porcelaine des résidus d'une masse sèche de compost obtenus après calcination à 900°C±2 pendant près de 24 heures jusqu'à poids constant dans un four (*carbolitte*).

$$C\% = \frac{M_1 - M_2}{E} \times 100$$

C% = taux de cendres %

M<sub>1</sub> = poids en grammes du creuset vide

M<sub>2</sub> = poids du creuset et des cendres après calcination

E = prise d'essai du compost en masse sèche

### 3.1.2.5. Détermination de l'Azote total

La détermination de la teneur en azote est celle de la méthode Kjeldhal qui est une méthode de dosage permettant d'analyser globalement la somme de l'azote organique et de l'azote ammoniacal présent dans l'échantillon. Ainsi, le dosage de l'azote par la méthode Kjeldahl fait appel à une minéralisation de l'échantillon en présence d'un catalyseur au sélénium. Le principe consiste à minéraliser l'échantillon en milieu acide en présence de catalyseur et à température élevée. Une solution de NaOH est rajoutée pour déplacer en ammoniac l'azote ammoniacal puis il est entraîné à la vapeur par distillation. Le distillat est dosé par titrimétrie.

### 3.1.2.6. Dosage des chlorures

Le dosage des chlorures est volumétrique et la méthode utilisée est la méthode de Schales. Le principe du dosage est qu'en milieu acide, les chlorures se combinent aux ions mercuriques Hg<sup>++</sup> pour donner des molécules non dissociées de chlorure mercurique. L'indicateur coloré diphénylcarbazonne donne un complexe violet avec l'excès des ions Hg<sup>++</sup> en fin de réaction.

10 g de masse de compost sont introduits dans un erlenmeyer puis 100 ml d'eau distillée sont rajoutés et mis sous agitation pendant 30 mn puis filtrés sur filtre Whatmann. Dans un erlenmeyer, 10 ml de l'extrait aqueux de compost sont mis, et une solution d'acide nitrique N/5 est rajoutée goutte à goutte jusqu'à l'apparition d'une couleur jaune clair. Ensuite, ce mélange est titré par du nitrate mercurique 3 g/l en présence de 8 gouttes d'une solution de diphénylcarbazonne 0,50% jusqu'au virage au violet. Au préalable, l'étalonnage de la solution de nitrate mercurique est fait avec une solution de NaCl 1 g/l.

### 3.1.2.7. Dosage du Carbone organique

Le dosage du carbone organique du compost est basé sur une méthode modifiée de Walkey et Black (1934) : il consiste en une oxydation du carbone organique par le bichromate de potassium à froid en présence d'acide sulfurique concentré. L'excès de bichromate est réduit par du sel de Mohr dont l'excès est lui-même titré par du permanganate de potassium. La réaction d'oxydation de la matière organique par le bichromate de potassium n'est pas complète, elle correspond sensiblement à 77% du carbone présent dans l'échantillon.

Une prise d'essai de masse sèche broyée auparavant et tamisée à 100 µm est introduite dans un erlenmeyer de 500ml. Puis successivement sont rajoutés dans l'ordre : 10ml de solution de  $K_2Cr_2O_7$  1N puis 20ml de  $H_2SO_4$  concentré. Le tout est agité et laissé au repos pendant 30mn. 200ml d'eau distillée puis 20ml de sel de Mohr 0,6N sont ajoutés et l'excès de sulfate ferreux ammoniacal est dosé par du permanganate de potassium 0,2N jusqu'à apparition d'une teinte bleue gris caractéristique. Les témoins sont effectués sans compost.

La quantité de carbone contenue dans l'échantillon est calculée :

1me de  $KMnO_4$  oxyde seulement 3mg de carbone or le taux d'oxydation ici est de 77% donc 1me de  $KmnO_4$  oxyde 3,9mg de carbone organique.

Ainsi la quantité de carbone organique contenue dans les échantillons est calculée :

$$C\%_{00} = \frac{(V - V') \times C2}{P} \times 3,9$$

$V$  = volume en ml de  $KMnO_4$  utilisé pour les échantillons

$V'$  = volume en ml de  $KMnO_4$  utilisé pour les témoins

$P$  = poids en mg de matière sèche de la prise d'échantillon

$C2$  = concentration de  $KMnO_4$  = 0,2N

### 3.1.2.8. Rapport C/N

Le rapport C/N fait partie des indices de maturité des composts et correspond au rapport du carbone organique C et de l'azote total N.

### 3.1.2.9. Teneur en matière organique

Elle peut être déterminée par différence avec le pourcentage du taux de cendres.

$$MO\% = 100 - MM\%$$

MM% = matières minérales ou taux de cendres

MO% = matières organiques

ou être obtenue généralement en dosant la teneur en carbone C% ainsi on estime que le rapport matière organique/carbone est à peu près constant et égal à

$$\frac{MO\%}{C\%} = 1,724 \text{ (Walkley et Black, 1934)}$$

### **3.1.2.10. Dosage de certains minéraux**

Le dosage des minéraux s'est fait essentiellement sur le compost final et les teneurs en masse sèche en potassium (K), en phosphore (P), en sodium (Na), en calcium (Ca) et en magnésium (Mg) ainsi que les ions ammonium ont été déterminées par le Laboratoire d'Analyses et d'Essais de l'ESP/UCAD.

### **3.1.3. Paramètres biologiques**

#### **3.1.3.1. Analyses microbiologiques**

La microbiologie s'est basée essentiellement sur le dénombrement microbien pour suivre l'évolution des microorganismes durant le processus de compostage et les germes recherchés étaient : la flore fongique, les bactéries, les bactéries sporulées, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, les *Clostridium*, les *Salmonelles* et les Actinomycètes.

La préparation des échantillons des composts et des milieux de culture se fait selon les méthodes conventionnelles en microbiologie. L'extraction se fait avec 25g de compost dans 225ml d'eau peptonée et tamponnée (EPT) à pH 7 et le tout est remué avec un agitateur mécanique *Kika-labortechnik (KS250 Basic)* pendant près de 30mn. Des dilutions en série sont faites dans des tubes d'eau peptonée tamponnée (9 ml) et les dilutions sontensemencées dans les milieux de culture (voir annexe 1) en boîtes de pétri ou en tubes selon la méthodologie appropriée:

- Le dénombrement des champignons est effectué sur le milieu Chloramphénicol Glucose Agar (CGA) à 30°C pendant 48 h.
- Celui de la flore mésophile totale sur Plate Count Agar (PCA) à 30°C pendant 72 h.

- Les bactéries sporulées sont détectées sur gélose nutritive (GN) à 30°C pendant 24 h après un traitement des bactéries à 80°C pendant 20mn.
- Les Coliformes sont isolés sur Violet Red Bile Lactose Agar (VRBL) à 44°C pendant 24 h.
- Les Streptocoques sur Bile Esculine Agar (BEA) à 44°C pendant 24 h.
- Les *Clostridium* sur Trypticase Sulfite Neomycin agar (TSN) à 44°C pendant 24 h.
- Les *Salmonelles*, selon la norme ISO 6579 relative à la recherche des Salmonelles par la méthode horizontale qui préconise de faire un préenrichissement c'est-à-dire d'incuber à 37°C pendant 24 h 25g d'échantillons dans 225 ml d'EPT. Un enrichissement est réalisé et consiste à ensemercer 0,1ml du préenrichissement dans des tubes de Rappaport Vassiliadis (10ml) et de les incuber pendant 24h à 44°C. L'isolement est une étape où le milieu Hektoen est inoculé en stries à partir des tubes précédents (tubes Rappaport Vassiliadis). S'il existe des suspicions de présence de Salmonelles, une purification sur gélose nutritive pour l'obtention de souches pures et une confirmation sur galeries API20E sont nécessaires.
- Quant aux actinomycètes, ils sont recherchés sur le milieu spécifique aux actinomycètes (Goodfellow et Williams, 1983 ; Wink, 2004) et l'incubation se fait à 30°C pendant 7 à 15 jours.

D'autres analyses microbiologiques ont été effectuées sur le compost final telles que la recherche de Staphylocoques, de *Vibrio*, *Listeria*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*.

Selon la norme ISO 11290, la méthode horizontale de recherche de *Listeria monocytogenes* nécessite 4 étapes :

- Le préenrichissement est fait c'est-à-dire 25 g d'échantillons dans 225 ml d'un bouillon Fraser-demi sont incubés pendant 24 h à 30°C
- Un ensemencement de 0,1ml de la culture du préenrichissement dans 10 ml de bouillon Fraser puis incubé à 37°C pendant 48 h
- L'isolement de l'ensemencement incubé se fait sur des milieux sélectifs solides : le milieu Oxford ou Palcam puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 h.
- Lorsqu'il y a suspicion, les colonies présumées être des *Listeria* sont repiquées et purifiées sur la gélose Tryptone Soja Yeast Extract Agar (TSYEA) puis confirmées au moyen de tests biochimiques (galeries d'identification...), physiologiques et morphologiques.

Les *Vibrio* sont recherchés sur le milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose (TCBS), les boîtes de pétri sont mises à incuber à 37°C pendant 24 h.

Les Staphylocoques sont dénombrés sur le milieu Baid Parker supplémenté de jaune d'œuf au tellurite de potassium et mis à incuber à 37°C durant 24 h.

*Bacillus cereus* est dénombré sur le milieu de Mossel et l'incubation se fait à 30°C pendant 24h.

Rose-Gal BCIG Agar est un milieu qui permet de détecter *E. coli* après une incubation à 44°C pendant 24 heures.

### **3.1.3.2. Activités enzymatiques**

Les activités de différentes enzymes sont suivies tout au long du compostage à des dates précises (0, 28, 56, 84, 112, 147 jours). Les extraits des quatre différents échantillons (Compost témoin, Compost1, Compost2 et Compost3) destinés aux analyses enzymatiques sont conservés à 4°C.

Les expériences des activités enzymatiques sont réalisées en triple et dans les mêmes conditions que le blanc, les témoins et la gamme étalon.

#### **a) Activités cellulases**

L'extrait enzymatique est récupéré à partir d'une masse de 10 g de compost dissous dans 50 ml de tampon citrate 50 mM pH 4,8, remué grâce à un agitateur mécanique *Kika-labortechnik (KS250 Basic)* à 200 tours/mn pendant 1h puis centrifugé (10000 rpm pendant 10 mn) à l'aide de la centrifugeuse. Le surnageant est filtré avec un filtre stérile (*Sartorius stedim, biotech*, taille des pores 0,45 µm) et le filtrat est récupéré pour les analyses.

La détermination de l'activité de l'enzyme CMCCase (endo-1,4-β-glucanases) est adaptée de la méthode de Wood et Bhat (1988) basée sur le dosage de sucres réducteurs libérés selon la méthode de (Miller, 1959).

L'activité des endo-1,4-β-glucanases est mesurée avec 0,5 ml d'extrait enzymatique et 0,5 ml du substrat de CMC dissous à 1% dans un tampon citrate de sodium 50mM pH 4,8 dans des tubes à essai. Les tubes sont incubés 30 mn à 50°C, puis la réaction est stoppée avec 3 ml du réactif DNS qui sont rajoutés et agités. De suite, les tubes sont portés à ébullition à 100°C pendant 5 mn dans un bain-marie puis refroidis dans un bain d'eau glacée. L'absorbance est lue à 575 nm au spectrophotomètre UV/Vis *Analytik Jena (Specord 200 Plus)* équipé d'un

logiciel basique *WinASPECT PLUS®*. Les résultats sont exprimés en unité par gramme de matière sèche ( $U.g^{-1}.mn^{-1}$ ). Une unité d'activité correspond à  $1\mu mol$  de glucose libéré par gramme de matière sèche par minute. Extemporément, une gamme étalon de glucose à partir d'une solution mère de 2 mg/ml est réalisée afin d'obtenir la courbe étalon et le glucose y est dosé de la même manière que pour les sucres réducteurs avec le DNS (Miller, 1959).

Le dosage d'une autre activité CMCCase ( $\beta$ -D-glucoside glucohydrolase) est adapté de la méthode de Eivazi et Tabatabai (1988) et Wood et Bhat (1988).

Le Dosage se fait d'abord en mélangeant 0,5 ml d'extrait enzymatique avec 0,5 ml de substrat de  $\rho$ NPG 5 mM préparé dans un tampon citrate de sodium 50 mM pH 4,8. Les tubes à essai sont incubés à  $50^{\circ}C$  pendant 30 mn puis 2 ml de  $Na_2CO_3$  1M sont rajoutés au milieu réactionnel pour stopper la réaction ainsi c'est le  $\rho$ -nitrophénol libéré qui est mesuré colorimétriquement au spectrophotomètre UV/Vis à la longueur d'onde de 400nm Les résultats sont exprimés en unité par gramme de matière sèche ( $U.g^{-1}.mn^{-1}$ ). Une unité d'activité correspond à  $1\mu mol$  de  $\rho$ -nitrophénol libéré par gramme de matière sèche par minute. La gamme étalon se fait à partir d'une solution mère de 20mg/100ml de  $\rho$ -nitrophénol pour obtenir le graphe de  $DO = f(\text{concentration de } \rho\text{-nitrophénol})$ .

#### **b) Activités xylanases**

C'est une méthode de dosage basée sur celle de Schinner et von Mersi (1990) en utilisant la même méthodologie que pour l'activité de l'endo-glucanase sauf que le substrat utilisé est ici du xylan 1% dissous dans du tampon citrate 50 mM à pH 4,8. Ainsi le glucose libéré est dosé selon la méthode de Miller (1959). Une unité d'enzyme correspond à  $1\mu mol$  de glucose par gramme de matière sèche par minute.

#### **c) Activités phosphatases**

Les activités phosphatases sont réalisées selon la méthode de Tabatabai et Bremner (1969) qui se fait directement sur le compost humide. Il s'agit d'estimer la quantité de  $\rho$ -nitrophénol libéré par incubation à  $37^{\circ}C$  de 1g de compost et 5 ml de tampon pH 5 ou pH 9 à 10mM de  $\rho$ -nitrophénylphosphate. Le substrat utilisé est le  $p$ -nitrophénylphosphate (Eivazi et Tabatabai, 1977) dissous dans un tampon NaOH Glycine 0,1 M pH 9 pour les phosphatases alcalines et dans un tampon acétate de sodium 0,1 M pH 5 pour les phosphatases acides. Après

incubation, 1 ml d'une solution de  $\text{CaCl}_2$  0,5 M puis 4 ml d'une solution de NaOH 0,5 N sont rajoutés au milieu réactionnel. Une fois mélangé, le contenu est centrifugé à 10000 rpm pendant 10 mn. Ainsi le *p*-nitrophénol libéré est lu au spectrophotomètre à 405 nm. La gamme étalon de *p*-nitrophénol est réalisée dans chacun des deux tampons acide et alcalin. Les résultats sont exprimés en unité par gramme de matière sèche, une unité correspondant à 1  $\mu\text{mole}$  de *p*-nitrophénol libéré par minute.

#### **3.1.4. Analyses statistiques**

Les données ont été saisies sur Microsoft Excel 2010 et toutes les analyses statistiques de comparaison des moyennes ont été déterminées par analyse de variance à l'aide du logiciel XLSTAT (v2008.1.01). Les différences significatives entre les valeurs quantitatives ont été effectuées en utilisant ANOVA ( $p < 0,05$ ) suivi du test de Tukey (HSD) pour les comparaisons multiples.

### **3.2. Résultats**

#### **3.2.1. Activités physico-chimiques**

##### **3.2.1.1. Température, humidité et pH**

Ce sont des facteurs qui font partie des conditions nécessaires aux dynamiques de croissance des communautés microbiennes intervenant lors du processus de compostage. Ainsi suivre leur évolution pour les corriger permet d'obtenir un compost mature et de bonne qualité.

Les températures des différents andains présentent la même allure correspondant aux quatre différentes phases se déroulant pendant le processus de compostage. Les composts montrent le même profil de température tout au long du compostage. Le pic des températures est enregistré pour tous les andains au bout de deux mois de compostage. Aux trois premiers mois, les andains sont significativement différents ( $p=0,013$ ) et la plus faible valeur est notée dans le compost témoin. Nous ne remarquons pas de grandes valeurs de température thermophile (maximum de  $45,07^\circ\text{C}$ ) dans tous les composteurs, ceci peut être expliqué par la

petite taille des andains qui perdent rapidement de la chaleur et ne vont pas atteindre une température suffisamment élevée (FAO, 2005). Ainsi, une transition vers la phase thermophile est quasiment nulle, et cela est dû à une baisse du pH qui affecte l'activité microbienne.

Les résultats de la détermination des températures durant tout le processus pour les quatre composts produits sont consignés dans le **tableau 9**.

**Tableau 9:** Températures (°C) des quatre composts durant le compostage

Temps (jours)	Compost témoin	Compost1	Compost2	Compost3
0	28,50 (0,30)	28,00 (0,20)	27,70 (0,17)	28,23 (0,49)
7	35,07 (0,31)	35,47 (0,50)	33,60 (0,36)	35,33 (0,35)
14	35,20 (0,44)	35,97 (0,15)	35,90 (0,60)	35,97 (0,47)
21	35,77 (0,80)	37,50 (0,20)	37,83 (0,15)	36,07 (0,25)
28	36,33 (0,49)	39,10 (0,66)	38,23 (1,08)	36,63 (0,55)
35	36,93 (1,10)	41,63 (0,47)	40,00 (0,10)	42,10 (0,10)
42	37,07 (0,31)	41,97 (0,06)	40,93 (0,90)	42,73 (0,25)
49	37,53 (0,72)	42,67 (0,35)	41,97 (0,25)	44,00 (0,30)
56	36,97 (0,25)	43,13 (0,32)	42,23 (0,25)	45,07 (0,40)
63	35,63 (0,93)	42,00 (0,30)	40,27 (0,55)	43,50 (0,50)
70	35,37 (0,15)	39,30 (0,46)	39,23 (0,49)	41,27 (0,31)
77	34,23 (0,38)	36,07 (0,31)	36,97 (0,85)	38,67 (1,07)
84	33,10 (1,01)	35,53 (0,68)	35,43 (1,12)	36,60 (1,04)
91	32,60 (0,69)	34,17 (1,04)	33,53 (0,50)	35,17 (1,26)
105	32,13 (0,75)	30,60 (0,35)	32,80 (1,18)	32,20 (0,46)
112	30,77 (1,06)	29,73 (0,15)	31,77 (0,90)	30,60 (0,72)
126	29,40 (0,62)	28,13 (1,27)	27,93 (0,49)	27,63 (0,55)
147	28,57 (0,21)	28,03 (0,06)	27,73 (0,64)	27,93 (0,06)

la valeur entre parenthèses est l'écart-type (n=3)

L'humidité initiale dans les différents andains est de 60%, ce qui se trouve être dans la gamme optimale de 40-60 % pour un bon démarrage de la biodégradation. Durant le premier mois de compostage, la variation de l'humidité a montré une différence significative entre les différents andains ( $p < 0,0001$ ) (**Tableau 10**). La chute de l'humidité dans les andains commence à s'observer après plus de deux mois de compostage à partir du 77<sup>ème</sup> jour. Au 3<sup>ème</sup> mois, la variation de l'humidité est égale entre les compost1 et compost2 et égale entre les compost3 et témoin ( $p=0,001$ ). Au bout de 147 jours de biodégradation, l'humidité atteint des valeurs de 30 à 20% dans les différents composteurs et les valeurs sont différentes statistiquement et celle de l'andain témoin reste la plus élevée.

En effet, le suivi du pH est aussi un bon indicateur de l'évolution et du développement microbien, ainsi une baisse de pH empêche la transition de la phase mésophile vers la

phase thermophile (Smárs *et al.*, 2002 ; Sundberg *et al.*, 2004). Durant le compostage, le pH évolue de la même manière dans les quatre andains (**Tableau 11**).

**Tableau 10:** Humidité (%) dans les différents andains au bout de 147 jours

Temps (jours)	Compost témoin	Compost1	Compost2	Compost3
0	62,24 (0,75)	64,60 (0,66)	66,75 (0,30)	65,03 (0,51)
7	55,45 (0,51)	50,16 (0,66)	53,54 (0,61)	44,34 (0,77)
14	43,51 (0,61)	53,71 (1,12)	55,89 (1,07)	49,34 (1,00)
21	62,31 (0,74)	52,07 (1,37)	59,62 (1,04)	55,33 (0,90)
28	64,66 (0,58)	56,96 (0,06)	61,40 (1,18)	50,93 (1,35)
35	55,26 (0,76)	61,13 (0,22)	44,65 (1,16)	56,02 (0,76)
42	53,99 (0,92)	49,80 (0,11)	42,26 (0,40)	51,83 (0,78)
49	53,61 (0,68)	49,56 (0,42)	54,79 (0,65)	44,89 (1,48)
56	61,42 (1,23)	57,99 (1,03)	66,87 (0,80)	56,37 (0,46)
63	69,15 (0,55)	53,41 (0,72)	53,06 (0,71)	55,31 (0,49)
70	53,17 (0,57)	49,66 (1,02)	50,05 (0,89)	53,95 (0,36)
77	56,76 (1,32)	41,81 (1,23)	54,28 (1,30)	43,44 (0,78)
84	52,86 (0,70)	39,16 (0,24)	37,89 (0,22)	42,08 (0,46)
91	43,47 (0,66)	49,60 (1,18)	30,49 (1,44)	40,81 (0,72)
105	52,10 (0,92)	22,47 (1,02)	30,16 (0,30)	24,90 (0,34)
112	49,03 (0,42)	35,91 (0,44)	26,98 (1,01)	29,42 (1,21)
126	35,66 (0,31)	29,44 (1,19)	28,66 (1,16)	28,48 (1,02)
147	37,29 (1,14)	30,01 (0,57)	22,44 (0,72)	26,89 (0,20)

La valeur entre parenthèses est l'écart-type (n=3)

**Tableau 11:** Evolution du pH au cours du temps

Temps (jours)	Compost témoin	Compost1	Compost2	Compost3
0	4,61 (0,07)	4,43 (0,06)	4,06 (0,06)	4,55 (0,01)
7	4,83 (0,05)	5,39 (0,12)	5,77 (0,06)	5,97 (0,06)
14	6,83 (0,29)	7,00 (0,10)	6,83 (0,15)	6,97 (0,05)
21	7,69 (0,13)	7,64 (0,01)	7,39 (0,01)	7,10 (0,05)
28	7,21 (0,08)	7,52 (0,11)	7,54 (0,07)	7,12 (0,03)
35	6,94 (0,02)	5,89 (0,01)	6,07 (0,06)	5,78 (0,02)
42	6,38 (0,02)	5,96 (0,02)	6,12 (0,03)	5,78 (0,11)
49	6,52 (0,06)	5,35 (0,28)	6,17 (0,29)	4,93 (0,12)
56	6,53 (0,04)	4,17 (0,29)	6,19 (0,02)	4,99 (0,01)
63	6,56 (0,06)	4,15 (0,17)	5,55 (0,34)	5,23 (0,28)
70	6,86 (0,06)	4,07 (0,14)	4,71 (0,03)	4,87 (0,11)
77	7,16 (0,03)	4,15 (0,05)	4,77 (0,40)	3,93 (0,12)
84	6,99 (0,02)	4,47 (0,06)	4,84 (0,10)	4,51 (0,15)
91	7,03 (0,16)	6,99 (0,18)	6,12 (0,39)	6,99 (0,10)
105	7,53 (0,06)	6,92 (0,19)	7,30 (0,10)	7,08 (0,14)
112	7,92 (0,30)	7,01 (0,09)	7,50 (0,10)	7,30 (0,02)
126	8,50 (0,04)	8,24 (0,05)	8,55 (0,08)	8,52 (0,07)
147	7,48 (0,07)	7,32 (0,09)	7,13 (0,23)	7,61 (0,09)

la valeur entre parenthèses est l'écart-type (n=3)

Le pH initial qui est acide est dû au pH du substrat utilisé la bagasse (pH 3,56), puis s'ensuit une montée du pH et une rechute un mois après pour atteindre des valeurs acides dans les compost1, compost2 et compost3. La présence d'acides organiques à chaînes courtes, principalement les acides lactiques et acétiques sont la cause des chutes de pH (Sundberg *et al.*, 2004). Ce sont des produits qui résultent de l'activité des bactéries produisant de l'acide dans le milieu et qui décomposent le matériel complexe carboné (Tuomela *et al.*, 2000; Beck-Friis *et al.*, 2001; Diaz et Savage, 2007).

Dans l'andain témoin non inoculé de souches bactériennes, la valeur de pH ne varie pas trop et à part l'acidité initiale, le pH ne chute plus aux valeurs acides jusqu'à la fin de la décomposition observé dans les andains inoculés.

Nous remarquons une phase acide longue de près de deux mois dans tous les andains excepté le témoin. D'après Smårs *et al.* (2002), la durée de la phase d'acidification durant un compostage peut être réduite si la température est maintenue à une valeur en-dessous de 40°C jusqu'à ce que le pH atteigne des valeurs supérieures à 5. Ce phénomène est observé dans cette étude, car la phase acide longue n'est observée que dans les andains inoculés où les températures ont dépassé 40°C (tableau 8). Dans la littérature, il a été mentionné que certains composts (Francou, 2003) ayant des pH acides sont généralement en phase active de dégradation.

Ainsi durant tout le processus, les valeurs de pH sont plus élevées dans l'andain témoin par rapport aux autres ( $p < 0,05$ ).

### **3.2.1.2. Décomposition des matières premières durant le compostage**

Durant le compostage, l'étude des phénomènes d'humification ou de stabilisation de la matière organique s'appuie sur la théorie générale de formation des substances humiques, car le compostage est classiquement associé au processus naturel d'humification observé pour la matière organique du sol (Francou, 2003). Le degré de décomposition de la matière organique peut être un critère de maturité et une minéralisation de la matière organique est observée au cours du temps, ce qui traduit une dégradation des fractions de la matière organique par les microorganismes.

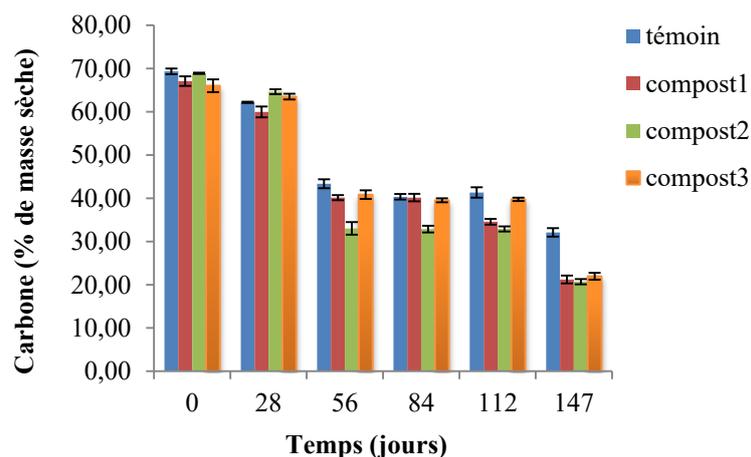
Au cours du temps, nous observons une diminution du taux de la matière organique (MO) dans les différents andains, avec une baisse progressive avec des valeurs plus élevées notées dans le compost témoin. Durant les deux premiers mois, le compost3 montre une plus grande décomposition avec une diminution du taux de MO de 16,34%, suivi du compost2 avec 8,39% de décomposition, puis du compost témoin avec 5,97% et enfin le compost1 avec 4,52% avec une différence significative entre les andains ( $p < 0,0001$ ) (**figure 24**). Entre le deuxième et le troisième mois, le compost témoin présente la plus grande décomposition de MO, probablement dû au pH alcalin et les composts des andains sont aussi significativement différents entre eux ( $p = 0,001$ ). A partir du quatrième mois, c'est-à-dire après ajout de fumier décomposé et chauffé les tendances se renversent, le compost1 donne la MO la plus faible avec 22,52%, ( $p = 0,0003$ ) significativement différent des autres composts.. L'ajout de fumier a permis l'augmentation du pH, ce qui a stimulé l'activité des souches inoculées d'où une élévation significative du taux de décomposition des compost1, compost2 et compost3 vers la fin du processus de compostage. Ainsi au cinquième mois, le compost témoin est le moins minéralisé avec une différence significative entre les 4 composts ( $p < 0,0001$ ).

La bagasse est un substrat très riche en carbone avec près de 66,39% de carbone (C) et contient des composés lignocellulosiques difficilement biodégradables, ce qui rend la biodégradation très difficile à effectuer. Ainsi, la décomposition du C débute faiblement durant le premier mois dans tous les andains et sont différents statistiquement ( $p = 0,0002$ ). Une chute considérable du taux de C est notée au deuxième mois surtout dans le compost2 ( $p < 0,0001$ ). Le même phénomène est identique durant deux mois (3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> mois) avec une décomposition très faible dans tous les andains. L'ajout de fumier a stimulé la dégradation du C mais le taux de C reste plus élevé dans l'andain témoin à la fin de la biodégradation et est différents de ceux inoculés ( $p < 0,0001$ ) (**figure 22**).

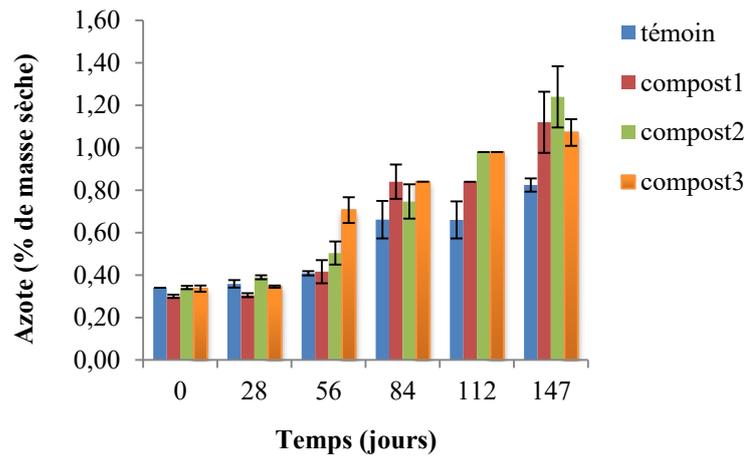
La réglementation donne une valeur minimale pour la teneur en azote dans le compost de 0,46% qui est toujours dépassée lors du procédé (Charnay, 2005). Le taux d'azote initial faible est dû à la bagasse qui en contient peu (0,34%). Ainsi au cours du processus, l'azote augmente par effet de la concentration qui se produit dans le compostage à cause d'une diminution de masse du substrat (Potgieter, 2012). Nous observons une augmentation de la teneur en N durant le premier et le deuxième mois avec une différence significative entre les andains ( $p = 0,0002$ ). Au troisième mois, l'augmentation est plus notée dans les composts inoculés et présentent une différence significative avec le témoin ( $p = 0,016$ ). Le compost

témoin a une augmentation de N mais faible par rapport aux autres, mais elle est quasiment nulle au quatrième mois ; ce qui fait que cet andain a les plus faibles valeurs de N durant tout le compostage. Le compost2 n'a pas le plus grand taux d'augmentation de N mais il est plus ou moins stable durant tout le compostage, ce qui fait qu'il présente une teneur finale en N plus élevée (**figure 23**). A la fin, l'andain témoin présente la plus faible valeur de N avec des valeurs d'azote faibles durant le compostage de la bagasse, ceci pourrait être expliqué par le fait que le compost de déchets verts est assez pauvre en N (Houot *et al.*, 2003).

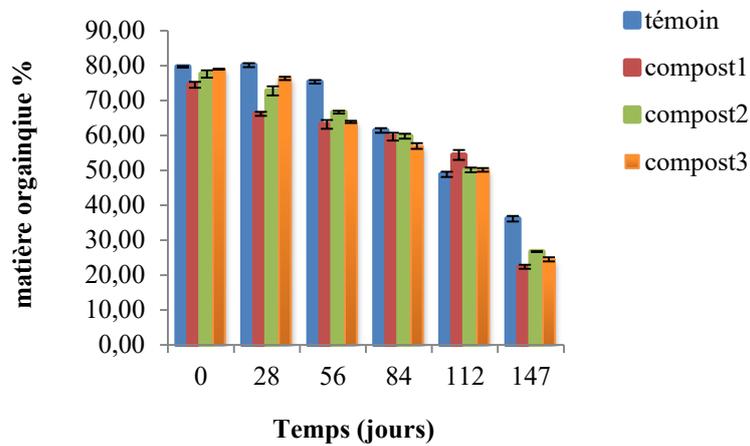
La concentration de l'azote et la minéralisation du carbone entraînent une diminution du rapport C/N au cours du compostage. L'optimum du rapport C/N rapporté est de 25-40 mais les valeurs varient en fonction du substrat (Golueke, 1991). Dans notre étude, une tendance de l'évolution du taux de carbone est observée.



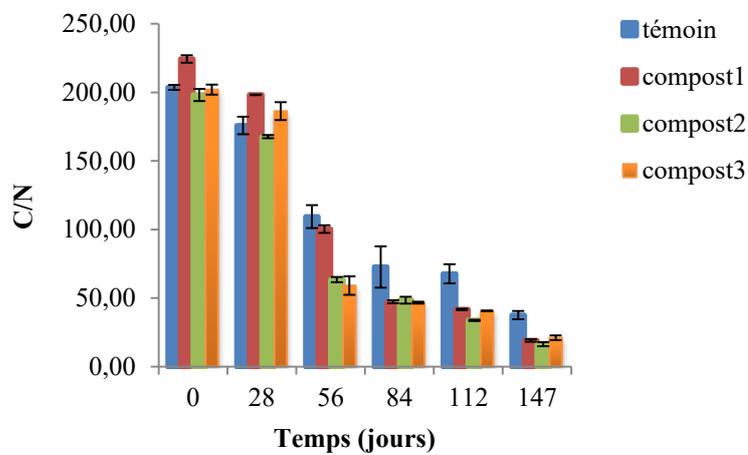
**Figure 22:** Evolution du carbone des composts



**Figure 23:** Changements de la teneur en azote durant le compostage



**Figure 24:** Taux de matière organique au cours du compostage

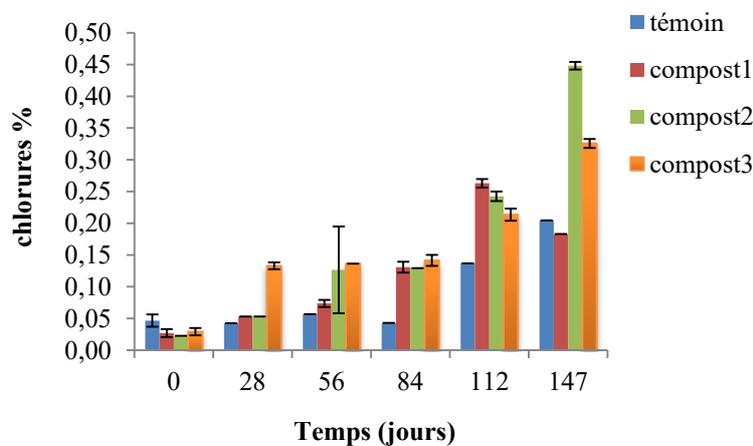


**Figure 25:** Evolution du rapport C/N

Durant les premier et deuxième mois, les valeurs du rapport C/N ont une différence significative entre les andains ( $p < 0,05$ ) mais elle est beaucoup plus faible dans les andains compost2 et compost3 (**figure 25**). A partir du 3<sup>ème</sup> mois jusqu'à la fin, le rapport C/N ne diffère pas entre les andains inoculés mais sont différents avec l'andain témoin ( $p = 0,0001$ ).

### 3.2.1.3. Concentration en NaCl des composts

Dans les critères de qualité des composts, la concentration en NaCl est prise en compte et la valeur réglementaire des chlorures est de 5,5% (Charnay, 2005). Les valeurs de la teneur en sel, bien qu'elles augmentent en fonction du temps, sont faibles allant de 0,23 g/l à 4 g/l. Les andains inoculés présentent les valeurs les plus élevées comparées à celles du compost témoin au cours du compostage (**figure 26**), les différences entre les andains sont remarquées à partir du 3<sup>ème</sup> mois ( $p < 0,0001$ ).



**Figure 26:** Evolution de la concentration en NaCl au cours du compostage

Une augmentation considérable est notée au 112<sup>ème</sup> jour de prélèvement, ceci ne peut être expliqué que par l'ajout de fumier aux composts car l'eau d'arrosage de la station a une teneur en chlorures de 0,155 g/l, ce qui est relativement faible. Dans tous les cas, les valeurs de conductivité augmentant durant le compostage, ce qui serait due, d'une part à l'effet de la concentration du sel comme la conséquence de la dégradation de la matière organique (Negro *et al.*, 1999 ; Francou, 2003). Ainsi, cette augmentation est aussi due à une minéralisation de la matière organique.

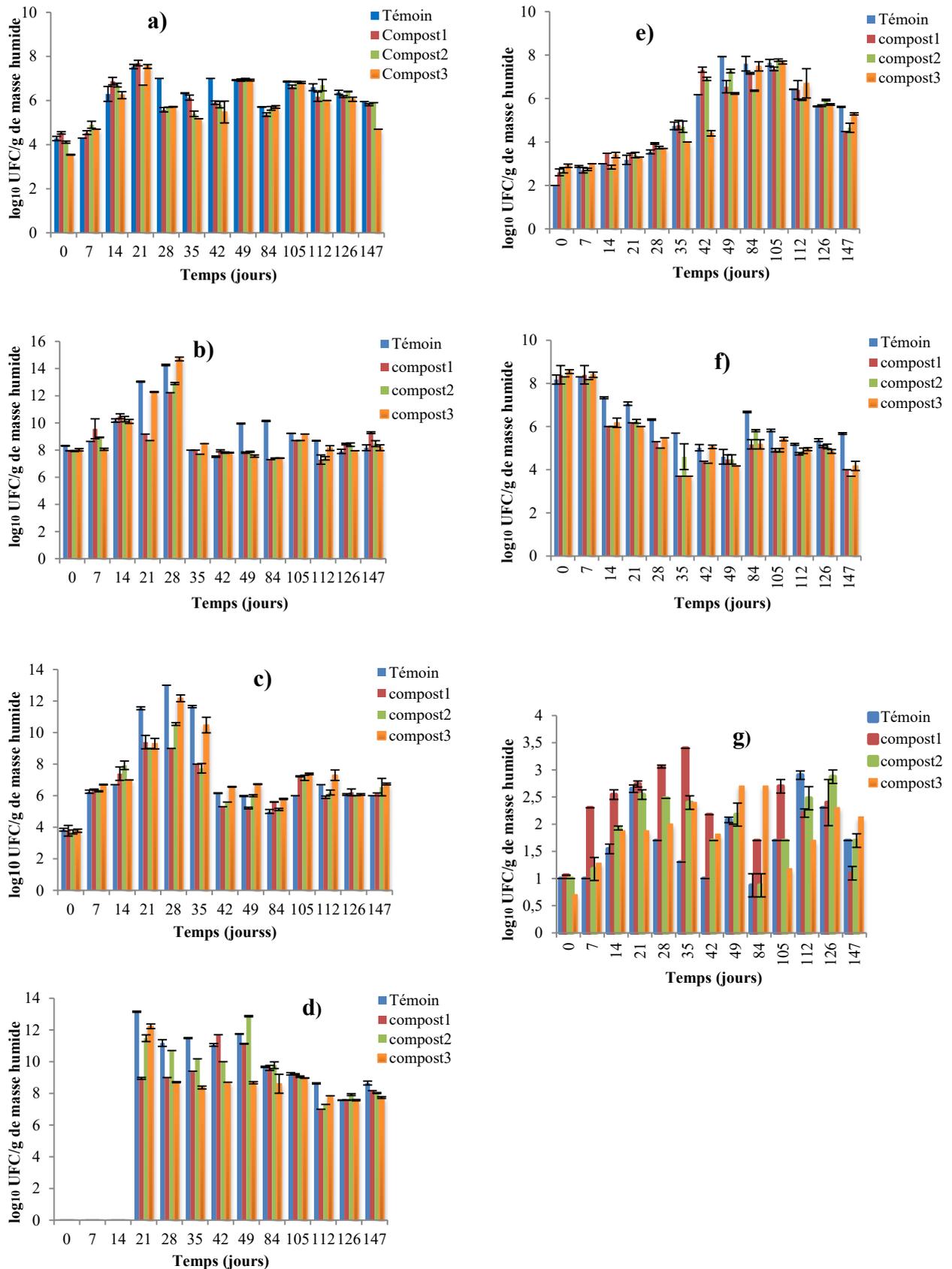
### 3.2.2. Activités biologiques

#### 3.2.2.1. Evolution des communautés microbiennes durant le compostage

Le suivi de l'évolution microbienne durant le compostage est très complexe et très important afin de comprendre les phénomènes qui ont lieu durant le processus de biodégradation. En effet, l'activité microbienne est le facteur majeur pour une production et une utilisation du compost, car les microorganismes jouent un rôle clé et la présence de certaines espèces peut refléter la qualité d'un compost mature (Ryckeboer *et al.*, 2003a ; Insam et de Bertoldi, 2007 ; Mehta *et al.*, 2014).

L'énumération et l'isolement des microorganismes du compost obtenu à la fin du processus ont pour la plupart été réalisés sur des milieux complexes et spécifiques aux types de microorganismes recherchés (Finstein et Morris, 1975 ; Nakasaki *et al.*, 1985 ; Strom, 1985 ; Beffa *et al.*, 1996c ; Hassen *et al.*, 2001 ; Ryckeboer *et al.*, 2003a ; Goyal *et al.*, 2005 ; Jouraiphy, 2005 ; Jurado *et al.*, 2014 ; Awopetu *et al.*, 2015 ; Jurado *et al.*, 2015). Ces dernières années, d'autres alternatives basées sur les techniques moléculaires sont de plus en plus adoptées (Beffa *et al.*, 1996b ; Beffa *et al.*, 1996c ; Dougherty *et al.*, 2012 ; Yeh *et al.*, 2013).

La flore fongique mésophile a été évaluée durant le compostage avec une population initiale faible de l'ordre de  $10^4$  UFC/g suivie d'une rapide croissance en un mois de compostage où des nombres de population élevés de l'ordre de  $10^{12}$ - $10^{13}$  UFC/g sont notés dans les andains des compost témoin et compost3, le compost1 a la plus faible population ( $p < 0,0001$ ). Une chute considérable s'ensuit mais dans la même lancée c'est-à-dire que les compost témoin et compost3 donnent toujours les plus grandes valeurs avec ( $p < 0,0001$ ) au 2<sup>ème</sup> mois. L'augmentation de la température qui affecte les champignons peut en être la cause (Finstein et Morris, 1975 ; de Bertoldi *et al.*, 1983 ; Tuomela *et al.*, 2000 ; Insam et de Bertoldi, 2007 ; Mehta *et al.*, 2014), bien qu'ils se développent mieux sur un milieu acide contrairement aux bactéries (Ryckeboer *et al.*, 2003b ; Diaz et Savage, 2007). Lorsque le pH qui était acide commence à redevenir alcalin à partir du 3<sup>ème</sup> mois, le nombre de champignons augmente légèrement d'une unité log avec toujours le compost témoin et le compost3 qui prédominent ( $p = 0,0001$ ). Cette légère hausse peut être expliquée par les champignons mésophiles qui recolonisent le substrat, par la chute de température, de la faible teneur en eau, et de leur capacité à dégrader les composés complexes restants (Insam et de Bertoldi, 2007) (**figure 27**).



**Figure 27:** Evolution du dénombrement microbien dans les différents andains: (a) bactéries sporulées ; (b) bactéries ; (c) flore fongique; (d) Actinomycètes; (e) coliformes fécaux ; (f) streptocoques fécaux ; (g) *Clostridium*. Les barres verticales représentent l'écart-type (n=3).

Durant le compostage, la flore bactérienne mésophile présente la même dynamique que la flore fongique, c'est-à-dire qu'une activité bactérienne est observée durant le premier mois avec un pH qui tend vers l'alcalinité. Beaucoup d'études ont montré que les bactéries interviennent en premier pour dégrader les composés les plus facilement assimilables (Strom, 1985 ; Insam et de Bertoldi, 2007 ; Mehta *et al.*, 2014). Les andains témoin et compost3 donnent les plus grandes valeurs de population bactérienne et les compost1 et compost2 ont la plus faible valeur après un mois de compostage ( $p < 0,0001$ ). Les bactéries mésophiles diminuent correspondant à une augmentation de la température et à une phase acide, elles recolonisent le milieu trois mois après. Durant la période de décroissance, le compost témoin a donné les plus grandes valeurs de population, ceci est dû probablement, au fait que la température n'a pas atteint une valeur élevée dans cet andain c'est-à-dire elle a toujours été mésophile ( $< 40^{\circ}\text{C}$ ) et aussi qu'il n'y a pas eu de phase acide qui sont des facteurs qui déterminent la présence ou non des bactéries.

A cause, de l'acidité, les sporulées n'ont pas montré de grandes variations de population durant tout le compostage. Au début de la biodégradation, le nombre de bactéries sporulées augmente de deux unités log pour redescendre au bout de 21 jours c'est-à-dire lorsque les conditions redeviennent favorables à une germination des spores ; pour augmenter à nouveau lorsque la température augmente et que le pH baisse. Nous remarquons que la sporulation qui se passe dans le compost témoin est plus élevée comparée aux autres composts pendant la phase de décroissance des spores alors que les conditions de pH et de température de cet andain sont favorables. Il se pourrait qu'il y ait un phénomène de compétition de nutriments disponibles pour les bactéries, ou encore que ces sporulées ne soient pas capables d'utiliser le substrat lignocellulosique difficilement dégradable (Himmel *et al.*, 2007). Durant tout le compostage, les composteurs sont différents significativement chaque mois ( $p < 0,05$ ). A la fin du compostage, la faible diminution des spores dans les andains peut être expliquée par une baisse de l'humidité.

Un groupe très important durant le compostage est le groupe des actinomycètes (Goodfellow et Williams, 1983; Epstein, 1997 ; Albrecht, 2007 ; Mehta *et al.*, 2014). Ce sont d'importants agents de dégradation de la lignocellulose, bien que leur capacité de dégradation ne soit pas aussi étendue que celle des champignons (Tuomela, 2000 ; Kirby, 2006). A cause d'une croissance lente comparée aux bactéries et champignons, les actinomycètes ne participent pas au phénomène de compétition quand les nutriments les plus facilement dégradables sont disponibles (Tuomela, 2000 ; Insam et de Bertoldi, 2007 ; Mehta *et al.*, 2014). A l'étape

initiale, aucune activité d'actinomycètes n'a été détectée expérimentalement, mais 21 jours après une population de l'ordre de  $10^{13}$  UFC/g est notée dans l'andain témoin, suivi du compost3 avec  $1,50.10^{12}$  UFC/g puis du compost2 avec  $3,00.10^{11}$  UFC/g et du compost1 avec une plus faible population de l'ordre de  $9,59.10^8$  UFC/g ( $p < 0,0001$ ). Ce non détection peut être due aux erreurs de manipulation car il faut rappeler que les actinomycètes sont des bactéries de l'environnement principalement telluriques. C'est pendant la phase thermophile que le plus grand nombre d'actinomycètes est enregistré et une valeur plus élevée dans l'andain témoin ( $p < 0,0001$ ). Beaucoup d'études confirment que les actinomycètes apparaissent en plus grand nombre pendant la phase thermophile et la phase de maturation pour dégrader activement la cellulose et l'hémicellulose restantes (Finstein et Morris, 1975 ; Ryckeboer *et al.*, 2003a ; Ryckeboer *et al.*, 2003b ; Mehta *et al.*, 2014 ; Awopetu *et al.*, 2015). A partir du 4<sup>ème</sup> mois jusqu'à la fin, le nombre de la population est plus élevé dans les composts témoin et compost3, et les compost1 et compost2 plus faibles ( $p < 0,0001$ ).

Bien qu'ils représentent une fraction numérique insignifiante sur la flore totale, les pathogènes de la famille des Entérobactéries telles les coliformes et les *Salmonelles* peuvent être retrouvées durant le compostage (de Bertoldi *et al.*, 1983). Ce sont des bactéries qui sont des marqueurs de qualité hygiénique générale de l'environnement, du sol et des aliments. Le nombre initial de la population des coliformes fécaux est faible et est de l'ordre de  $10^2$  UFC/g dans tous les andains avec une faible quantité de coliformes dans le substrat brut la bagasse. Les coliformes augmentent durant le compostage pour atteindre des valeurs maximales dans le compost témoin au bout de 49 jours, suivi du compost2, puis du compost1 ( $p = 0,0002$ ). Le compost3 donne les plus faibles valeurs à cette étape bien que les variations de nombre entre les andains soient faibles. A la fin du compostage, bien que le nombre diminue, le compost témoin et le compost3 ont une population plus élevée ( $10^4$  UFC/g), le compost1 donne toujours la plus faible valeur ( $p = 0,002$ ). Cette augmentation de la population de coliformes est attribuée par certains auteurs comme une contamination ou redistribution des composts par le matériel utilisé lors des retournements des andains ou de l'eau d'arrosage (Hassen *et al.*, 2001 ; Diaz *et al.*, 2007). En effet, l'eau d'arrosage utilisée dans la station a une concentration en coliformes fécaux de l'ordre de  $10^2$  UFC/ml or la bagasse est arrosée tous les deux jours ; ceci peut expliquer la recrudescence des coliformes (**figure 27**).

Les *Salmonella* sont des bactéries dangereuses, responsables d'un grand nombre de troubles d'origine alimentaire (Guiraud, 1998). Leur présence est considérée comme un problème majeur et spécifique à la qualité hygiénique du compost (Hassen *et al.*, 2001). Dans cette

étude, leur détermination est quantitative c'est-à-dire la présence ou l'absence de salmonelles est déterminée. Ainsi, tout au cours du processus de compostage, *Salmonella* n'a en aucun moment été détectée.

Les Streptocoques sont des germes de contamination fécale et le nombre initial de Streptocoques fécaux est de l'ordre de  $10^8$  UFC/g. Ce grand nombre est dû à l'eau d'arrosage utilisée qui contient  $10^8$  UFC/ml en streptocoques fécaux même si la bagasse brute en contient faiblement (200 UFC/g). Au cours du temps, nous observons une chute du nombre de la population, mais le compost témoin prédomine en donnant les valeurs les plus élevées durant tout le compostage. Après la phase thermophile, nous observons dans tous les andains une légère croissance des streptocoques fécaux de l'ordre de 2 unités log qui pourrait être due à la baisse de température. A la fin du compostage, il n'y a pas de différence significative du nombre des Streptocoques entre les différents andains inoculés.

Les bactéries anaérobies du genre *Clostridium* sont telluriques communément rencontrées dans le sol, les eaux d'égout et l'intestin (Guiraud, 1998 ; Franke-Whittle, 2014). Tout au long du compostage il n'y a pas eu de variation significative de la population entre les différents andains même avec les conditions qui variaient (pH, température). D'après Guiraud (1998), le genre *Clostridium* peut supporter des variations assez importantes de pH et de température. Le compost1 présente le plus grand nombre de *Clostridium* au début, puis chute lorsque la température s'élève. A la fin de la biodégradation, le nombre le plus faible avec près de 15 UFC/g de *Clostridium* est retrouvé dans le compost1 et le plus élevé dans le compost3 (126 UFC/g). Le compost témoin (85 UFC/g) et le compost2 (53 UFC/g) ont les plus faibles nombres de population de *Clostridium*. La population de *Clostridium* durant tout le compostage peut être due aux valeurs pas très élevées de température car pour éliminer *Clostridium* surtout *C. perfringens* (bactérie pathogène) qui peut croître jusqu'à 50°C, il faut une température entre 60 et 70°C pendant près d'un mois de compostage pour pouvoir les éliminer significativement (Jouraiphy *et al.*, 2005).

**Tableau 12:** Nombre microbien des différents composts durant le compostage

<b>log<sub>10</sub> UFC/g de masse humide</b>	<b>compost témoin</b>	<b>compost1</b>	<b>compost2</b>	<b>compost3</b>
Flore fongique	103,380 <sup>a</sup>	91,137 <sup>b</sup>	92,663 <sup>b</sup>	101,880 <sup>a</sup>
Bactéries	133,957 <sup>a</sup>	121,237 <sup>c</sup>	120,763 <sup>c</sup>	125,803 <sup>b</sup>
Bactéries sporulées	88,343 <sup>a</sup>	84,653 <sup>b</sup>	84,707 <sup>b</sup>	85,293 <sup>b</sup>
Actinomycètes	113,027 <sup>a</sup>	103,477 <sup>c</sup>	109,533 <sup>b</sup>	97,063 <sup>d</sup>
Coliformes fécaux	74,350 <sup>a</sup>	71,953 <sup>b</sup>	71,850 <sup>b</sup>	73,633 <sup>a</sup>
Streptocoques fécaux	86,797 <sup>a</sup>	74,643 <sup>c</sup>	76,103 <sup>bc</sup>	76,967 <sup>b</sup>
<i>Clostridium</i>	24,920 <sup>c</sup>	32,217 <sup>a</sup>	28,250 <sup>b</sup>	28,900 <sup>b</sup>

Les différentes lettres (a, b, c, d) représentent les différences significatives entre les composts sur la même ligne.

**Tableau 13:** Qualité microbiologique des composts finaux

	<b>compost témoin</b>	<b>compost1</b>	<b>compost2</b>	<b>compost3</b>	<b>Normes</b>
<b>Bactéries sporulées (UFC/g)</b>	9,0×10 <sup>5</sup>	6,5×10 <sup>5</sup>	8,0×10 <sup>5</sup>	5,0×10 <sup>4</sup>	
<b>Flore fongique (CFU/g)</b>	1,40×10 <sup>6</sup>	1,22×10 <sup>6</sup>	2,17×10 <sup>6</sup>	5,74×10 <sup>6</sup>	
<b>Bactéries (UFC/g)</b>	1,8×10 <sup>8</sup>	1,85×10 <sup>9</sup>	1,35×10 <sup>8</sup>	2,15×10 <sup>8</sup>	
<b>Actinomycètes (UFC/g)</b>	4,03×10 <sup>8</sup>	1,5×10 <sup>8</sup>	1,04×10 <sup>8</sup>	5,37×10 <sup>8</sup>	
<b>Coliformes fécaux (UFC/g)</b>	4,05×10 <sup>5</sup>	3.0×10 <sup>4</sup>	3,14×10 <sup>4</sup>	3,43×10 <sup>6</sup>	
<b>Streptocoques fécaux (UFC/g)</b>	4,58×10 <sup>5</sup>	1,65×10 <sup>4</sup>	8,52×10 <sup>3</sup>	1,52×10 <sup>4</sup>	
<b><i>Clostridium</i> (UFC/g)</b>	85	15	53	126	
<b><i>Salmonella</i> (25g)</b>	absence	absence	absence	absence	
<b>Staphylocoques (UFC/g)</b>	0	0	0	0	
<b><i>E.coli</i> (UFC/g)</b>	0	0	0	0	
<b><i>B. cereus</i> (UFC/g)</b>	0	0	0	0	
<b><i>Listeria</i> (25g)</b>	absence	absence	absence	absence	
<b><i>Vibrio</i> (UFC/g)</b>	0	0	0	0	

### 3.2.2.2. Activités enzymatiques durant le compostage

Durant le processus de compostage, la matière première (substrat) est transformée à travers une variété de transformations biologiques et biochimiques dans lesquelles les enzymes y jouent un rôle (Tiquia, 2002a). Les enzymes microbiennes sont responsables de la dégradation de beaucoup de composés organiques caractérisés par une structure complexe (Goyal *et al.*, 2005 ; Albrecht, 2007 ; Zeng *et al.*, 2010). Les enzymes peuvent être présentes dans le compost en tant que des molécules intra ou extracellulaires solubles (Alef et Nanniperi, 1995 ; Albrecht, 2007). Ainsi, le suivi de la présence et des activités des enzymes peut permettre une meilleure compréhension du processus qui a lieu lors de la dégradation des matières organiques. Dans ces travaux, trois types d'enzymes ont été étudiées : cellulases, xylanases, phosphatases. L'étude des cellulases et xylanases est importante du fait que la bagasse utilisée contient des parts importantes en cellulose et en hémicellulose. Les phosphatases catalysent la minéralisation du phosphore minéral ou orthophosphate qui est le seul phosphore qui est assimilable par les microorganismes (Albrecht, 2007). Les activités enzymatiques cellulases, glucosidases et xylanases sont consignées dans le **tableau 14**.

#### a) Activités endo-glucanases et $\beta$ -glucosidases

Les activités endo-glucanases des différents andains présentent la même dynamique au cours du compostage. Les activités sont très faibles durant les deux premiers mois de la biodégradation à cause des composés lignocellulosiques difficilement dégradables contenus dans le substrat et des conditions de pH du milieu pas très favorables aux bactéries. Le type de substrat ainsi que sa concentration, le pH, la température et la teneur en eau sont des facteurs qui affectent significativement la dégradation de la cellulose (Alef et Nanniperi, 1995). Bien que les valeurs soient faibles, le compost3 et le compost1 ont des valeurs plus élevées et égales statistiquement et celles des compost2 et témoin sont plus faibles ( $p < 0.05$ ). D'après Dix et Webster (1995), un niveau bas en azote devient un facteur limitant à la dégradation de la cellulose. Un taux modérément élevé en N est nécessaire à la croissance fongique bien que certains champignons peuvent croître dans des milieux pauvres en N (Tuomela *et al.*, 2000). A partir du 3<sup>ème</sup> mois, les composteurs inoculés ont une activité qui augmentent légèrement excepté dans l'andain témoin ( $p < 0,0001$ ). Tous les andains atteignent le pic au 112<sup>ème</sup> jour pour baisser à nouveau au 147<sup>ème</sup> jour, avec une plus grande activité enregistrée dans le compost3 avec 3,14 U.g<sup>-1</sup> MS ( $p < 0,0001$ ). L'activité du compost2 a dépassé au 112<sup>ème</sup> jour le

compost1 en atteignant 2,57 U.g<sup>-1</sup> MS. Le compost1 a une activité de 2,15 U.g<sup>-1</sup> MS et le compost témoin le plus faible a une activité de 1,77 U.g<sup>-1</sup> MS. Le pic observé au 112<sup>ème</sup> jour est probablement dû à l'ajout de fumier décomposé et chauffé qui devient source de nutriments des microorganismes. Une plus grande source d'azote améliore la biomasse microbienne et stimule la sécrétion d'endo-cellulases, ce qui augmente les activités CMCases pouvant entraîner une diminution du rapport C/N (Zeng *et al.*, 2010).

Les  $\beta$ -glucosidases sont des enzymes facteur limitant la vitesse de dégradation microbienne de la cellulose en glucose (Alef et Nanniperi, 1995) et sont impliquées dans l'hydrolyse du cellobiose. Les activités  $\beta$ -glucosidases présente la même dynamique que les activités cellulases. De faibles activités initiales  $\beta$ -glucosidases sont enregistrées et cela pendant plus de trois mois de compostage dans les andains. Après ajout de fumier, les activités augmentent pour atteindre un pic au 112<sup>ème</sup> jour. Les maximales sont notées dans le compost3 avec 15,94 U.g<sup>-1</sup> MS, suivi du compost2 (9,63 U.g<sup>-1</sup> MS) égal au compost1 avec 9,17 U.g<sup>-1</sup> MS ( $p < 0,0001$ ). Le compost témoin a les plus faibles activités  $\beta$ -glucosidases (3,67 U.g<sup>-1</sup> MS). Après ce pic, les activités diminuent au 147<sup>ème</sup> jour. Pour une conversion efficace de la cellulose en glucose, il est important d'avoir de grandes concentrations en  $\beta$ -glucosidases et endoglucanases. Etant donné que les celliobioses inhibent les exo et endo-glucanases, il est nécessaire d'obtenir des niveaux élevés en  $\beta$ -glucosidases pour obtenir du glucose comme produit majeur de l'hydrolyse (Shewale, 1982) d'où les grandes activités de  $\beta$ -glucosidases obtenues. Les activités élevées observées au 112<sup>ème</sup> jour peuvent être corrélées par la présence de la flore fongique et d'actinomycètes présents en nombre et en diversité pendant cette phase (Tiquia *et al.*, 2002b) car d'après Hayes (1986), les champignons sont les premiers sécréteurs de  $\beta$ -glucosidases.

## **b) Activités xylanases**

Les mêmes tendances que dans les activités cellulases sont remarquées dans les activités xylanases c'est-à-dire des faibles activités dans tous les andains au début puis une augmentation avec un pic au 112<sup>ème</sup> jour avec une différence entre les composteurs ( $p < 0,0001$ ). Les faibles valeurs d'activités cellulases et xylanases obtenues dans les différents andains au début de compostage peuvent être expliquées par la présence de substrats

facilement décomposables qui conduisent à la suppression de la décomposition des composés riches en xylane et en cellulose (Schinner et von Mersi, 1990).

Au 4<sup>ème</sup> mois, Les deux andains inoculés (compost1 et compost2) ont des valeurs d'activités égales statistiquement et sont les plus élevées avec 12,18 U.g<sup>-1</sup> MS pour le compost1 et 11,46 U.g<sup>-1</sup> MS pour le compost2. Le compost3 a des activités de 7,24 U.g<sup>-1</sup> MS et le compost témoin a les plus faibles activités xylanases de 1,29 U.g<sup>-1</sup> MS . Les activités xylanases sont beaucoup plus actives que les cellulases (Schinner et von Mersi, 1990) car le substrat la bagasse est un bon inducteur de la production d'enzymes xylanolitiques mais pas pour les enzymes cellulolitiques (Pandey *et al.*, 2000).

**Tableau 14:** Evolution des activités cellulase,  $\beta$ -glucosidase et xylanase des différents composts

Temps (jours)	Cellulase (U.g <sup>-1</sup> MS)						$\beta$ -glucosidase (U.g <sup>-1</sup> MS)						Xylanase (U.g <sup>-1</sup> MS)					
	0	28	56	84	112	147	0	28	56	84	112	147	0	28	56	84	112	147
<b>Compost témoin</b>	0,08	0,07	0,15	0,12	1,77	0,47	0,18	0,51	0,84	0,60	3,66	0,37	0,21	0,26	0,12	0,2	1,29	0,46
<b>Compost1</b>	0,11	0,09	0,25	0,51	2,15	0,37	0,08	0,21	0,82	0,94	9,17	3,86	0,10	0,15	0,30	0,61	12,18	1,01
<b>Compost2</b>	0,13	0,14	0,16	0,43	2,57	0,60	0,06	0,22	0,92	0,83	10,63	0,80	0,30	0,14	0,24	0,52	11,46	0,81
<b>Compost3</b>	0,09	0,15	0,28	0,58	3,14	0,68	0,02	0,03	0,10	0,10	15,94	0,66	0,17	0,22	0,42	0,39	7,24	1,33

### c) Activités phosphatases

Ce sont les activités phosphomonoestérases qui sont déterminées dans cette étude et parmi elles, il y a les phosphatases acides et alcalines. Elles catalysent l'hydrolyse du phosphore organique en phosphore minéral qui est assimilable par les plantes.

Au début du compostage, les phosphatases acides augmentent dans les différents composteurs avec des valeurs différentes significativement ( $p < 0,0001$ ) dans le compost2 (69,47 mU.g<sup>-1</sup>

MS) et le compost1 (65,86 mU.g<sup>-1</sup> MS) durant le premier mois. Au 2<sup>ème</sup> mois, les valeurs des différents composts augmentent et atteignent le pic (**Tableau 15**). Ces activités peuvent être corrélées à la teneur élevée en matière organique (Alef et Nanniperi, 1995 ; Albrecht *et al.*, 2010). Ensuite, une diminution est observée et ce jusqu'à la fin du processus. Cette différence entre le témoin et les andains inoculés peut être due aux activités des souches inoculées. Il a été montré dans le chapitre 2 que la souche *B. sp.* CMAGI2 était capable de solubiliser le phosphate d'où la valeur la plus élevée observée dans le compost2. Par contre, l'activité phosphatase du compost1 supérieure à celle du compost3 ne suit pas la logique car *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> n'est pas capable de solubiliser le phosphate. La variation des quantités de phosphatases notées au cours du temps sont influencées par le pH du compost car les phosphatases acides sont prédominantes dans les sols acides (Eivazi et Tabatabai, 1977).

**Tableau 15:** Evolution des activités phosphatases acides et alcalines des différents composts

Temps (jours)	Phosphatase acide (mU.g <sup>-1</sup> MS)						Phosphatase alcaline (mU.g <sup>-1</sup> MS)					
	0	28	56	84	112	147	0	28	56	84	112	147
Compost témoin	20.96	33.11	49.23	45.88	42.14	47.31	0.02	3.94	0.44	0.59	1.89	1.01
Compost1	29.18	65.87	72.83	47.27	21.15	5.20	0.06	1.95	0.38	1.60	1.26	1.02
Compost2	26.72	69.47	45.93	24.47	13.35	27.07	0.029	3.22	2.41	3.07	1.63	1.34
Compost3	26.53	53.10	72.62	35.31	33.72	23.48	0.065	2.48	2.47	1.92	1.93	1.11

Les mêmes tendances sont observées dans les différents andains avec une forte activité de phosphatases alcalines durant le premier mois, corrélées aux taux élevés de MO et à une élévation du pH dans tous les andains (Albrecht *et al.*, 2010) (**Tableau 15**). Au 28<sup>ème</sup> jour, le compost témoin a une plus grande activité avec 3,9 mU.g<sup>-1</sup> MS, puis le compost2 avec 3,22 mU.g<sup>-1</sup> MS, et du compost3 (2,48 mU.g<sup>-1</sup> MS). Le compost1 a une activité de 1,95 mU.g<sup>-1</sup> MS la plus faible ( $p < 0,0001$ ). Par la suite, les activités baissent dans tous les andains puis augmentent à nouveau et cela jusqu'à la fin. Tous ces changements sont liés au pH car d'après

Alef et Nanniperi (1995), les activités phosphatases alcalines sont aussi prédominantes dans les sols alcalins.

### 3.2.3. Qualité agronomique des composts

Il n'est pas évident d'estimer la qualité d'un compost car la stabilité et la maturité qui sont prises en compte, correspondent aux taux de décomposition et de transformation de la MO et sont liés à des paramètres différents (Charnay, 2005 ; Albrecht, 2007).

Selon Houot *et al.* (2003), la qualité du compost dépend du degré de stabilisation de la MO donc la stabilité est estimée par la biodégradabilité des MO et par leur humification (Albrecht, 2007). Ainsi, elle est fortement liée au taux des activités microbiennes dans le compost (Bernal *et al.*, 1998 ; Zmora-Nahum *et al.*, 2005). Quant à la maturité, elle est estimée par les effets du compost sur les végétaux ou la phytotoxicité (Bernal *et al.*, 1998 ; Zmora-Nahum *et al.*, 2005) c'est-à-dire le stade à partir duquel le compost n'a pas d'effet négatif sur les végétaux (Charnay, 2005).

Le rapport C/N est un paramètre souvent utilisé pour établir la stabilité d'un compost (Jimenez et Garcia, 1991) mais il ne peut être considéré comme indice absolu de la maturité du compost puisqu'il varie selon la nature du substrat utilisé (Golueke, 1991 ; Jimenez et Garcia, 1991). Les rapports C/N finaux des composts obtenus varient entre 37,56 et 16,41, différents significativement ( $p < 0,0001$ ) entre le compost témoin et ceux inoculés ; bien que le rapport C/N final pour un compost mature se situe entre 10 et 15 (FAO, 2005 ; Albrecht, 2007). D'après Francou (2003), des rapports C/N compris entre 8 et 25 ont été retrouvés dans des composts (Jimenez et Garcia, 1991 ; Kapetanios *et al.*, 1993 ; Fang *et al.*, 1999). Ainsi, le compost témoin est le moins mature si nous nous référons aux valeurs de C/N comme indices de stabilité.

La MO est aussi un critère de maturité par sa stabilité atteinte à la fin du processus et aussi par sa diminution qui peut atteindre 20 à 60% de la matière organique initiale (Francou, 2003). Il n'y a pas de valeur universelle exacte définie de MO pour définir la stabilité d'un compost mais une valeur minimale de MO de 17% est établie selon Charnay (2005). Par contre, la norme NF U 44-095 préconise une MO  $\geq 30\%$  sur MS avec des écarts de 10 à 25% or les composts finaux obtenus dans cette étude ont des valeurs sur MS  $< 30\%$  excepté le compost témoin. La MO ne peut être considérée comme seul indice de maturité, étant donné que ce

sont les échantillons du 112<sup>ème</sup> jour qui ont des valeurs de MO correspondant à la norme ; or ces échantillons n'ont pas un rapport C/N correspondant à un compost stable.

Le pH considéré aussi comme indice de stabilité des composts est souvent pris en compte (Jimenez et Garcia, 1991 ; Francou, 2003 ; Albrecht, 2007). Il augmente en fonction du temps de compostage et se stabilise à des valeurs proches de la neutralité (6-9) comme le montrent les composts obtenus. Cependant, le pH n'est pas un indicateur fiable car une valeur de pH neutre ne signifie pas que le compost est mature.

Beaucoup d'auteurs ont utilisé les dynamiques des activités enzymatiques comme indices de stabilité et de maturité (Tiquia, 2002a ; Tiquia *et al.*, 2002b ; Goyal *et al.*, 2005) car ils permettraient d'avoir des informations sur les transformations biochimiques et les dynamiques microbiennes des composts. La diversité des substrats organiques utilisés, le procédé employé et l'inoculation bactérienne rendent difficile l'établissement de valeurs seuils d'activités enzymatiques comme indices de qualité, ce qui est en accord avec Mondini *et al.* (2004) cité par Albrecht (2007). Un suivi hebdomadaire régulier serait probablement meilleur comparé au suivi mensuel effectué lors des activités enzymatiques dans cette étude.

**Tableau 16:** Qualité agronomique des composts finaux

<b>Paramètres</b>	<b>Compost témoin</b>	<b>Compost1</b>	<b>Compost2</b>	<b>Compost3</b>
<b>Rapport C/N</b>	37,56 (3,03)	19,12(0,92)	16,41 (1,49)	21,05 (1,74)
<b>pH</b>	7,48 (0,07)	7,32 (0,09)	7,13 (0,23)	7,61 (0,09)
<b>Azote total %</b>	0,82 (0,03)	1,12 (0,00)	1,24 (0,14)	1,09 (0,09)
<b>Na %</b>	0,22 (0,01)	0,14 (0,01)	0,24 (0,01)	0,20 (0,00)
<b>Mg %</b>	0,35 (0,00)	0,27 (0,00)	0,30(0,01)	0,40 (0,00)
<b>K %</b>	0,68 (0,00)	0,62 (0,01)	0,70 (0,02)	0,80 (0,01)
<b>Ca %</b>	1,19 (0,02)	0,74 (0,02)	0,93 (0,02)	1,16 (0,00)
<b>P total (ppm)</b>	551 (0,00)	240,34 (0,00)	251,27 (0,00)	419,86 (0,00)
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,01 (0,00)	0,02 (0,00)	0,03 (0,00)	0,005 (0,01)
<b>MO</b>	36,17 (0,80)	22,38 (0,58)	26,72 (0,12)	24,51 (0,59)
<b>MO/N</b>	44,11	19,98	21,54	22,48

*Les valeurs entre parenthèses sont les écart-type (n=3)*

Des analyses microbiologiques ont été effectuées sur les quatre composts finaux car des valeurs limites en microorganismes d'intérêt sanitaire ont été établies par la norme NF U 44-095. La norme fixe des valeurs différentes selon la destination du produit c'est-à-dire culture maraichère ou autre.

D'après les analyses microbiologiques des quatre composts, ils sont de qualité microbiologique acceptable car toutes les valeurs sont dans la limite de la norme NF U 44-095. La norme des tests de *Clostridium perfringens* du compost<sup>3</sup> a une valeur de 135 UFC/g MH qui est toujours acceptable bien que la norme fixe une valeur en *Clostridium perfringens* de 10<sup>2</sup> UFC/g de MH.

### 3.3. Discussion

L'utilisation de souches microbiennes durant un compostage a fait l'objet de nombreuses études mais est sujet à de nombreux débats où certains considèrent l'addition de microorganismes comme ayant un effet positif à la biodégradation, pendant que d'autres réfutent cette thèse. Cette polémique autour des inoculations microbiennes lors d'un compostage n'est pas étonnant lorsque nous considérons la complexité des événements physiques, chimiques et biologiques qui ont lieu lors de la biodégradation.

Beaucoup de travaux ont utilisés les résidus de canne à sucre (bagasse, écumes, vinasses...) comme substrat lors des compostages (Meunchang *et al.*, 2005 ; Silva *et al.*, 2009 ; de Figueirêdo *et al.*, 2013) ; d'autres ont eu en plus des effets suppressifs sur les pathogènes tels *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* et *Fusarium solani* (Toribio, 1989 ; Théodore et Toribio, 1995 ; Ezelin De Souza, 1998) dans la lutte biologique.

Dans ce chapitre, le compostage à base de bagasse de canne à sucre a été effectué par inoculation de souches de *Bacillus*. Il a été suivi pendant cinq mois et les paramètres physico-chimiques et microbiologiques ont été déterminés dans le temps. Il était question tout d'abord d'observer le comportement des souches bactériennes lors de la biodégradation de la bagasse, en tant que substrat difficilement décomposable et aussi leurs effets sur les paramètres physico-chimiques et biologiques au cours du compostage.

Les paramètres physico-chimiques de quatre types de composts au cours du processus ont eu les mêmes dynamiques c'est-à-dire que les diminutions, les augmentations ou encore la

stabilité se sont passées au même moment dans les différents compostages. Il serait intéressant de faire remarquer qu'un processus de compostage a des normes qui sont définies et qui devraient être atteintes pour qualifier le compost produit de mature et de bonne qualité. L'évolution de la température durant le compostage est un indicateur significatif de l'activité microbienne et détermine la présence d'une population donnée par rapport à une autre (Ryckeboer *et al.*, 2003a). De ce fait ce paramètre peut être considéré comme un bon indicateur de la fin de la phase bio-oxydante (Finstein et Morris, 1975 ; de Bertoldi *et al.*, 1983 ; Jimenez et Garcia, 1991).

L'eau est essentielle à la décomposition et le stress hydrique peut devenir un facteur limitant de l'activité microbienne (Richard *et al.*, 2002) d'où un suivi de l'humidité du compostage est nécessaire. Ce phénomène peut être expliqué par l'évaporation de l'eau entraînant un assèchement de la bagasse due à l'énergie dégagée lors du processus de compostage (Albrecht, 2007). D'après Pandey *et al.* (2000), l'hydrolyse d'un substrat comme la bagasse devrait bien être contrôlée pour éviter la formation de composés toxiques tels les dérivés du furane (2-furaldéhyde et 5-hydroxyméthyl-2-furaldéhyde) et les acides organiques qui affectent la croissance microbienne.

En effet, les valeurs du rapport C/N de nos différents composts finaux sont statistiquement différentes ( $p < 0,05$ ). Il en résulte que les normes exigées font qu'il existe tout de même des différences entre les composts pour pouvoir les qualifier de matures et/ou de stables. Seul le compost témoin, présente des caractères physico-chimiques immatures exceptés pour les valeurs de pH qui sont toutes neutres. Bien que le compost témoin diminue, il reste tout de même parmi les quatre andains, celui possédant le rapport C/N le plus élevé. Toutes ces analyses montrent que le compost témoin reste le moins déminéralisé. Quant aux composts inoculés ; les valeurs des rapports C/N sont égales statistiquement et le compost avec un taux de MO moins élevé est retrouvé dans le compost1. Pour ces deux paramètres, les andains inoculés avec les souches seules montrent les critères de stabilité. Il n'est pas aisé de qualifier que tel compost parmi ceux inoculés de souches bactériennes est meilleur ou plus mature car il n'y pas des paramètres universels de stabilité ou de maturité.

La microbiologie du compostage est très complexe et très difficile à suivre. Les dynamiques microbiennes observées dans notre étude correspondent bien au processus de compostage observé dans beaucoup d'études. Par contre il n'existe pas dans la littérature, que tel type de microorganisme, à telle quantité doit être retrouvé à telle étape du processus de compostage. Il

n'y a pas d'homogénéité des microorganismes entre les différents processus de compostage car chaque type de substrat et chaque méthodologie utilisée ont leurs communautés microbiennes spécifiques. Les microorganismes isolés par les méthodes de culture utilisées au laboratoire ne sont pas représentatifs de la flore réelle présente durant le compostage. En effet, 0,1 à 10% des microorganismes sont cultivables (Torsvik, 1980) et l'état, actif ou non actif, dans le compost des micro-organismes isolés sur les milieux sélectifs, n'est pas connu (Albrecht, 2007). Il faut noter que la concentration de certains microorganismes cultivables retrouvés dans les andains peut être erronée à cause de la méthode d'échantillonnage. La représentativité de la flore microbienne est complexe et peut être fonction de l'échantillonnage, du fait de la quantité minimale prélevée par rapport à la masse restante dans l'andain. Tous ces facteurs peuvent agir sur les microorganismes cultivables du compost.

Le compostage est un processus principalement microbien, d'où une connaissance des différents groupes microbiens et leur rôle dans cette biodégradation à travers différentes étapes est essentielle (de Bertoldi *et al.*, 1983). L'évolution microbienne a été suivie durant 147 jours et globalement, sa dynamique tout au long du compostage est semblable dans les différents andains, car tout est question des facteurs environnementaux qui déterminent la succession des différentes communautés microbiennes (Finstein et Morris, 1975 ; de Bertoldi *et al.*, 1983 ; Tiquia *et al.*, 2002b ; Ryckeboer *et al.*, 2003). La différence se situe dans la charge microbienne évaluée dans les différents andains à un temps donné.

A la fin du compostage, il n'y a pas de différence significative du nombre de la flore fongique entre les andains. Beaucoup de champignons sont des décomposeurs de la cellulose et de la lignine et ont une plus grande capacité de dégradation de ces polymères lignocellulosiques que les bactéries et actinomycètes (Finstein et Morris, 1975 ; Tuomela *et al.*, 2000 ; Ryckeboer *et al.*, 2003a ; Ryckeboer *et al.*, 2003b ; Huang *et al.*, 2010 ; Bugg *et al.*, 2011) durant la phase de maturation, malgré que certains auteurs ont rapporté l'effet négligeable de cette biodégradation produite par les champignons durant cette étape du compostage (Chang, 1967 ; Tomati *et al.*, 1995 ; Nusbaumer *et al.*, 1996).

Ainsi, d'après les analyses des différents types microbiens, le compost témoin enregistre sensiblement les valeurs de population les plus élevées sauf lors de la détermination du genre *Clostridium* où le compost1 dominait. En effet, tout au long du compostage ; le compost témoin n'a pas montré une température thermophile nécessaire à une hygiénisation et à une diminution du nombre des microorganismes, et le pH alcalin est favorable à leur croissance. Le nombre élevé de spores aussi a été discuté plus haut dû à un phénomène de compétition et

de substrat difficilement assimilable. Après le compost témoin, le compost3 présente les plus grandes valeurs de dénombrement des populations microbiennes excepté toujours lors de l'analyse de *Clostridium*. Cet andain (compost3) qui a enregistré la température la plus élevée aurait dû montrer une diminution de la population microbienne comparé aux autres andains inoculés. Les andains compost1 et compost2 ont les valeurs de microorganismes les plus faibles bien qu'ils aient des températures moins élevées par rapport au compost3. Ainsi, cette différence significative du dénombrement microbien de différents types microbiens à des temps donnés n'est pas dû à la température mais aux activités des souches de *Bacillus*. Leur activité sur les microorganismes dépend de leur présence seule ou combinée, et d'après les résultats précédents, les souches de *Bacillus* inoculées seules ont un effet sensiblement inhibiteur sur la flore microbienne du compostage. Par contre, le mélange des deux souches n'a pas manifesté cet effet d'inhibition sur cette flore bien que la température la plus maximale y est enregistrée.

L'ajout de souches bactériennes au processus de compostage a eu globalement un effet car les andains inoculés ont donné des composts plus matures comparés au témoin. Un effet important à souligner est le type de substrat utilisé qui est important durant la biodégradation puisque sa composition chimique et même physique peut être déterminante dans le comportement des souches inoculées. En effet, les capacités des microorganismes utilisés comme inoculum pour transformer la matière organique peuvent être différentes selon le substrat (Vargas-Garcia *et al.*, 2006). Les capacités métaboliques des inoculants peuvent ne pas nécessairement être exprimées durant le compostage. Il se pourrait que les enzymes spécifiques détectées chez les souches de *Bacillus* s'expriment ou soient inhibées pour effectuer la biodégradation. Il faut rappeler que les capacités de ces souches ont été testées au laboratoire dans des conditions stériles où elles étaient seules. Les inoculants apportés dans un milieu non stérile où se trouvent déjà des microorganismes peuvent interagir aussi bien positivement que négativement ; car les microorganismes natifs sont dans leur milieu de prédilection alors que ceux apportés doivent s'y adapter pour pouvoir utiliser le substrat comme source de nutriments. La capacité de compétition pour les nutriments est aussi un facteur à prendre en compte pour les souches inoculées. Tous ces facteurs peuvent expliquer qu'il n'y ait pas de différence très importante des paramètres de compostage entre les andains bien que les souches apportées ont exprimé leurs capacités à cause des différences obtenues sur le plan chimique, physique et biologique entre l'andain témoin et les andains inoculés à la fin du processus de compostage. La densité de l'inoculum est aussi très importante car l'effet

de l'inoculum apporté peut être différent en fonction de la quantité. Nakasaki *et al.* (1996) ont montré que l'ajout de *Bacillus licheniformis* HA1 pouvait accélérer le compostage de déchets organiques et qu'une concentration bactérienne de l'ordre de  $10^4$ - $10^5$  UFC/g était nécessaire pour un produire un effet mesurable lors du processus de compostage. Dans nos expériences, la biomasse bactérienne était de l'ordre de  $10^9$  UFC/ml et était ensemencée dans le processus de compostage à 1% par rapport au volume des composteurs.

En plus des effets de l'inoculum, le type de compostage utilisé est très important car d'après Charnay (2005) ; la fermentation en andains donne un compost de qualité agronomique satisfaisante avec une bonne homogénéisation lors de la dégradation. Une fréquence de retournement rapprochée au début puis espacée jusqu'à la fin est un bon paramètre de la dégradation (Charnay, 2005) comme il a été fait dans cette étude.

## **Conclusion**

Dans ce chapitre, il s'agissait de produire différents types de composts à partir de la bagasse de canne à sucre. Durant le processus de compostage, les andains sont inoculés de souches de *Bacillus* : *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> et *Bacillus sp.* CMAGI2. Le comportement des souches bactériennes par rapport au substrat la bagasse et leur effet sur les paramètres physico-chimiques et biologiques ont été déterminés. A l'issue de ces travaux, il a été établi que les composts inoculés ont été mieux dégradés par rapport au compost témoin et par conséquent l'inoculation des souches a réduit le temps de compostage car il faudrait beaucoup plus de temps au compost témoin pour qu'il soit mature et stable.

Les travaux effectués dans ce chapitre ont été soumis à *African Journal of Biotechnology* et le manuscrit a pour titre : **Composting of sugar cane bagasse by *Bacillus* strains.**

## **B. Essais des cultures sur terrains agricoles**

### **Introduction**

Les légumes ont toujours contribué à l'alimentation humaine ; ainsi nos ancêtres, les premiers Hommes, vivaient de chasse et de cueillette. Pendant la période Paléolithique, entre 30 000 et 10 000 ans avant Jésus-Christ, les seuls légumes consommés étaient des espèces sauvages, des baies, des salades ou épinards primitifs (Raven *et al.*, 2003). C'est par la suite, au Néolithique, que furent observées des techniques de cultures pour améliorer les plantes. Les légumes sont des produits alimentaires à valeur commerciale et nutritive.

L'agriculture proprement dite, c'est-à-dire l'art de cultiver une plante d'une année sur l'autre en quantité suffisante pour alimenter les communautés humaines, a débuté il y'a environ 11000 ans, dans une vaste région appelée le « croissant fertile » à l'Est de la Méditerranée (Raven *et al.*, 2003).

Ces dernières décennies, l'agriculture s'est tournée vers une utilisation abusive de produits chimiques (pesticides, engrais...) dégradant ainsi la qualité des sols agricoles conduisant à un appauvrissement en matières organiques.

Les matières organiques sont une source d'éléments nutritifs, une source énergétique aux microorganismes, améliorent les propriétés physiques donc globalement, elles sont bénéfiques aux propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol (Francou, 2003 ; Richard, 2005 ; Tittarelli *et al.*, 2007). Ainsi, dans une perspective de développement de l'agriculture durable, il, est nécessaire voire urgent de considérer toute source de matière organique pouvant augmenter la fertilité de nos sols en privilégiant l'utilisation de composts par rapport aux produits chimiques (engrais et pesticides). L'utilisation répétée de ces derniers sur les cultures est à l'origine de la perturbation de l'écosystème local et l'apparition de résistance des parasites aux produits les plus utilisés. De même, la présence des résidus de pesticides dans les fruits et légumes constitue une menace pour la santé des consommateurs (Wade, 2003 ; Keikotlhaile et Spanoghe, 2011).

La production de légumes en Afrique ne cesse de croître mais il ne s'agit pas seulement d'obtenir de grands rendements mais aussi des cultures rentables avec des techniques respectueuses de l'environnement et de la santé des consommateurs.

Au Sénégal, comparée aux secteurs secondaire et tertiaire, l'agriculture affiche le taux de croissance moyen le plus faible. L'agriculture a connu des changements importants ces

cinquante dernières années mais ces quinze dernières années, sa contribution à la croissance économique est presque nulle (0,1%), et sa part dans le PIB est passée de 10% en 1997 à moins de 8% en 2011 (DPEE, 2013). La production agricole ne couvre en moyenne que 52% des besoins alimentaires de base alors que le secteur agricole devrait jouer un rôle majeur dans l'économie par son apport à l'amélioration de la sécurité alimentaire (Dia, 2012). Ainsi, il est important de trouver des moyens pour faire face au défi agricole, vu que ces dernières années ; l'agriculture, placée au cœur du développement économique, est devenue une volonté politique de la part de nos autorités publiques sénégalaises.

Beaucoup d'études ont montré l'effet positif du compost sur le rendement des cultures (Kettler, 2000 ; Charnay, 2005 ; Attrassi *et al.*, 2007 ; Mrabet *et al.*, 2011 ; Awopetu *et al.*, 2015). En effet, le compost agit tout d'abord en apportant des éléments nutritifs aux sols et aussi en entretenant ou en augmentant le stock de matière organique du sol amendé. Des tests en champ permettent d'estimer les bénéfices de l'apport de composts pour les sols et pour les cultures (Kettler, 2000). Différentes méthodes d'estimation de cette valeur existent comme la mise en place de dispositifs de végétation sous serre et celles de dispositifs expérimentaux en champ, montrant le bénéfice des composts pour le sol comme pour les cultures (Charnay, 2005).

Nous nous proposons dans ce chapitre de tester en utilisant les composts produits comme engrais sur deux spéculations maraîchères : la tomate et le haricot vert qui prennent une part importante dans l'exportation sénégalaise et la filière maraîchère est une des composantes les plus porteuses et les plus dynamiques du secteur horticole (Dia, 2012).

Les essais de culture sur les deux cultures maraîchères ont été effectués à la station de Sangalkam de l'ISRA (UPPF)-Dakar (Sénégal) et des paramètres ont été observés pour chaque culture.

### 3.1. Matériel et méthodes

Le compostage à base de bagasse canne à sucre inoculée de souches de *Bacillus* a duré 21 semaines et a permis d'obtenir quatre types de composts comme cela a été décrit dans le chapitre précédent. Les caractéristiques finales des composts sont présentées dans le **tableau 17**:

**Tableau 17** : Caractéristiques des composts finaux

Paramètres	Compost témoin	Compost1	Compost2	Compost3
<b>Humidité %</b>	37,29 (1,14)	30,01 (0,57)	22,44 (0,72)	26,89 (0,20)
<b>pH</b>	7,48 (0,07)	7,32 (0,09)	7,13 (0,23)	7,61 (0,09)
<b>N %</b>	0,82 (0,03)	1,12 (0,00)	1,24 (0,14)	1,09 (0,09)
<b>ratio C/N</b>	37,56 (3,03)	19,12 (0,92)	16,41 (1,49)	21,05 (1,74)
<b>MO</b>	36,17 (0,80)	22,38 (0,58)	26,72 (0,12)	24,51 (0,59)
<b>Na %</b>	0,22 (0,01)	0,14 (0,01)	0,24 (0,01)	0,20 (0,00)
<b>Mg%</b>	0,35 (0,00)	0,27 (0,00)	0,30(0,01)	0,40 (0,00)
<b>K%</b>	0,68 (0,00)	0,62 (0,01)	0,70 (0,02)	0,80 (0,01)
<b>Ca%</b>	1,19 (0,02)	0,74 (0,02)	0,93 (0,02)	1,16 (0,00)
<b>P (ppm)</b>	551 (0,00)	240,34 (0,00)	251,27 (0,00)	419,86 (0,00)
<b>CEC (meq/100g)</b>	116,02	81,02	99,43	120,16

#### 3.1.1. Site expérimental

Le site des essais de cultures se trouve à Sangalkam dans le département de Rufisque, à une trentaine de kilomètres de Dakar dans la zone écologique des Niayes. Les coordonnées géographiques de Sangalkam sont : latitude 14° 46' 52'' Nord, longitude 17° 13' 40'' Ouest, Altitude 22 m. Le climat est de type subcanarien et les sols de type sablo-argileux, riches en MO. En hivernage, les températures moyennes varient entre 25 et 30°C avec une pluviométrie moyenne de 400 à 500 mm. En saison fraîche, les températures moyennes sont de 19 à 23°C (Camara *et al.*, 2013).

D'après (LeCompt, 1965), pour que des essais soient significatifs, deux conditions doivent être respectées :

- Le traitement doit être répété ;
- L'emplacement des essais sur le terrain doit être tiré au sort.

Dans notre étude, il a été retenu que nos plans d'expérience seraient le mode de disposition en blocs complètement randomisés ou blocs de Fisher. Cette méthode permet de réduire l'erreur expérimentale, de réduire la probabilité de trouver des différences entre les parcelles élémentaires d'un même bloc et entre les parcelles élémentaires des blocs et le choix de ce dispositif se justifie surtout par le gradient d'hétérogénéité notée sur le site devant abriter l'essai.

### **3.1.2. Matériel végétal**

Deux types de cultures sont utilisés : le haricot vert de nom scientifique *Phaseolus vulgaris* et la tomate *Solanum lycopersicum*.

La tomate utilisée dans cette étude est la variété Xina dont le nom d'espèce est *Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten ex Farw.

Le haricot vert est haricot Tonivert (règles et normes FIS, semences standard conditionneur : 006985).

### **3.1.3. Essais des cultures**

Le choix des terrains devant abriter les essais à utiliser n'était chose aisée à cause d'abord des sites déjà occupés car étant une unité de production. Il fallait trouver un terrain à proximité du site de compostage, un point d'eau proche, la sécurisation des parcelles contre les animaux (rongeurs, singes, vaches...). Ces contraintes ont été des facteurs limitants. Une des difficultés rencontrées au niveau de la station est de trouver des terrains exempts de toute infection phytopathogène du sol.

Chaque culture a reçu cinq (5) traitements différents :

- Un traitement qui correspond au compost témoin seul (traitement compost témoin T) ;

- Un traitement qui est le compost à base de *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> (traitement compost1 sub) ;
- Un traitement avec le compost à base de *Bacillus sp.* CMAGI2 (traitement compost2 sp) ;
- Un traitement avec le compost à base du mélange des deux souches (traitement compost3 M) ;
- Le dernier traitement est considéré comme le traitement témoin (Terr) car la culture reçoit comme engrais le terreau (sans fertilisant, ni amendement d'aucune sorte) qui est couramment utilisé dans le centre horticole.

Afin de déceler l'action fertilisante propre des composts, aucun supplément de fumure minérale n'a été ajouté au mélange sol-compost dans aucune des cultures.

### **3.1.3.1. Essais sur la tomate**

#### **a) Méthodologie utilisée**

Le dispositif expérimental est de type blocs complètement randomisés (BCR) et la culture a reçu cinq traitements répétés trois fois. Deux semaines avant le piquetage des parcelles, chaque planche a reçu un traitement à base d'huile de neem (*Azadirachta indica*) 0,5% (v/v), dont les extraits sont connus depuis longtemps comme agents répulsifs pour les insectes, contre la transmission des virus et qui possède des propriétés antifongiques (Singh *et al.*, 1980). Les dimensions des parcelles sont de 3 m×1,10 m soit 3,3 m<sup>2</sup> de surface comprenant chacune 10 plants de tomate, les allées entre les planches des différents traitements est de 50 cm et 0,75 m entre les blocs. Ainsi dans chaque parcelle, du compost pour les traitements compost et du terreau pour le traitement terreau sont ajoutés puis mélangés soit une dose des différents traitements de 40T/ha. Dans une même planche, deux lignes de plants sont espacées de 60 cm et entre deux plants de même ligne, l'espacement est de 50 cm. Les parcelles de tomates à tester sont protégées par deux lignes de bordure de tomate qui servent de barrière à d'éventuelles attaques. Après la mise en pépinières des tomates qui a duré près de 21 jours, les jeunes plants sont repiqués dans les planches déjà confectionnées et bêchées.

**Tableau 18:** Répartition aléatoire des traitements pour la culture de tomate

Traitements	1	2	3	4	5
<b>Bloc 1</b>	T	M	sub	sp	Terr
<b>Bloc 2</b>	sp	T	M	Terr	sub
<b>Bloc 3</b>	sub	M	Sp	T	Terr

T : compost témoin ; sub : compost1 ; sp : compost2 ; M : compost3 ; Terr : terreau

## b) Paramètres observés

Les paramètres observés pour la tomate sont :

- La hauteur des plantes : quatre (4) plants ont été choisis au hasard par planche et la hauteur est définie comme étant la distance entre le sol et le bourgeon apical. Nous avons choisi de la mesurer pour nous permettre d'évaluer et de comparer la croissance entre les différents plants pour chaque traitement.
- La production des cultures : la masse totale et la masse moyenne des fruits par planche sont déterminées par simple pesée avec une balance *Scout (laboratoire Humeau)* après chaque récolte. Le nombre total et le nombre moyen de fruits par planche sont effectués par comptage.
- L'état sanitaire des fruits : les fruits récoltés sont triés, la masse des fruits consommables et celle des non consommables par planche sont déterminées, une analyse microbiologique des fruits obtenus post-récolte par parcelle a été faite. L'analyse microbiologique des fruits a porté sur la recherche de la flore fongique, des coliformes fécaux, des streptocoques fécaux et les bactéries du genre *Clostridium* et les méthodologies utilisées sont les mêmes que celles des analyses microbiennes durant le compostage (section 3.1.3.1.).

### 3.1.3.2. Essais sur le haricot vert

#### a) Méthodologie utilisée

Le même dispositif expérimental est utilisé (BCR) avec les cinq traitements répétés trois fois. La surface de chaque parcelle est de 5,5 m<sup>2</sup> (5 m×1,10 m), les allées sont de 50 cm et de 0,75

m entre les répétitions des planches, l'espace entre les deux lignes de chaque planche est de 65 cm et l'écartement des plants est de 20 cm. Du compost ou du terreau est apporté au sol selon le traitement approprié (une dose de 27 T/ha) et la culture du haricot vert est faite en semis direct à raison de deux graines par trou.

**Tableau 19** : Répartition aléatoire des traitements pour la culture du haricot vert

Traitements	1	2	3	4	5
<b>Bloc 3</b>	sp	T	sub	Terr	M
<b>Bloc 2</b>	Terr	T	M	sub	sp
<b>Bloc 1</b>	M	sp	Terr	T	sub

T : compost témoin ; sub : compost1; sp : compost2 ; M : compost3 ; Terr :terreau

#### b) Paramètres observés

Pour la culture du haricot vert, les critères suivants sont pris en compte :

- le taux de levée des plantes qui est défini comme étant la proportion des plants qui ont poussé après le semis direct et il est exprimé en pourcentage
- Calcul de la perte en plants d'haricot vert dans le temps

#### 3.1.4. Analyses statistiques

Les traitements des données statistiques saisies sur Microsoft Excel 2010 sont effectués à l'aide du programme R (3.0.1). Les différences significatives entre les valeurs quantitatives sont déterminées en utilisant ANOVA ( $p < 0,05$ ) pour l'analyse des variances.

## 3.2. Résultats

### 3.2.1. Essais sur haricot vert

#### 3.2.1.1. Taux de levée

La levée des haricots a été suivie pendant quatorze (14) jours. Sept (7) jours après le semis, la levée des plants la plus élevée est notée dans le traitement terreau (77,56%) suivi du compost1 (69,23%) puis du compost témoin (62,82%). Les compost2 et compost3 ont les valeurs les plus faibles avec respectivement 54,49% et 53,85% de taux de levée. Au bout de 14 jours, le compost1 a le taux le plus élevé avec 89,74% de levée de plants et le compost3 a toujours le plus faible taux (78,53%) (**Tableau 20**). Par contre, il n'y a pas eu d'effet significatif entre les différents traitements sur le taux de levée des plants de haricot vert au bout de 14 jours ( $p > 0,05$ ).

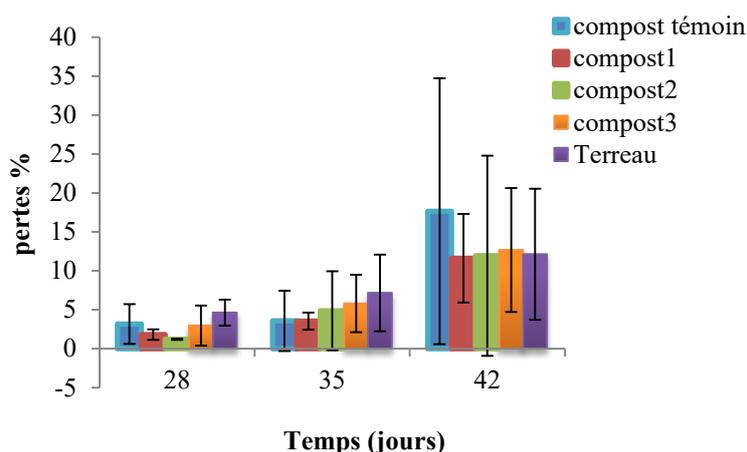
**Tableau 20:** Taux de levée chez le haricot vert en fonction des différents traitements

Traitements	Compost témoin	Compost1	Compost2	Compost3	Terreau
Taux de levée %	85,90 (10,19)	89,74 (4,83)	79,49 (5,29)	78,53 (26,37)	85,26 (10,00)

La valeur entre parenthèses est l'écart-type (n=3)

#### 3.2.1.2. Perte en plants d'haricot vert

Dans cette étude, les parcelles utilisées pour le haricot vert sont infectées ce qui a beaucoup affecté les plants. Nous avons voulu calculé la perte en plants d'haricot vert dans le temps et observé le comportement des composts sur les plants affectés par le sol.



**Figure 28:** Taux de perte des plants de haricot vert

La perte en plants de haricot vert a débuté au bout d'un mois après le semis et a augmenté au cours du temps. Le compost témoin a une perte de 16% (**Figure 28**) suivi du compost3 (12% de pertes) puis le terreau une perte de 11,33%. Les traitements composts inoculés de souches de *Bacillus* seuls le compost1 et le compost2 ont eu moins de pertes avec un pourcentage de 10,67% et 9,67% respectivement. Les traitements n'ont pas eu de différence significative entre eux sur les pertes des plants de haricot vert ( $p > 0,05$ ) (**Tableau 21**), il se pourrait que les traitements aient eu des effets similaires sur les pertes des plants de haricot vert ou que les causes proviennent du sol infecté des parcelles utilisées.

**Tableau 21:** Résultats de l'ANOVA pour les paramètres de la culture du haricot vert

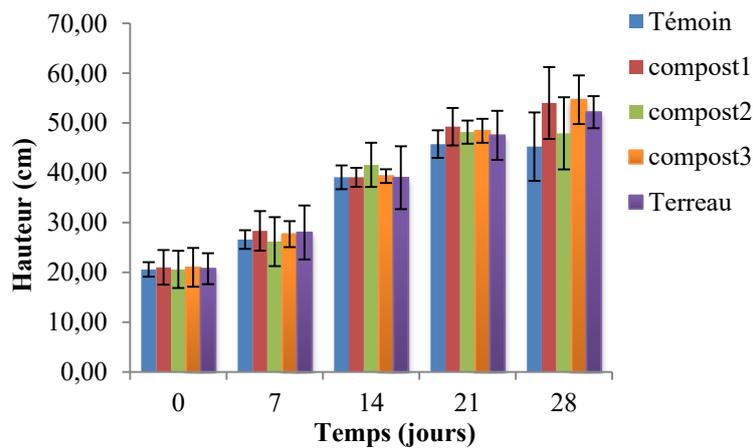
Paramètres	valeurs de $p$
Taux de levée	0,84
Pertes	0,97

### 3.2.2. La culture de tomate

#### 3.2.2.1. Hauteur des tiges de tomate

Quatorze (14) jours après le repiquage, le compost2 a une vitesse de croissance qui augmente légèrement tandis que la croissance des autres composts est à la même vitesse. A partir du

21<sup>ème</sup> jour, la vitesse de croissance des plants de tomate des compost2 et compost témoin ralentit et se stabilise. Au 28<sup>ème</sup> jour, les hauteurs les plus élevées sont retrouvées dans les compost1 et compost3 suivi du terreau puis du compost2 et du compost témoin qui ont les plants les moins élevés. Les traitements de données ont montré qu'il n'y a pas eu de différence significative sur la hauteur des tiges des plants de tomate entre les différents traitements ( $p > 0,05$ ).



**Figure 29:** Evolution de la croissance des plants de tomate dans le temps

### 3.2.2.2. Rendement en tomate

La récolte de la tomate a duré 33 jours et les fruits étaient récoltés à maturité. Le nombre de fruits total, consommables et non consommables ainsi que leur masse sont déterminés.

#### a) Nombre de fruits récoltés

La récolte des fruits de tomate a duré trente-trois jours et les récoltes se faisaient tous les deux jours. Le dénombrement des fruits récoltés se faisait par simple comptage.

Un nombre de fruits plus élevé est enregistré dans le traitement terreau avec une perte en fruits de 12%. Le plus faible nombre est retrouvé dans le compost3 avec une perte de 10% (tableau 22).

Il n'y a pas eu de différence significative entre les différents traitements sur la production de fruits de tomates ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 22:** Productivité en fruits de tomates

Traitements	Nombre moyen total de fruits	Nombre moyen de fruits/plante	Nombre moyen de fruits sains	Nombre moyen de fruits pourris
<b>Compost témoin</b>	202,67 (12,50)	20,27 (1,25)	188,00 (8,89)	14,67 (4,93)
<b>Compost1</b>	251,67(73,76)	25,17 (7,38)	222 (64,90)	29,67 (9,71)
<b>Compost2</b>	235,33 (97,42)	23,53 (9,74)	213,33 (82,04)	22 (16,09)
<b>Compost3</b>	192 (34,39)	19,2 (3,44)	172,67 (26,31)	19,33 (10,96)
<b>Terreau</b>	256 (91,54)	25,6 (9,15)	228,33 (76,81)	27,67 (15,95)

**b) Poids des fruits**

A chaque récolte, les poids des fruits sains ainsi que les fruits pourris sont déterminés par simple pesage. Les rendements exprimés en T/ha sont rassemblés dans le **tableau 23** suivant :

**Tableau 23:** Rendement de la production de tomates

Traitements	Masse des fruits consommables (T/ha)	Masse des fruits non consommables (T/ha)	Masse moyenne d'un fruit (g)	Rendement (T/ha)
<b>Compost témoin</b>	12,63	0,61	21,56	13,24
<b>Compost1</b>	16,19	1,27	22,89	17,45
<b>Compost2</b>	14,12	0,69	20,76	14,81
<b>Compost3</b>	12,04	0,74	21,97	12,78
<b>Terreau</b>	17,62	0,94	23,93	18,56

Parmi les traitements, les parcelles ayant reçu le terreau et le compost1 ont les rendements les plus élevés de la variété *Xina*. Parmi les traitements faits avec les composts, celui avec le compost1 a le taux le plus élevé en rendement et celui avec le compost3 a le taux le plus faible. Les différents traitements sur les plants de tomate n'ont pas montré de différence significative entre eux sur les paramètres du rendement des fruits obtenus ( $p > 0,05$ ).

### c) Flore microbienne des fruits post-récoltes

La flore microbienne a été analysée sur les fruits consommables récoltés et les résultats sont consignés dans le **tableau 24** suivant :

**Tableau 24:** Paramètres microbiologiques des fruits de tomate post-récolte

Paramètres microbiologiques	compost témoin	compost1	compost2	compost3	Terreau	Normes
<b>Coliformes fécaux (UFC/g)</b>	$4,31 \times 10^8$ (2,05)	$6,68 \times 10^5$ (1,38)	$9,40 \times 10^6$ (0,21)	$1,07 \times 10^7$ (0,93)	$3,51 \times 10^5$ (0,98)	
<b>Streptocoques fécaux (UFC/g)</b>	$2,73 \times 10^3$ (0,13)	$2,73 \times 10^3$ (0,07)	$3,33 \times 10^2$ (0,20)	$7,35 \times 10^4$ (1,36)	$1,75 \times 10^4$ (2,42)	
<b>Champignons (UFC/g)</b>	$5,33 \times 10^3$ (0,05)	$3,64 \times 10^4$ (0,71)	$1,43 \times 10^4$ (0,56)	$1,80 \times 10^4$ (0,81)	$1,70 \times 10^4$ (0,56)	
<b><i>Clostridium</i> (UFC/g)</b>	absence	absence	absence	absence	absence	

Les résultats obtenus ont montré une qualité microbiologique satisfaisante des fruits de tomate post-récolte.

#### d) Relation entre les différents paramètres de rendement

Les différents paramètres de rendement de la tomate sont liés et les coefficients de corrélation sont calculés et regroupés dans le **tableau 25** suivant :

**Tableau 25** : Coefficient de corrélation entre les différents paramètres de rendement de tomate

Paramètres	compost témoin	compost1	compost2	compost3	Terreau
<b>H/NF</b>	0,95	0,98	0,99	0,85	0,91
<b>H/Pt</b>	0,92	0,85	0,92	0,42	0,93
<b>H/Pm</b>	0,26	0,30	0,59	0,26	0,37
<b>NF/Pt</b>	0,71	0,80	0,87	0,84	0,82
<b>NF/Pm</b>	-0,47	-0,40	-0,02	0,29	-0,60
<b>Pt/Pm</b>	0,20	0,21	0,45	0,74	-0,02

H : hauteur des tiges  
 NF : nombre de fruits  
 Pt : poids total  
 Pm : poids moyen

Coefficient de corrélation : > 0,70 : fortement corrélé ; entre 0,30 et 0,70 : moyennement corrélé ; < 0,30 : faiblement corrélé

Le traitement avec le compost témoin montre une forte corrélation positive entre H/NF, H/Pt et NF/Pt, le poids total est fonction de la hauteur et du nombre de fruits. Ainsi plus nous avons une hauteur élevée, plus le nombre de fruits est élevé, ce qui entraîne une augmentation du poids total. Quant au poids moyen, il est faiblement corrélé à la hauteur et au poids total et lorsque le poids moyen diminue, le nombre de fruits augmente.

Au niveau du traitement compost1, les mêmes corrélations que le compost témoin est retrouvé c'est-à-dire que le poids total est fonction du nombre de fruits et de la hauteur et que le poids moyen diminue lorsque le nombre de fruits augmente.

Le même phénomène est retrouvé aussi dans le traitement compost2 sauf que cette fois-ci le poids moyen est moyennement corrélé à la hauteur et au poids total, ce qui signifie que lorsque la hauteur est élevée, le nombre de fruits augmente entraînant une augmentation du poids total et aussi moyennement le poids moyen.

Le traitement compost3 a montré que plus la hauteur est élevée, plus le nombre de fruits augmente, plus le poids moyen aussi augmente. Quant au poids total, il augmente moyennement par rapport à la hauteur.

Quant au traitement terreau, plus la hauteur est élevée, plus le nombre de fruits augmente ainsi que le poids total. Par contre le poids moyen augmente moyennement lorsque la hauteur est élevée mais diminue lorsque le nombre de fruits augmente et faiblement lorsque le poids total augmente.

### **3.3. Discussion**

Le compost joue des rôles très importants dans le domaine agricole, ainsi l'ajout de compost permet d'améliorer les caractéristiques physico-chimiques ainsi que biologiques des sols (Richard, 2005). Des auteurs ont montré que les effets sur les rendements des cultures sont souvent contradictoires, surtout lorsqu'ils sont comparés à ceux découlant de l'emploi d'autres fertilisants organiques ou minéraux (Kettler, 2000).

Dans ce chapitre, nous avons voulu tester quatre types de composts produits sur des cultures de haricot vert et tomate afin de voir l'effet qu'ont les composts sur certains paramètres des cultures citées plus haut.

#### **Effet sur le haricot vert**

Après les traitements appliqués sur les plants de haricot vert, nous n'avons pas vu de différence sur les taux de levée des différents composts par rapport au témoin (Terreau) au bout de 14 jours. La germination a lieu entre 4 et 5 jours après le semis et entre les traitements composts, il n'y a pas de différence significative par rapport au témoin ( $p > 0,05$ ). Il faut

rappeler que les parcelles utilisées étaient trop affectées pour un suivi adéquat de la culture de haricot vert, ceci peut être une cause de la non significativité des traitements ou que ces derniers agissent de la même manière sur le taux de levée des haricots verts. Les pertes subies par ces plants ont débuté un mois après le semis et cela a écourté la croissance de la culture raison pour laquelle nous nous sommes arrêtés à ce stade.

Comme toutes les légumineuses, le haricot vert est une plante relativement exigeante en azote et c'est essentiellement la fixation symbiotique qui permettra de satisfaire ce besoin. Ainsi, si les conditions édaphiques sont satisfaisantes, une dose entre 50-100 kg d'azote est suffisante, or l'apport des traitements des différents composts a dépassé ce taux (> 200 kg/ha). Des apports élevés en N influent peu sur les rendements et s'ils deviennent excessifs (> 120 kg/ha), ils nuisent à la formation des nodosités, sensibilisent les plantes et favorisent les maladies (PIP, 2011). Les autres minéraux tels le P et le K correspondent aux doses prescrites pour un bon développement de la culture d'après PIP (2011) par contre Mg est en excès supérieur à la dose maximale de 30kg/ha. Le niveau de Mg retrouvé dans les composts peut être expliqué par les teneurs élevées en Mg et en oligo-éléments que possèdent les déchets verts (Houot *et al.*, 2003).

### **Effet sur la tomate**

Les différents composts utilisés comme amendement au sol pour la culture de tomate, n'ont pas eu de différence significative par rapport au témoin (terreau). Le témoin a donné un rendement égal à celui obtenu par Camara *et al.*, (2013) pour la variété *xina* et qui est proche des rendements trouvés au Sénégal et au Niger qui sont entre 20-80T/ha (De Lannoy, 2001). Compte tenu des résultats obtenus, par rapport à l'approche expérimentale pratiquée à l'égard de la culture de tomate, les résultats obtenus ne nous ont pas permis d'affirmer, statistiquement, que les composts obtenus ont eu un effet marqué sur le rendement des fruits de tomate par rapport au témoin. Ce phénomène entre les différents traitements pourrait être dû aux grandes variances observées à l'intérieur d'une parcelle, ainsi cela ne permet pas d'observer une différence significative entre les différentes parcelles (=différents traitements) dû au nombre des essais de notre dispositif (=trois) (fixé à ce nombre à cause du facteur limitant le compost2).

Des auteurs confirment que des tests comparatifs montrent le bénéfice du compost dans les cultures, appliqué seul ou conjointement avec des fertilisants chimiques ou du fumier (Charnay, 2005). Par contre, nos quatre composts produits n'ont pas eu d'effet sur les cultures de haricot vert et de tomate par rapport au témoin. En effet, Fitzpatrick *et al.*, (1998) ont constaté que des composts utilisés comme seule source d'amendement organique ne comblaient pas les besoins en éléments nutritifs des végétaux à croissance rapide. De manière générale, le moins stable des composts relâchera une quantité plus importante de Ca et de Mg et retiendra plus de P que le compost le plus stable (Kettler, 2000).

## **Conclusion**

Il s'agissait dans ce chapitre de tester les quatre composts à base de bagasse de canne à sucre produits sur deux cultures et de tester leur efficacité en tant qu'engrais biologique. Globalement, que ce soit le taux de levée du haricot vert, que ce soit les paramètres de rendement de la tomate, les composts n'ont montré aucun effet, statistiquement parlant, par rapport au témoin sur les cultures. Beaucoup de paramètres peuvent être la cause pour laquelle nous n'observons pas de différence significative entre les traitements.)

# ***DISCUSSION GENERALE***

## Discussion générale

Le compostage est une pratique ancestrale qui pour beaucoup, il n'est qu'un processus de décomposition de matières organiques. Or derrière ce phénomène naturel, se cachent des bienfaits très importants pour l'humanité et la nature en général. Cette biodégradation renferme beaucoup de propriétés intéressantes qui lui confèrent de plus en plus cet aspect naturel qu'a l'agriculture biologique. En plus de renforcer les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol, le compostage peut permettre une meilleure gestion des déchets organiques tels les déchets des ordures ménagères.

L'utilisation de souches microbiennes durant un compostage a longtemps créé une polémique, certains reconnaissent leur inoculation comme possédant des propriétés d'amélioration de la qualité et de réduction du temps de compostage. Pendant que d'autres considèrent cet ajout de microorganismes inutile car n'ayant aucun effet sur la biodégradation. D'autres études montrent selon le type d'inoculum, le compost produit peut être suppressif aux maladies végétales.

Dans cette étude, nous avons voulu tester des souches de *Bacillus* isolées au laboratoire MAGI (*Bacillus sp.* CMAGI2) et une souche de référence de *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>) sur un substrat très récalcitrant : la bagasse. Ce dernier est une matière première faiblement active microbiologiquement, ce qui rend son étude avec une utilisation de souches bactériennes très intéressante.

Les souches de *Bacillus* utilisées dans ces travaux ont démontré leurs capacités enzymatiques et de promotion de croissance. Grâce à ces tests, elles peuvent élargir le domaine d'utilisation allant des industries à l'agriculture où elles pourront servir.

Beaucoup d'études ont utilisé des souches à capacité enzymatique lignocellulolytique pour dégrader les substrats d'origine agricole qui sont riches en composés lignocellulosiques. L'utilisation des souches de *Bacillus* dans cette étude est intéressante car leur capacité de sporulation les rend très avantageux par rapport aux autres genres. En effet, les auteurs ont plus tendance à utiliser les champignons lors de la biodégradation de substrat lignocellulosique. Ces travaux ont aussi permis d'estimer les capacités enzymatiques de ces souches en milieu réel comparées aux essais en laboratoire.

Cette étude a clairement démontré que les composts testés n'ont pas montré de différence, ni entre eux, ni par rapport au témoin (terreau). La difficulté qui existe à comparer les différents résultats réside dans la grande variation des conditions expérimentales, des facteurs tels les pratiques culturales, le taux d'application des fertilisants... En effet, l'action des différents composants des composts sur le rendement de cultures peut dépendre de la qualité des composts, du sol, de l'espèce végétale à cultiver, du système de production de l'agriculteur. Cependant, utilisé comme amendement organique, le compost peut ne pas remplacer totalement les engrais chimiques mais peut toutefois en réduire les quantités utilisées.

Les productions de l'agriculture sénégalaise sont en forte croissance depuis ces quinze dernières années ainsi que le secteur de l'exportation horticole. Malgré tous les efforts considérables de nos autorités publiques, le secteur agricole n'arrive pas à atteindre le niveau voulu. Les nombreuses agressions subies par les cultures augmentent l'utilisation des produits chimiques, n'est-il pas temps d'arrêter ces pratiques nocives aux êtres vivants et à la nature en général. Même si nos composts ont donné les mêmes résultats par rapport au témoin, nous pouvons proposer leur utilisation dans une perspective d'agriculture durable et dans un contexte d'agriculture biologique, car ils sont exempts de tout produit chimique.

## *Conclusion et perspectives*

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'agriculture, de nos jours, est un grand consommateur d'éléments fertilisants, surtout ceux chimiques qui sont nocifs aussi bien au consommateur qu'à l'agriculteur. En plus de ce phénomène, s'ajoutent les dégradations des terres cultivables qui s'appauvrissent de jour en jour. Au vu de tous ces effets négatifs environnementaux et économiques, il devient primordial de trouver des solutions urgentes, respectueuses de l'environnement en général, mais aussi en particulier de la nature et des Hommes. Cette évolution négative crée un marché potentiel pour le compost et les fertilisants biologiques.

Dans cette étude, l'objectif premier était d'utiliser des souches de *Bacillus* comme inoculum lors de la biodégradation de la bagasse de canne à sucre, et de voir si la valorisation scientifique de ce substrat en présence de ce type de souches pourrait être intéressante pour l'agriculture biologique. Ensuite, il s'agissait d'estimer dans un contexte agricole, l'effet des composts obtenus sur des cultures de deux spéculations maraîchères.

Une souche de *Bacillus* a été isolée d'un compost mature issu d'un compostage précédent puis identifiée sur le plan physiologique et moléculaire. Une autre souche de référence a aussi été utilisée lors de ce processus : *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>. Le compostage, effectué est de type andains et le substrat qui était la bagasse de canne à sucre et du fumier de vache était inoculé des souches bactériennes précitées. Des essais en parcelles ont été réalisés sur des cultures de haricot vert et tomate en utilisant les composts obtenus comme engrais.

La souche isolée du compost mature est *Bacillus sp.* CMAGI2 avec une caractérisation moléculaire qui a montré 99% de similitude au niveau de l'ADNr 16S avec quatre autres souches sur une couverture totale de 100% : *Lysinibacillus fusiformis* XW18, *Lysinibacillus sphaericus* wh22, *Lysinibacillus sphaericus* C3-41 et *Bacillus sp.* JU2.

Les deux souches de *Bacillus* (*Bacillus sp.* CMAGI2 et *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>) utilisées ont donné des réponses positives à certains tests d'activités enzymatiques ainsi que de promotion de croissance des plantes.

Une production de la biomasse des deux souches a été faite et utilisée comme inoculum dans le processus de compostage où les paramètres physico-chimiques et biologiques ont été

effectués dans le temps. Quatre types de compostage ont été effectués : un compost témoin exempt de souches inoculées, un compost inoculé de la souche de *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>, un compost inoculé de *Bacillus sp.* CMAGI2, et un dernier où le mélange des deux souches a été appliqué.

L'évolution du pH, de l'humidité et de la température au cours du temps ont montré qu'il existait une réelle activité des composts inoculés par rapport au témoin. La décomposition de la MO, le taux de N et le rapport C/N ont montré une différence entre le témoin et les andains inoculés. Cependant, le classement des différents composts inoculés du plus mature ou plus stable au moins décomposé n'a pas été facile, du fait que les paramètres de maturité et de stabilité différaient entre les composts. Globalement, les andains inoculés ont présenté les caractères d'une meilleure décomposition comparée au témoin selon les normes établies pour les composts, de même que la texture finale a été plus homogène que celle du témoin. Ainsi, les souches de *Bacillus* ont sans doute beaucoup contribué à la dégradation du substrat grâce aux capacités enzymatiques qu'elles possèdent.

Les activités microbiologiques présentent les mêmes dynamiques que celles retrouvées durant un compostage qui sont fonction surtout de la température, du pH et de l'humidité, et cela dans tous les andains. Les principaux groupes actifs durant un compostage ont été dénombrés tels les champignons, les bactéries et les actinomycètes. Quelques pathogènes ont aussi été quantifiés pour le suivi de l'évolution de la qualité sanitaire. L'effet global du type de compost sur l'évolution microbienne a été l'effet sensiblement inhibiteur du compost inoculé avec *Bacillus sp.* CMAGI2 et du compost inoculé avec *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>. Le compost3 et le compost témoin n'ont pas montré cet effet, ainsi les souches agissent plus sur la flore microbienne lorsqu'elles sont inoculées seules.

Les activités enzymatiques doivent refléter la dynamique microbienne mais les types d'enzymes recherchées sont spécifiques aux microorganismes possédant le système enzymatique correspondant. Elles ne sont pas toujours des enzymes provenant du même genre microbien, ce qui rend difficile l'établissement d'une corrélation entre le dénombrement microbien et l'activité enzymatique. Les valeurs les plus élevées sont retrouvées au 112<sup>ème</sup> jour pour les activités cellulases et xylanases, quant à celles phosphatases, les activités différaient selon l'activité phosphatase recherchée acide ou alcaline et les changements ne sont pas déterminatifs d'un phénomène précis.

Ces souches bactériennes inoculées dans les andains ont réduit le temps de compostage pour permettre d'obtenir un compost plus ou moins stable comparé au témoin.

Quant aux essais réalisés avec les composts sur les cultures maraîchères, ils n'ont montré aucun effet significatif statistiquement entre eux, par rapport au témoin sur le taux de levée pour le haricot vert, ainsi que sur le rendement pour la tomate.

Toutefois, si les bénéfices des composts produits n'ont pas eu d'effet considérable sur les cultures, ils pourraient être bénéfiques au sol à long terme comme l'ont montré beaucoup d'auteurs (Diaz et Savage, 2007). Ainsi, le compost peut jouer un rôle important dans la durabilité de l'agriculture et de la gestion de nos terres.

En perspectives, les enzymes produites par les souches de *Bacillus* pourraient être étudiées pour une production optimale et être utilisées dans le domaine de la biotechnologie industrielle ou agricole. Elles pourraient aussi subir des tests pour leur potentielle utilisation directement dans la lutte biologique des phytopathogènes foliaires et du sol.

La détermination d'un inoculum optimal lors de la biodégradation serait aussi intéressante puisque si les souches de *Bacillus* sont des agents de biocontrôle, alors elles pourraient produire du compost suppressif aux maladies végétales. Des expériences de compostage peuvent être réalisées sur d'autres substrats en utilisant ces souches, afin d'y voir leur effet et de les tester sur des cultures. Ces souches bactériennes pourront aussi être mixées avec d'autres microorganismes du genre *Trichoderma* car beaucoup d'études ont montré l'efficacité de ce champignon lors du processus de compostage.

Un projet à long terme pourrait se définir, avec la réalisation d'un kit composé des souches bactériennes utilisées dans cette étude, voire d'autres, afin d'obtenir une dégradation optimale des déchets organiques, et permettre pourquoi pas la création d'une unité de compostage traitant les déchets ménagers.

## ***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Acharya, A., Joshi, D. R., Shrestha, K., & Bhatta, D. R. (2012). Isolation and screening of thermophilic cellulolytic Bacteria from compost piles. *Scientific World*, 10(10), 43-46.
2. Adam, A. (2008). Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes. Thèse de doctorat en Sciences, Université de Liège, Belgique. 165p.
3. Adelowo, O. O., & Fagade, O. E. (2012). Phylogenetic characterization, antimicrobial susceptibilities, and mechanisms of resistance in bacteria isolates from a poultry waste-polluted river, southwestern Nigeria. *Turk. J. Biol.*, 36, 37-45.
4. Agnew, J. M., & Leonard, J. J. (2003). The physical properties of compost. *Compost Science & Utilization*, 11(03), 238-264.
5. Ahmad, R., Jilani, G., Arshad, M., Zahir, Z. A., & Khalid, A. (2007). Bio-conversion of organic wastes for their recycling in agriculture: an overview of perspectives and prospects. *Annals of microbiology*, 57(4), 471-479.
6. Ahmed, I., Yokota, A., & Fujiwara, T. (2007). Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57, 1117-1125.
7. Albrecht, R. (2007). *Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique*. Thèse Spécialité: Biosciences de l'environnement, Université Paul Cezanne Aix Marseille, Faculté des sciences et techniques, Marseille. 189 p.
8. Albrecht, R., Le Petit, J., Calvert, V., Terrom, G., & Périssol, C. (2010). Changes in the level of alkaline and acid phosphatase activities during green wastes and sewage sludge co-composting. *Bioresource Technology*, 101, 228–233.
9. Alef, K., & Nanniperi, P. (1995). Enzymes activities. In K. Alef, & P. Nanniperi, *Methods in applied soil microbiology and biochemistry* (pp. 311-373). Elsevier.
10. Almoneafy, A. A., Xie, G. L., Tian, W. X., Xu, L. H., Zhang, G., & Ibrahim, M. (2012). Characterization and evaluation of *Bacillus* isolates for their potential plant growth and biocontrol activities against tomato bacterial wilt. *African Journal of Biotechnology*, 11(28), 7193-7201.

11. **Ariffin, H., Abdullah, N., Umi Kalsom, M. S., Shirai, Y., & Hassan, M. A. (2006).** Production and characterisation of cellulase by *Bacillus pumilus* EB3. *International Journal of Engineering and Technology*, 03(01), 47-53.
12. **Arnaud, A., & Guiraud, J. P. (1993).** Le métabolisme microbien. In R. Scriban, *Biotechnologie (4e édition)*. Technique & Documentation, Lavoisier, Paris. pp. 59-180.
13. **Arnaud, P. (1990).** *Cours de chimie organique*. eds. Dunod. 521 p.
14. **Arnou, L. E. (1937).** Colorimetric determination of the components of 3,4-dihydroxyphenylalanine tyrosine mixtures. *J. Biol. Chem.*, 118, 531-537.
15. **Attrassi, B., Krimou, D., & Mrabet, L. (2007).** Etude de la valorisation agronomique des composts des déchets ménagers. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.*, 01, 23-30.
16. **Awopetu, B. A., Bakare, M. K., & Odeyemi, O. (2015).** Studies on the physico-chemical and microbiological parameters associated with composting of brewer's spent grains using different activators. *African Journal of Microbiology Research*, 09(01), 6-16.
17. **Azarmi, R., Giglou, M. T., & Taleshmikail, R. D. (2008).** Influence of vermicompost on soil chemical and physical properties in tomato (*Lycopersicum esculentum*) field. *African Journal of Biotechnology*, 7(14), 2397-2401.
18. **Bâ, K. (2013).** *Contribution à l'étude des amylases du sorgho et leurs utilisations dans la transformation des produits amylicés*. Thèse en sciences agronomiques et ingénierie biologique, Université de Liège , Gembloux Agro-Biotech, Belgique, 148 p.
19. **Baakza, A., Vala, A. K., Dave, B. P., & Dube, H. C. (2004).** A comparative study of siderophore production by fungi from marine and terrestrial habitats. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 311, 1-9.
20. **Balachandar, D. (2012).** Biofertilizers-What next? *J. Biofertil. Biopestici.*, 3(04), 1-1.
21. **Bari, Q. H., & Koenig, A. (2001).** Effect of air recirculation and reuse on composting of organic solid. *Resources, Conservation and Recycling*, 33, 93-111.
22. **Beck-Friis, B., Smars, S., Jonsson, H., & Kirchmann, H. (2001).** Gaseous emissions of carbon dioxide, ammonia and nitrous oxide from organic household waste in a compost reactor under different temperature regimes. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 78(04), 423-430.

23. **Beffa, T., Blanc, M., & Aragno, M. (1996b).** Obligately and facultatively autotrophic, sulfur- and hydrogen-oxidizing thermophilic bacteria isolated from hot composts. *Arch. Microbiol.*, 165, 34-40.
24. **Beffa, T., Blanc, M., Lyon, P. F., Vogt, G., Marchiani, M., Fisher, J. L., & Aragno, M. (1996c).** Isolation of *Thermus* strains from hot composts (60 to 80°C). *Appl. Env. Microbiol.*, 62(05), 1723-1727.
25. **Beffa, T., Blanc, M., Marilley, J., Fischer, I. L., Lyon, P., & Aragno, M. (1996a).** Taxonomic and metabolic microbial diversity during composting. In M. De bertoldi, P. Sequi, B. Lemmer, & T. Papi , *The science of composting* (pp. 149-161). London: Chapman and Hall.
26. **Beneduzi, A., Peres, D., Vargas, L. K., Zanettini, M. B., & Passaglia, L. P. (2008).** Evaluation of Genetic Diversity and Plant Growth Promoting Activities of Nitrogen-Fixing Bacilli Isolated from Rice Fields in South Brazil. *Appl. Soil Ecol.*, 39(03), 311-320.
27. **Bernal, M. P., Paredes, C., Sanchez-Monedero, M. A., & Cegarra, J. (1998).** Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology*, 63, 91-99.
28. **Bertrand, S. (2009).** *Les sidérophores de Scedosporium apiospermum : identification, synthèse et applications.* Thèse de doctorat Spécialité: Chimie des Biomolécules - Synthèse, Structure et Réactivité, Université d'Angers, UFR de Pharmacie et Ingénierie de la Santé d'Angers, Angers. 229 p.
29. **Bhardwaj, K. R., & Gaur, A. C. (1985).** *Recycling of organic wastes.* New Delhi.
30. **Bolta, S. V., Mihelic, R., Lobnik, F., & Lestan, D. (2003).** Microbila community structure during composting with and without mass inocula. *Compost Science and Utilization*, 11(01), 6-15.
31. **Border, D. (2002).** *Processes and plant for waste composting and other aerobic treatment.* R&D project P1-311 Composting consultancy. Cambridgeshire: Environment agency.
32. **Brar, S. K., Sarma, S. J., & Chaabouni, E. (2012).** Shelf-life of biofertilizers: an accord between formulations and genetics. *J. Biofertil. Biopestici.*, 3(5), 1-2.
33. **Browne, C. A. (1993).** The spontaneous heating and ignition of hay and other agricultural products. *Science*, 77, 223-229.

34. **Bugg, T. D., Ahmad, M., Hardiman, E. M., & Singh, R. (2011).** The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation. *Current Opinion in Biotechnology*, 22, 394-400.
35. **Cabanas-Vargas, D. D., & Stentiford, E. I. (2006).** Oxygen and CO<sub>2</sub> profiles and methane formation during the maturation phase of composting. *Compost science and utilization*, 14(2), 86-89.
36. **Camara, M. (2012).** Contribution à l'étude de la maladie virale du jaunissement et de l'enroulement en cuillère des feuilles de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) causée par le *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV), dans la zone maraîchère des Niayes de Dakar. Thèse d'Etat ès Sciences Naturelles, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop. 141 pages.
37. **Camara, M., MBaye, A. A., Samba, S. N., Gueye, T., Noba, K., Diao, S., & Cilas, C. (2013).** Etude de la productivité et de la sensibilité de diverses variétés de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) à la virose du jaunissement et de l'enroulement en cuillère des feuilles au Sénégal. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(06), 2504-2512.
38. **Cavalcante, L. F., Cavalcante, I. L., & Dias Dos Santos, C. (2008).** Micronutrient and sodium foliar contents of yellow passion plants as a function of biofertilizers. *Fruits*, 63(01), 27-36.
39. **Chakroune, K., Bouakka, M., & Hakkou, A. (2005).** Incidence de l'aération sur le traitement par compostage des sous-produits du palmier dattier contaminés par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. *Can. J. Microbiol.*, 51, 69-77.
40. **Chang, Y. (1967).** The fungi of wheat straw compost. II. Biochemical and physiological studies. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 50, 649-666.
41. **Charnay, F. (2005).** Compostage des déchets urbains dans les pays en voie de développement: élaboration d'une démarche méthodologique pour une production pérenne de compost. Thèse spécialité Chimie et Microbiologie de l'eau, Université de Limoges. 229 pages.
42. **Cho, K. M., Sun, M. L., Renukaradhya, K. M., Shah, M. A., Devaiah, M. K., Jong, M. K., . . . Yun, H. D. (2008).** Culture-independent analysis of microbial succession during composting of swine slurry and mushroom cultural wastes. *J. Microbial. Biotechnol.*, 18(12), 1874-1883.

43. **Claus, D., & Berkeley, R. (1986).** Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174. In P. Sneath, N. Mair, M. Sharpe, & J. Holt (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Vol. 02, pp. 1105-1139). Baltimore: Williams and Wilkins.
44. **Dainty, R., Shaw, B., Harding, C., & Vichanie, S. (1979).** The spoilage of vacuum-packaged beef by cold tolerant bacteria. *Tech. Ser. Soc. Appl. Bacteriol.*, 13, 88-100.
45. **Davis, C. L., Donkin, C. J., Hinch, S. A., & Germishuizen, P. (1992).** The microbiology of pine bark composting, an electron-microscope and physiological study. *Bioresour. Technol.*, 40, 195-204.
46. **de Bertoldi, M., & Zucchini, F. (1986).** Composting of organics residues. (D. L. Wise, Ed.) *Bioenvironmental Systems*, 3, 95-141.
47. **de Bertoldi, M., Vallini, G., & Pera, A. (1983).** The biology of composting: a review. *Waste Management & Research*, 01, 157-176.
48. **de Figueirêdo, V. R., Martos, E. T., de Siqueira, F. G., Maciel, W. P., da Silva, R., Rinker, D. L., & Souza Dias, E. (2013).** Microbial inoculation during composting improves productivity of sun mushroom (*Agaricus subrufescens* Peck). *African Journal of Microbiology Research*, 07(35), 4430-4434.
49. **Dia, M. L. (2012).** *Impact des nouvelles normes sanitaires sur la structure de la filière d'exportation horticole sénégalaise*. Thèse en Sciences Economiques, Université Cheikh Anta Diop, Faculté des Sciences Juridiques, Politiques, Economiques et de Gestion, Dakar. 231 p.
50. **Diallo, N. D., MBengue, M., MBaye, C. T., & Tine, E. (2015).** Isolement, identification et caractérisation d'une souche de *Bacillus* sp à partir d'un compost. *Afrique Science*, 11(04), 180-190.
51. **Diaz, L. F. (2007).** Introduction. In L. F. Diaz, M. de Bertoldi, W. Bidlingmaier, & W. Stentiford, *Waste Management Series n°8, Compost Science and Technology*. Elsevier. pp.1-5.
52. **Diaz, L. F., & de Bertoldi, M. (2007).** History of composting. In L. F. Diaz, M. de Bertoldi, W. Bidlingmaier, & W. Stentiford, *Waste Management Series n°8, Compost Science and Technology*. Elsevier. pp. 7-24.
53. **Diaz, L. F., & Savage, G. M. (2007).** Factors that affect the process. In L. F. Diaz, M. de Bertoldi, W. Bidlingmaier, & W. Stentiford, *Waste Management Series n°8, Compost Science and Technology*. Elsevier. pp.49-65.

54. **Diaz, L. F., Savage, G. M., Eggerth, L. L., & Chiumenti, A. (2007).** Systems Used in Composting. In L. F. Diaz, M. de Bertoldi, W. Bidlingmaier, & W. Stentiford, *Waste Management Series n°8, Compost Science and Technology*. Elsevier. pp.67-87.
55. **Dix, N. J., & Webster, J. (1995).** *Fungal ecology*. Cambridge: Chapman & Hall eds.
56. **Dougherty, M. J., D'haeseleer, P., Hazen, T. C., Simmons, B. A., Adams, P. D., & Hadi, M. Z. (2012).** Glycoside hydrolases from a targeted compost metagenome, activity-screening and functional characterization. *BMC Biotechnol.*, 12, 38.
57. **DPEE. (2013).** *Politique agricole, productivité et croissance à long terme au Sénégal*. Direction de la Prévision et des Etudes Economiques. Ministère de l'Economie et des Finances. Document d'étude n°25. 66 pages.
58. **Drapeau, A. J., & Jankovic, S. (1977).** *Manuel de microbiologie de l'environnement*. OMS. Genève.
59. **Eivazi, F., & Tabatabai, M. A. (1977).** Phosphatases in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 9, 167-172.
60. **Eivazi, F., & Tabatabai, M. A. (1988).** Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 20(05), 601-606.
61. **Elumalai, L. K., & Rengasamy, R. (2012).** Synergistic Effect of Seaweed Manure and Bacillus sp. on Growth and Biochemical Constituents of *Vigna radiata* L. *J. Biofertil Biopestici*, 03(03), 1-7.
62. **Epstein, E. (1997).** *The science of composting*. Lancaster, USA: Technomic Publishing Company,.
63. **Eriksson, K. E., Petersson, B., & Westermak, U. (1974).** Oxidation: an important enzyme reaction in fungal degradation of cellulose. *FEBS Letters*, 49(02), 282-285.
64. **Ezelin De Souza, K. (1998).** *Contribution à la valorisation de la bagasse par compostage biologique et chimique. Valeur agronomique des composts et propriétés suppressives vis-à-vis du champignon phytopathogène Fusarium solani*. Thèse de doctorat : sciences biologiques fondamentales et appliquées, psychologie, INP Toulouse, 390 p.
65. **Fang, M., Wong, J. C., Ma, K. K., & Wong, M. H. (1999).** Co-composting of sewage sludge and coal fly ash: nutrient transformations. *Bioresource Technology*, 67, 19-24.

66. **FAO. (2005).** *Méthodes de compostage au niveau de l'exploitation agricole.* (R. V. Misra, R. N. Roy, & H. Hiraoka, Édés.) Rome, Italie: Food and Agriculture Organization.
67. **Finstein, M. S., & Morris, M. L. (1975).** Microbiology of municipal solid waste composting. *Adv. Appl. Microbiol.*, 19, 113-151.
68. **Finstein, M. S., Miller, F. C., Strom, P. F., MacGregor, S. T., & Psarianos, K. M. (1983).** Composting ecosystem management for waste treatment. *Biotechnology*, 01, 347-353.
69. **Fitzpatrick, G. E., Duke, E. R., & Klock-Moore, K. A. (1998).** Use of compost products for ornamental crop production: research and grower experiences. *HortScience*, 33(6), 941-944.
70. **Francou, C. (2003).** *Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains: Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage - Recherche d'indicateurs pertinents.* Thèse, Institut National de Recherche Agronomique, Paris, 244 p.
71. **Franke-Whittle, I. H., Confalonieri, A., Insam, H., Schlegelmilch, M., & Korner, I. (2014).** Changes in microbial communities during co-composting of digestates. *Waste Management*, 34, 632-641.
72. **Gautam, S. P., Bundela, P. S., Pandey, A. K., Jamaluddin, Awasthi, M. K., & Sarsalya, S. (2012).** Diversity of cellulolytic microbes and the biodegradation of municipal solid waste by a potential strain. *International Journal of Microbiology*, 2012, 1-12.
73. **Ghazifard, A., Kermanshahi, R. K., & Far, Z. E. (2001).** Identification of thermophilic and mesophilic bacteria and fungi in Esfahan (Iran) municipal solid waste compost. *Waste Manage Res.*, 19, 257-261.
74. **Ghose, T. K. (1987).** Measurement of cellulase activities. *Pure & App. Chem.*, 59(02), 257-268.
75. **Gilden, R. C., Huffling, K., & Sattler, B. (2010).** Pesticides and health risks. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal Nurs.*, 39, 103-110.
76. **Glickmann, E., & Dessaux, Y. (1995).** Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by phytopathogenic Bacteria. *Appl. Env. Microbiol.*, 61(02), 793-796.

77. **Golueke, C. G. (1991).** Principles of composting. In The staff of BioCycle journal of waste recycling, *The art and science of composting*. Pennsylvania, USA: The JG Press Inc. pp. 14-27.
78. **Golueke, C. G., Card, B. J., & McGauhey, P. H. (1954).** A critical evaluation of inoculums in composting . *Appl. Microbiol.*, 02, 45-53.
79. **Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983).** Ecology of Actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37, 189-216.
80. **Gordon, S. A., & Weber, R. P. (1951).** Colorimetric Estimation of Indoleacetic acid. *Plant Physiol.*, 26(01), 192-195.
81. **Goyal, S., Dhull, S. K., & Kapoor, K. K. (2005).** Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity. *Bioresource Technology*, 96, 1584-1591.
82. **Guan, J., Spencer, J. L., Sampath, M., & Devenish, J. (2004).** The fate of a genetically modified *Pseudomonas* strain and its transgene during the composting of poultry manure. *Can. J. Microbiol.*, 50(6), 415-421.
83. **Guiraud, J. P. (1998).** *Microbiologie alimentaire. série agro-alimentaire*. éditions Dunod. 652 p.
84. **Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., & Boudabous, A. (2001).** Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 80, 217-225.
85. **Haug, R. T. (1993).** *The practical handbook of composting engineering*. Floride, Boca Raton, USA: CRC Press.
86. **Himmel, M. E., Ding, S. Y., Johnson, D. K., Adney, W. S., Nimlos, M. R., Brady, J. W., & Foust, T. D. (2007).** Biomass recalcitrance: Engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science*, 315, 804.
87. **Hoitink, A. J., & Fahy, P. C. (1986).** Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 24, 93-114.
88. **Hoorman, J. J., & Islam, R. (2010).** Understanding soil microbes and nutrient recycling. *Fact sheet: Agriculture and natural resources*, p. 5.
89. **Houot, S., Francou, C., Vergé-Leviel, C., Michelin, J., Bourgeois, S., Linères, M., . . . Poitrenaud, M. (2003).** Valeur agronomique et impacts environnementaux de composts d'origine urbaine : variation avec la nature du compost. *Les dossiers de l'environnement de l'INRA n°25*, pp. 107-123.

90. **Howard, A. (1933).** The waste products of agriculture : their utilization as humus. *J.Roy.Soc. Arts*, 82, 84-121.
91. **Howard, A. (1935).** The manufacture of humus by the Indore process. *J. Roy. Soc. Arts*, 84(4331), 26-59.
92. **Howard, A., & Wad, Y. D. (1931).** *The waste products of agriculture*. London, UK: Oxford University Press.
93. **Hu, X., Fan, W., Han, B., Liu, H., Zheng, D., Li, Q., . . . Yuan, Z. (2008).** Complete Genome Sequence of the Mosquitocidal Bacterium *Bacillus sphaericus* C3-41 and Comparison with Those of closely Related *Bacillus* Species. *J. Bacteriol.*, 190(08), 2892-2902.
94. **Huang, D. L., Zeng, G. M., Feng, C. L., Hu, S., Lai, C., Zhao, M. H., . . . Liu, H. L. (2010).** Changes of microbial population structure related to lignin degradation during lignocellulosic waste composting. *Bioresource Technology*, 101, 4062-4067.
95. **Insam, H., & de Bertoldi, M. (2007).** Microbiology of the composting process. In L. F. Diaz, M. de Bertoldi, W. Bidlingmaier, & W. Stentiford, *Waste Management Series n°8, Compost Science and Technology*. Elsevier. pp.25-48.
96. **Jeangille, P. (1995, Décembre).** Compost:un guide pratique. *Bulletin africain du RABEDE(N5)*, p. 43.
97. **Jimenez, E. I., & Garcia, V. P. (1991).** Composting of domestic refuse and sewage sludge:I. Evolution of temperature, pH, C/N ratio and cation-exchange capacity. *Resources Conservation and Recycling*, 6, 45-60.
98. **Joshi, D., Hooda, K. S., Bhatt, J. C., Mina, B. L., & Gupta, H. S. (2009).** Suppressive effects of composts on soil-borne and foliar diseases of French bean in the field in the western Indian Himalaya. *Crop Protection*, 28, 508-515.
99. **Jouraphy, A., Amir, S., El Gharous, M., Revel, J. C., & Hadifi, M. (2005).** Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting of sewage sludge and green plant waste. *Int. Biodeter. Biodegradation*, 56, 101-108.
100. **Jukes, T. H., & Cantor, C. R. (1969).** Evolution of protein molecules. In H. Munro (Ed.), *Mammalian protein metabolism* (pp. 21-132). New York: Academic Press.
101. **Jurado, M. M., Suarez-Estrella, F., Lopez, M. j., Vargas-Garcia, M. C., Lopez-gonzalez, J. A., & Moreno, J. (2015).** Enhanced turnover of organic matter fractions by

- microbial stimulation during lignocellulosic waste composting. *Bioresource Technology*, 186, 15-24.
102. **Jurado, M., Lopez, M. J., Suarez-Estrella, F., Vargas-Garcia, M. C., Lopez-Gonzalez, J. A., & Moreno, J. (2014).** Exploiting composting biodiversity: Study of the persistent and biotechnologically relevant microorganisms from lignocellulose-based composting. *Bioresource Technology*, 162, 283-293.
103. **Kandeler, E. (2007).** Part II: soil biota. Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. In A. P. Eldor (Ed.), *Soil microbiology, ecology and biochemistry (third edition)* (pp. 53-83).
104. **Kapetanios, E., Loizidou, M., & Valkanas, G. (1993).** Compost production from greek domestic refuse. *Bioresource Technology*, 44, 13-16.
105. **Kasana, R. C., Salwan, R., Dhar, H., Dutt, S., & Gulati, A. (2008).** A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Curr. Microbiol.*, 57, 503-507.
106. **Kausar, H., Ismail, M., Saud, H. M., Othman, R., & Habib, S. (2013).** Use of lignocellulolytic microbial consortium and pH amendment on composting efficacy of Rice straw. *Compost Science and Utilization*, 21, 121-133.
107. **Keikothaile, B. M., & Spanoghe, P. (2011).** Pesticides residues in fruits and vegetables. In M. Prof. Stoytcheva (Ed.), *Pesticides, Formulations, Effects, Fate*. In tech. pp. 243-252.
108. **Kettler, C. (2000).** *Evaluation comparative de la valeur fertilisante de deux composts d'ordures ménagères*. Thèse en Maitre ès science, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Département des sols et de génie agroalimentaire, Université Laval, Canada. 81 p.
109. **Kirby, R. (2006).** Actinomycetes and lignin degradation. *Advances in Applied Microbiology*, 58, 125-168.
110. **Kogel-Knabner, I. (2002).** The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 139-162.
111. **Ladd, J. N., & Butler, H. A. (1972).** Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 19-30.

112. **Larbi, M. (2006).** *Influence de la qualité des composts et de leurs extraits sur la protection des plantes contre les maladies fongiques.* Université de Neuchatel, Faculté des Sciences. Suisse: Thèse de Doctorat es sciences-Université de Neuchatel.
113. **Le Goff, O., Bru-Adan, V., Bacheley, H., Godon, J. j., & Wery, N. (2010).** The microbial signature of aerosols produced during the thermophilic phase of composting. *J. Appl. Microbiol.*, 108, 325-340.
114. **LeCompt, M. (1965).** L'expérimentation et les engrais:les bases de l'expérimentation et les modes de calcul statistique. *Bulletin des engrais*, 91 pages.
115. **Lee, P., Urowitz, M., Bookman, A., Koehler, B., Smythe, H., Gordon, D., & Ogryzlo, M. (1977).** Systemic Lupus erythematosus. *Q. J. Med.*, 46(01), 1-32.
116. **Lemunier, M., Francou, C., Rousseaux, S., Houot, S., Dantigny, P., Piveteau, P., & Guzzo, J. (2005).** Long-term survival of pathogenic and sanitation indicator bacteria in experimental biowaste composts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(10), 5779-5786.
117. **Longieras, A. (2005).** *Mise au point d'un milieu solide inerte pour l'étude de la biodégradation des polymères dans le compost.* Thèse de Doctorat spécialité: chimie des matériaux, Université de Reims champagne Ardenne, UFR Sciences exactes et naturelles.
118. **Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Lewis Farr, A., & Randall, R. J. (1951).** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
119. **MacCready, J. S., Elbert, N. J., Quinn, A. B., & Potter, B. A. (2013).** A assessment of bacterial population in a static windrow compost pile. *Compost Science & Utilization*, 21, 110-120.
120. **Maidak, B. L., Cole, J. R., Lilburn, T. G., Parker Jr, C. T., Saxman, P. R., Farris, R. J., . . . Tiedje, J. M. (2001).** The RDP-II (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Research*, 29(01), 173-174.
121. **McCarthy, A. J., & Williams, S. T. (1992).** Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment – a review. *Gene*, 15, 189-192.
122. **Mehta, C. M., Palni, U., Franke-Whittle, I. H., & Sharma, A. K. (2014).** Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. *Waste Management*, 34, 607-622.

123. **Meunchang, S., Panichsakpatana, S., & Weaver, R. W. (2005).** Co-composting of filter cake and bagasse; by-products from a sugar mill. *Bioresource Technology*, *96*, 437-442.
124. **Miller, G. L. (1959).** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chem.*, *31*(03), 426-428.
125. **Moine, C. (2005).** *Extraction, caractérisation structurale et valorisation d'une famille d'hémicelluloses du bois: Obtention de matériaux plastiques par modification des xylandes.* Thèse en chimie appliquée-chimie des substances naturelles, Faculté des sciences et techniques, Université de Limoges, Limoges, 239 p.
126. **Mrabet, L., Belghyti, D., Loukili, A., & Attarassi, B. (2011).** Etude de l'effet du compost des déchets ménagers sur l'amélioration du rendement du maïs et de la laitue. *Afrique Science*, *07*(02), 74-84.
127. **Mustin, M. (1987).** *Le compost, gestion de la matière organique.* Paris, France: F. Dubusc eds.
128. **Muthuvelayudham, R., & Viruthagiri, T. (2006).** Fermentative production and kinetics of cellulase protein on *Trichoderma reesei* using sugarcane bagasse and rice straw. *African Journal of Biotechnology*, *5*(20), 1873-1881.
129. **Nakasaki, K., Shoda, M., & Kubota, H. (1985).** Effect of Temperature on Composting of Sewage Sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, *50*(06), 1526-1530.
130. **Negro, M. J., Solano, M. L., Ciria, P., & Carrasco, J. (1999).** Composting of sweet sorghum bagasse with other wastes. *Bioresource Technology*, *67*, 89-92.
131. **Neilands, J. B. (1981).** Microbial iron compounds. *Annu. Rev. Biochem.*, *50*, 715-731.
132. **Noble, R., & Coventry, E. (2005).** Suppression of soil-borne plant diseases with composts: A review. *Biocontrol Science and Technology*, *15*(01), 3-20.
133. **Nusbaumer, C., Job, D., & Aragno, M. (1996).** Etude de l'altération par les champignons de l'état physico-chimique des composés lignocellulosiques dans un processus naturel de compostage. *Mycologia Helvetica*, *8*, 51-67.
134. **Ozaki, K., & Ito, S. (1991).** Purification and properties of an acid endo-B-1-4-glucanase from *Bacillus* sp. KSM-330. *Journal of General Microbiology*, *137*, 41-48.

135. **Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., & Soccol, V. T. (2000).** Biotechnological potential of agro-industrial residues. I:sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 74, 69-80.
136. **Pavan, K., Yadav, P., & Shanker, A. (2013).** Identification of opportunistic pathogenic bacteria in drinking water samples of different rural health centers and their clinical impacts on humans. *Biomed Research International*, 2013, 1-10.
137. **Philip, J. C., Bamforth, S. M., Singleton, I., & Atlas, R. M. (2005).** Environmental pollution and restoration: a role for bioremediation. In R. M. Atlas, & J. Philip, *Bioremediation: applied microbial solutions for real-world environmental cleanup*. Washington, DC: ASM Press. pp.1-48.
138. **PIP. (2011).** *Itinéraire technique : Haricot vert (Phaseolus vulgaris)*. Document sur les itinéraires techniques et les bonnes pratiques phytosanitaires : Union Européenne. 98 pages.
139. **Potgieter, J. J. (2012).** *Compostability of municipal and industrial wastewater sludge : physical, chemical and biochemical transformations and end-product characteristics*. Master of Science degree, Faculty of natural and agricultural sciences, Department of plant production and soil science. Pretoria: University of Pretoria.
140. **Pourquié, J., & Vandecasteele, J. P. (1993).** Conversion de la biomasse lignocellulosique par hydrolyse enzymatique et fermentation. Dans R. Scriban, *Biotechnologie (4e édition)*. Technique & Documentation, Lavoisier, Paris. pp. 677-700.
141. **Priest, F. G. (1977).** Extracellular enzyme synthesis in the genus *Bacillus*. *Bacteriological Reviews*, 41(03), 711-753.
142. **Priest, F., Goodfellow, M., & Todd, C. (1988).** A numerical classification of the genus *Bacillus*. *J. Gen. Microbiol.*, 134, 1847-1882.
143. **Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2005).** *Biology of plants*. New York: Freeman and Co.
144. **Rebollido, R., Martinez, J., Aguilera, Y., Melchor, K., Koerner, L., & Stegmann, R. (2008).** Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste . *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 6, 61-67.
145. **Reganold, J. P., & Harsh, J. B. (1985).** Expressing cation exchange capacity in milliequivalents per 100 grams and in SI units. *Journal of agronomic education*, 14(02), 84-90.

146. **Richard, T. L. (2005).** Compost. In H. Hillel (Ed.), *Encyclopedia of soils in the environment*. Elsevier. Oxford, U.K. vol. 01, pp. 294-301.
147. **Richard, T. L., Hamelers, H., Veeken, A., & Silva, T. (2002).** Moisture relationships in composting processes. *Compost Science and Utilization*, 10, 286-302.
148. **Ryckeboer, J., Mergaert, J., Coosemans, J., Deprins, K., & Swings, J. (2003a).** Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 127-137.
149. **Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., De Clerq, D., Coosemans, J., . . . Swings, J. (2003b).** survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology*, 53(4), 349-410.
150. **Sadasivam, K. V., Mathur, R. S., Magu, S. P., & Gaur, A. C. (1981).** Enrichment of compost with Azotobacter and phosphorus solubilizer. *Zbl. Bakl. 11 Abt.*, 136, 628-630.
151. **Sagar, K., Bashir, Y., Phukan, M. M., & Konwar, B. K. (2013).** Isolation of lipolytic Bacteria from waste contaminated soil: a study with regard to process optimization for lipase. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2(10).
152. **Saitou, N., & Nei, M. (1987).** The neighbor-joined method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4, 405-425.
153. **Schinner, F., & von Mersi, W. (1990).** Xylanase, cm-cellulase and invertase activity in soil: an improved method. *Soil Biol. Biochem.*, 22(04), 511-515.
154. **Shell, J., & Boyal, G. L. (1969).** *Composting dewatered sewage sludge*. Washington DC.: Bureau of solid waste management, Env. Health Service, Env. Control Administration, U.S. Depart. of health, Education and Welfare.
155. **Shewale, J. G. (1982).**  $\beta$ -glucosidase: its role in cellulase synthesis and hydrolysis of cellulose. *Int. J. Biochem.*, 14, 435-443.
156. **Shewan, J. (1977).** The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. *In proceedings of conference on the handling. Processing and marketing of tropical fish* (pp. 51-56). London: Tropical Products Institute.
157. **Silva, C. F., Azevedo, R. S., Braga, C., da Silva, R., Souza Dias, E., & Schawn, R. F. (2009).** Microbial diversity in a bagasse-based compost prepared for

- the production of *Agaricus brasiliensis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 590-600.
158. **Singh , U. P., Singh, H. B., & Singh, R. B. (1980).** The fungicidal effect of neem (*Azadirachta indica*) extracts on some soil-borne pathogens of gram (*Cicer arietinum*). *Mycologia*, 72, 1077-1093.
  159. **Singh, J., Batra, N., & Sobti, R. (2004).** Purification and characterisation of alkaline cellulase produced by a novel isolate bacillus sphaericus JS1. *Journal of Industrial microbiology and Biotechnology*, 31, 51-56.
  160. **Smárs, S., Gustafsson, L., Beck-Friis, & Jonsson, H. (2002).** Improvement of the composting time for household waste during an initial low pH phase by mesophilic temperature control. *Bioresource Technology*, 84(3), 237-241.
  161. **Soudi, B. (2005).** Le compostage des déchets de culture sous serre et du fumier. *Bulletin d'information du PNTTA. n°129, 6 pages.*
  162. **Stackebrandt, E., Rainey, F. A., & Ward-Rainey, N. L. (1997).** Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 479-491.
  163. **Steel, H., de la Pena, E., Fonderie, P., Willekens, K., Borgonie, G., & Bert, W. (2009).** Nematode succession during composting and the potential of the nematode community as an indicator of compost maturity. *Pedobiologia*, 53, 181-190.
  164. **Stentiford, E. I. (1996).** Diversity of composting systems. In H. A. Hoitink, & H. M. Keener, *Science and engineering of composting* (pp. 95-100). the Ohio State University: Blackie Academic and professional.
  165. **Stevenson, F. J. (1994).** *Humus chemistry. Genesis, composition, reactions.* eds John Wiley and sons,inc. 350 p.
  166. **Strauss, M. L., Jolly, N. P., Lambrechts, M. G., & van Rensburg, P. (2001).** Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-Saccharomyces wine yeasts. *J.Appl. Microbiol.*, 91, 182-190.
  167. **Strom, P. F. (1985).** Effect of temperature on bacterial species diversity in thermophilic solid-waste composting. *Applied and Environmental Microbiology*, 50(4), 899-905.
  168. **Stutzenberger, F. J., Kaufman, A. J., & Lossin, R. D. (1970).** Cellulotic activity in municipal solid waste composting. *Can. J. Microbiol.*, 16, 553-560.

169. **Sundberg, C., Smars, S., & Jonsson, H. (2004).** Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. *Bioresource Technology*, *95*, 145-150.
170. **Sylvester-Bradley, R., Asakawa, N., La Torraca, S., Magalhaes, F. M., Oliveira, L., & Pereira, R. M. (1982).** Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. *Acta Amazônica*, *12*, 15-22.
171. **Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1969).** Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol Biochem*, *01*, 301-307.
172. **Termoshuizen, A. J., Moolenaar, S. W., Veeken, A. M., & Blok, W. J. (2004).** The value of compost. *Reviews in Environmental Science & Bio/Technology*, *3*, 343-347.
173. **Théodore, M., & Toribio, J. A. (1995).** Suppression of *Pythium aphanidermatum* in composts prepared from sugarcane factory residues. *Plant and Soil*, *177*(02), 219-223.
174. **Tiquia, S. M. (2002a).** Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting. *Journal of Applied Microbiology*, *92*, 764-775.
175. **Tiquia, S. M., Wan, H. C., & Tam, N. F. (2002b).** Microbial population dynamics and enzyme activities during composting. *Compost Science & Utilization*, *10*(02), 150-161.
176. **Tittarelli, F., Petruzzelli, G., Pezzarossa, B., Civilini, M., Benedetti, A., & Sequi, P. (2007).** Quality and agronomic use of compost. In L. F. Diaz, M. de Bertoldi, W. Bidlingmaier, & W. Stentiford, *Waste Management Series n°8, Compost Science and Technology* (pp. 119-157). Elsevier.
177. **Tomati, U., Galli, E., Pasetti, L., & Volterra, E. (1995).** Bioremediation of olive-mill waste-waters by composting. *Waste Manag. Res.*, *13*, 509-518.
178. **Toribio, J. A. (1989).** *Suppression du Sclerotium rolfsii Sacc. par amendement organique du sol, Ministère de l'Agriculture.* Thèse de Docteur Ingénieur, ENSA Montpellier, 121 p.
179. **Torsvik, V. L. (1980).** Isolation of bacterial DNA from soil. *Soil Biol. Biochem.*, *12*, 15-21.

180. **Tuomela, M., Vikman, M., Hattaka, A., & Itavaara, M. (2000).** Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*, *72*, 169-183.
181. **Vargas-Garcia, M. C., Lopez, M. J., Suarez, F., & Moreno, J. (2005).** Laboratory study of inocula production for composting processes. *Bioresource Technology*, *96*, 797-803.
182. **Vargas-Garcia, M. C., Suarez-Estrella, F. F., Lopez, M. J., & Moreno, J. (2006).** Influence of microbial inoculation and co-composting material on the evolution of humic-like substances during composting of horticultural wastes. *Process Biochemistry*, *41*, 1438–1443.
183. **Vargas-Garcia, M. C., Suarez-Estrella, F., Lopez, M. J., & Moreno, J. (2007).** In vitro studies on lignocellulose degradation by microbial strains isolated from composting processes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *59*, 322-328.
184. **Vranova, V., Rejsek, K., & Formanek, P. (2013).** Proteolytic activity in soil: a review. *Applied Soil Ecology*, *70*, 23-32.
185. **Wade, C. S. (2003).** *L'utilisation des pesticides dans l'agriculture périurbaine et son impact sur l'environnement*. Thèse en pharmacie, Faculté de médecine, de Pharmacie et d'odonto-stomatologie, Département Pharmacie. Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal. 55 p.
186. **Waksman, S. A. (1932).** *Principles of soil microbiology*. Baltimore, Maryland, USA: Williams and Wilkins.
187. **Waksman, S. A., & Cordon, T. C. (1939).** Thermophilic decomposition of plant residues in composts by pure and mixed cultures of microorganisms. *Compost Sci. Util.*, *3*(4), 6-19.
188. **Wink, D. J. (2004).** Methods for the taxonomic description of the Actinobacteria. *Compendium of Actinobacteria*. University of Braunschweig, Braunschweig, Germany.
189. **Winker, S., & Woese, C. R. (1991).** A definition of the domain Archea, Bacteria, and Eucarya in terms of small subunit ribosomal RNA characteristics. *Syst. Appl. Microbiol.*, *13*, 161-165.

190. **Wood, T. M., & Bhat, K. M. (1988).** Methods for measuring cellulase activities. In M. A. Wood, & J. A. Kellogg, *Methods in Enzymology: Cellulose and Hemicellulose* (Vol. 160, pp. 87-112). Academic Press New York.
191. **Wu, S. J., Hu, Z. H., Zhang, L. L., Yu, X., & Chen, J. M. (2009).** A novel dichloromethane-degrading *Lysinibacillus sphaericus* strain wh22 and its degradative plasmid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 82, 731-740.
192. **Yeh, Y. F., Chang, S. C., Kuo, H. W., Tong, C. G., Yu, S. M., & Ho, T. H. (2013).** A metagenomic approach for the identification and cloning of an endoglucanase from rice straw compost. *Gene*, 519, 360-366.
193. **Yoon, L. W., Ngoh, G. C., & Chua, A. M. (2013).** Simultaneous production of cellulase and reducing sugar through modification of compositional and structural characteristic of sugarcane bagasse. *Enzyme and Microbial Technology*, 53, 250-256.
194. **Zeng, G., Yu, M., Chen, Y., Huang, D., Zhang, J., Huang, H., . . . Yu, Z. (2010).** Effects of inoculation with *Phanerochaete chrysosporium* at various time point on enzyme activities during agricultural waste composting. *Bioresource Technology*, 101, 222–227.
195. **Zmora-Nahum, S., Markovitch, O., Tarchitzky, J., & Chen, Y. (2005).** Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity. *Soil Biology & Biochemistry*, 37, 2109-2116.

## ***ANNEXES***

## ANNEXES

### ANNEXE 1:

#### **Milieu eau peptonée tamponnée:**

- Chlorure de sodium 5g/l
- Phosphate d'hydrogène disodique  $12\text{H}_2\text{O}$  9g/l
- Phosphate d'hydrogène monopotassique 1,50g/l
- Hydrolysate de caséine enzymatique 10g/l

Ajuster pH=  $7,0\pm 0,2$  puis stériliser à l'autoclave 20mn à  $120^\circ\text{C}$

#### **Milieu PCA:**

- Tryptone 5g/l
- Glucose 1g/l
- Extrait de levure 2,5g/l
- Agar 15g/l

pH =  $7,0\pm 0,2$ . Après stérilisation par autoclave 20mn à  $120^\circ\text{C}$ , 1ml d'une solution de cycloheximide 250  $\mu\text{g/ml}$  stérilisée par filtration est ajoutée au milieu.

#### **Milieu CGA:**

- Dextrose 20g/l
- Extrait de levure 5g/l
- Chloramphénicol 0,1g/l
- Agar 15g/l

Ajuster pH=  $6,6\pm 0,2$  puis stériliser à l'autoclave 20mn à  $120^\circ\text{C}$

#### **Milieu agar nutritif :**

- Extrait de bœuf 1g/L
- Extrait de levure 2g/l
- Peptone 5g/l
- Chlorure de sodium 5g/L
- Agar 15g/l

pH =  $6,8\pm 0,2$ . Après stérilisation par autoclave 20mn à  $120^\circ\text{C}$ , 1ml d'une solution de cycloheximide 250  $\mu\text{g/ml}$  stérilisée par filtration est additionnée au milieu.

#### **Milieu VRBL:**

- Peptone 7g/l

- Lactose 10g/l
- Chlorure de sodium 5g/l
- Extrait de levure 3g/l
- Selbiliaire n°3 1,5g/l
- Crystal violet 0,002g/l
- Rouge neutre 0,03g/l
- Agar 14g/l

Ajuster pH= 7,4±0,2 puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Ne pas autoclaver.

**Milieu TSN:**

- Peptone tryptique 10g/l
- NaCl 5g/l
- Extrait de viande 2g/l
- Extrait de levure 5g/l
- Chlorhydrate de cystéine 0,3g/l
- Agar 15g/l

Ajuster pH= 7,2±0,2 ; répartir en tubes (9 ml) puis stériliser à l'autoclave 20mn à 120°C

**Milieu BEA:**

- Tryptone 17g/l
- Peptone 3g/l
- Extrait de levure 5g/l
- Bile 10g/l
- NaCl 5g/l
- Esculine 1g/l
- Citrate de fer ammoniacal 0,5g/l
- Azide de sodium 0,15g/l
- Gélose 15g/l

Ajuster pH=7,2±0,2 puis stériliser à l'autoclave 20mn à 120°C

**Milieu pour Actinomycètes :**

- Phosphate bi-potassique 1 g
- L-Asparagine 1 g
- Glycérol 10 g
- \*Solution d'oligo-éléments 1 ml
- Gélose 20 g
- Eau distillée 1000 ml

Ajuster à un pH=7,2±0,2 et stériliser à l'autoclave 120°C pendant 20mn. 1ml d'une solution de cycloheximide 250 µg/ml stérilisée par filtration est additionnée au milieu.

\*Solution d'oligo-éléments :

Sulfate de zinc	1g
Sulfate de fer	1 g
Chlorure de manganèse	1 g
Eau distillée qsp	100 ml

**Bouillon RappaportVassiliadis**

- Peptone de soja 4,5 g
- Phosphate mono-potassique 1,260 g
- Phosphate di-potassique 0,180 g
- Chlorure de sodium 7,2 g
- Chlorure de magnésium 13,58 g
- Vert malachite 0,036g
- Eau distillée 1000 ml

Ajuster à un pH=5,2±0,2 ; répartir en tubes (10ml) et stériliser à l'autoclave 120°C pendant 20mn.

**Milieu Hektoen**

- Peptone de viande 12,0 g
- extrait de levure 3,0 g
- lactose 12,0 g
- saccharose 12,0 g
- salicine 2,0 g
- citrate de fer III et d'ammonium 1,50 g
- sels biliaires 9,0 g
- fuchsine acide 0,10 g
- Bleu de bromothymol 0,06g
- Chlorure de sodium 5,0g
- Thiosulfate de sodium 5,0g
- Gélose 15,0 g

Ajuster pH = 7,5±0,2 ; puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Ne pas autoclaver.

ANNEXE 2:

**Milieu A:**

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g

$\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,145 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,4 g

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  5 g

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,05 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,00125 g

agar 20 g

Le tout ajusté à pH 7.

Auteur : NDèye Diara DIALLO

## **Production de Compost de Bagasse et mesure de son efficacité sur deux cultures : haricot vert et tomate.**

### **Résumé**

L'ajout de microorganismes durant un processus de compostage a longtemps été pratiqué, et a permis d'améliorer la qualité du produit final, de raccourcir le temps de compostage. Le compost obtenu qui est utilisé comme engrais ou amendement au sol, est capable d'améliorer le rendement des cultures, ainsi que les propriétés du sol.

Dans cette étude, une souche bactérienne a été isolée d'un compost mature, ses caractères biochimiques, physiologiques et moléculaires ont été déterminés, et ont permis son identification comme étant une souche de *Bacillus sp.* CMAGI2. Cette nouvelle espèce, *Bacillus sp.* CMAGI2 et une autre souche de référence *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup>, ont été utilisées dans cette étude. Elles ont montré certaines capacités enzymatiques importantes durant un compostage à base de substrat d'origine agricole riche en composés lignocellulosiques. Cependant, seule *B. sp.* CMAGI2 a été capable d'agir en tant que bactérie promotrice de croissance des plantes. Ces deux souches ont été utilisées en tant qu'inoculum lors du compostage à base de bagasse de canne à sucre supplémenté de fumier de vache. Ce compostage a duré cinq mois et les paramètres physico-chimiques et biologiques ont été suivis. Les composts inoculés ont été mieux dégradés et ont montré de meilleurs caractères de maturité et de stabilité comparés au compost témoin. Les souches inoculées seules ont aussi montré un effet sensiblement inhibiteur sur les autres flores microbiennes présentes durant le processus de compostage, alors que le compost témoin et le compost mixte n'ont pas montré cet effet. Des essais agricoles ont été réalisés par rapport à un témoin (terreau) et les quatre composts produits n'ont montré aucune différence significative par rapport au témoin sur le rendement des cultures, malgré les différences de paramètres de maturité notées entre eux.

Somme toute, cette étude a montré que l'utilisation des souches de *Bacillus* pourrait s'avérer très intéressante lors d'un processus de biodégradation de matériel lignocellulosique.

**Mots-clés** : Compostage - Bagasse canne à sucre - *Bacillus sp.* CMAGI2 - *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> - rendement - haricot vert - tomate

## **Bagasse compost production and measure of it efficacy on two cultures: tomato and green bean**

### **Abstract:**

The addition of microorganisms during a composting has long been practiced and improved the final product quality, to shorten the time of composting. The resulting compost is used as fertilizer or soil amendment, can improve crop yields and soil properties.

In this study, a bacterial strain was isolated from mature compost with biochemical; physiological and molecular characteristics were performed and identified as *Bacillus sp.* CMAGI2, and another type strain *Bacillus subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> were used in this study. These strains showed some important enzymatic capabilities during a composting-based rich agricultural lignocellulosic substrate compounds. Only, *B. sp.* CMAGI2 can promote the plant growth. These two strains were used as inoculum during composting of sugar cane bagasse supplemented with cow manure. Composting was done during five months and the physicochemical and biological parameters were monitored. Inoculated composts were better degraded and showed better maturity and stability characters compared to the control compost. Inoculated strains alone also showed a sensibly inhibitory effect on the native microbial flora, whereas the control compost and mixed compost didn't show this effect. Agronomic evaluation was carried out and compared to a control (soil) and the four composts products showed no significant difference compared with the control on the crop yield, despite differences maturity parameters between them. This study showed of *Bacillus* strains could be very attractive when applied during the composting based on lignocellulosic material.

**Key-words**: Composting – Sugar cane bagasse - *Bacillus sp.* CMAGI2 - *B. subtilis* JCM 1465<sup>T</sup> - yield - Green bean - Tomato

## Isolement, identification et caractérisation d'une souche de *Bacillus sp* à partir d'un compost

NDèye Diara DIALLO\*, Malick MBENGUE, Cheikh Tidiane MBAYE et Emmanuel TINE

Laboratoire de Microbiologie Appliquée et Génie Industriel, Département de Génie Chimie et Biologie Appliquée, Ecole Supérieure Polytechnique, Université Cheikh Anta Diop, BP 5085, Dakar-Fann, Sénégal

\* Correspondance, courriel : [lodias7@livo.fr](mailto:lodias7@livo.fr)

### Résumé

Durant le processus de compostage, beaucoup de microorganismes jouent un rôle important à des étapes bien données et précises. Ainsi, il a été isolé d'un compost de bagasse de canne à sucre une souche de *Bacillus sp* CMAG12. L'optimisation de différents paramètres de croissance a permis d'obtenir une température optimale de 40°C, un pH de 8 et une bien meilleure croissance sans du NaCl. D'autres substrats tels que le glucose et les casamino-acides accélèrent la croissance de la souche à une concentration de 5g/L. La caractérisation moléculaire a permis le positionnement taxonomique de *Bacillus* CMAG12 isolée ; la souche est proche à 99% avec *Bacillus sp.* JU2 (2010), à 99% avec *Lysinibacillus fusiformis* strain XW18, à 99% *Lysinibacillus sphaericus* wh22 et *Lysinibacillus sphaericus* C3-41 sur une couverture totale de 100%.

**Mots-clés :** compost, bagasse de canne à sucre, *Bacillus sp* CMAG12.

### Abstract

Isolation, identification and characterization of *Bacillus sp* strain isolated from compost

During the composting process, many microorganisms play important role to specified and precise stages. It was isolated from sugarcane bagasse compost a strain of *Bacillus sp* CMAG12. The optimization of different parameters leads an optimum temperature of 40°C, pH 8 and a much better growth without NaCl. Other substrates such as glucose and casamino acids accelerate the growth of the strain at a concentration of 5g/L. Molecular characterization allowed the taxonomic position of isolated *Bacillus* CMAG12; this strain is close to 99% with *Bacillus sp.* JU2 (2010), 99% with *Lysinibacillus fusiformis* strain XW18, 99% with *Lysinibacillus sphaericus* wh22 and *Lysinibacillus sphaericus* C3-41 on a total coverage of 100%.

**Keywords :** compost, sugarcane bagasse, *Bacillus sp* CMAG12.

### 1. Introduction

Le compostage qui est une méthode de recyclage des déchets organiques comprend différentes étapes et des conditions bien définies et précises. Ce processus est possible grâce à l'intervention de différents microorganismes.

NDèye Diara DIALLO et al.