



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE

Faculté des Sciences et Techniques

Béni-Mellal



Thèse

Présentée à la **Faculté des sciences et technique pour obtenir le grade de Docteur**

Centre d'Études Doctorales : Sciences et techniques

Discipline : **Biologie**

Spécialité : **Biotechnologie et Microbiologie Environnementale**

Production de composts à base de déchets organiques et leurs utilisations dans la lutte biologique à travers leurs effets suppressifs vis-à-vis les agents pathogènes

par :

ATIF Khadija

Soutenue le Samedi 22 Juin 2021 à 10h devant la commission d'examen :

Directrice de thèse : Madame Soumia AMIR, Professeur à la Faculté Poly-disciplinaire, Béni Mellal.

Président : Monsieur Khalid FARES, Professeur à la Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech.

Rapporteur : Madame Leila MEDRAOUI, Professeur à la Faculté des sciences, Rabat.

Rapporteur Monsieur Aboudihaj BARGUIGA, Professeur à la Faculté Poly-disciplinaire, Béni Mellal.

Examineur : Monsieur Younes ABBAS, Professeur à la Faculté Poly-disciplinaire, Béni Mellal.

AVANT-PROPOS

Cette thèse fait l'objet d'une étude intitulée « Production de composts à base de déchets organiques et leurs utilisations dans la lutte biologique à travers leurs effets suppressifs vis-à-vis les agents pathogènes » au sein du laboratoire polyvalent de recherche et de développement (LPVRD) à la Faculté Poly-disciplinaire de Béni Mellal, en collaboration avec le laboratoire de biotechnologie microbienne à la faculté des sciences et techniques Université Sultan Moulay Slimane de Béni Mellal et le laboratoire de biotechnologie et prestations de services (LBPS) – Meknès, Maroc.

Nom et Prénom de la directrice des travaux de recherche : Madame AMIR SOUMIA, Professeur d'Enseignement Supérieur, Faculté Poly-disciplinaire, Université Sultan Moulay Slimane, Béni Mellal, Maroc.

Début des travaux de recherche : Février 2015.

Publications et communications auxquelles ce travail a donné lieu :

Publications

✓ **Khadija Atif.**, Ayoub Haouas., Faissal Aziz., Mohammed Yasser Jamali., Anas Tallou., Soumia Amir. 2018. Pathogens evolution during the composting of the household waste mixture enriched with phosphate residues and olive oil mill wastewater. Waste and Biomass Valorization. Springer Nature B.V. 2018.
<https://dx.doi.org/10.1007/s12649-018-0495-3>

✓ **K. Atif.**, A. Haouas., I. Zahir., F. E. Elminaoui., O. Bouhnik., A. Tallou., M. Y. Jamali., S. Amir. 2021. Antimicrobial effect of *Pseudomonas airuginosa* isolated from compost from green waste mixed with phosphate residues and partial characterization of these active ingredients. Journal of Microbiological Methods 2021. (Submitted)

- ✓ **K. Atif.**, I. Zahir., F. E. Elminaoui., A. Haouas., O. Bouhnik., A. Tallou., M. Y. Jamali., S. Amir. 2021. Microbial biomass evolution composting: quality of end product and hygienic measures. International journal of environmental science and technology. (Submitted)

- ✓ Anas Tallou., Ayoub Haouas., Mohammed Yasser Jamali., **Khadija Atif.**, Soumia Amir and Faissal Aziz. 2020. Review on Cow Manure as Renewable Energy- Springer Professional, Smart village technology 2020. DOI:10.1007/978-3-030-37794-6_17.

- ✓ M. Y. Jamali., M. Namous., A. Tallou., **K. Atif.**, S. Amir. 2020. Estimation of groundwater vulnerability to pollution based on DRASTIC and SI methods : a case study of the irrigated area of Tadla plain, Oum Errabia Basin, Morocco. In Proceedings of International conference Geo-IT and Water Resources 2020 (GEOIT4W-2020). <https://doi.org/10.1145/3399205.3399223>.

- ✓ A. Tallou., F. pedrero salcedo., A. Haouas., M. Y. Jamali., **K. Atif.**, F. Aziz and S. Amir 2020. Assessment of biogas and biofertilizer produced from anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with municipal wastewater and cow dung. Environmental Technology & Innovation 20(1):101152. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101152>.

Communications

- ✓ **ATIF K.**, HAOUAS A., AMIR S. « Effet suppressif des composts issus de la fraction organique des déchets ménagers sur les agents pathogènes des plantes » I congrès international polydisciplinaire sur les enjeux stratégiques du développement durable intégrés en Afrique, à la faculté polydisciplinaire de Béni Mellal Maroc. 5 Juin 2015.

- ✓ **ATIF K.**, F. AZIZ., AMIR S. « Monitoring of the composting of the household waste mixture enriched with phosphate residues » La 6^{ème} édition du congrès

international Eau, Déchets & Environnement EDE6-2017, à la faculté des sciences et techniques de Béni Mellal Maroc. Le 12,13 et 14 Décembre 2017.

✓ **ATIF. K.**, TALLOU. A., AZIZ. F., Haouas A., Jamali. MY., ZAHIR.I., AMIR.S. « suivi de la succession de la communauté microbienne et évaluation de la phytotoxicité du compost issu du mélange des déchets ménagers enrichi par des résidus phosphatés » La 4^{ème} édition de la journée des doctorants-JDC2019- Sous le thème Recherche & Innovation Le défi de l'économie verte en Afrique, quel apport de la recherche scientifique ? A la Faculté des sciences et techniques de Marrakech Maroc. 11 Juillet 2019.

✓ **Atif K.**, M. Y. Jamali., F. Aziz., A. Haouas., A. Tallou., FZ. Elminaoui., I. Zahir., S. Amir. 2019. Pathogens evolution during the composting of the household waste mixture enriched with phosphate residues and olive oil mill wastewater. Waste and Biomass Valorization. 7^{ème} Edition Congrès International : Eaux, Déchets et Environnement. EST - Salé, Maroc, du 20 au 22 Novembre 2019.

✓ HAOUAS A., **ATIF K.**, AMIR S. « Valorisation des boues des laveries de phosphates par compostage » 1 congrès international polydisciplinaire sur les enjeux stratégiques du développement durable intégrés en Afrique, à la faculté polydisciplinaire de Béni Mellal Maroc. 5 Juin 2015.

✓ A. Tallou., A. Haouas., M.Y. Jamali., **K. Atif.**, F. Aziz., S. Amir. 2018. Anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with municipal wastewater and cow dung. 2nd Mediterranean Forum for PhD Students and Young Researchers Research and Innovation as Tools for Sustainable Agriculture, Food and Nutrition Security, MEDFORUM 2018 at CIHEAM Bari, Italy, from 18 to 20 September 2018.

✓ A. Tallou., A. Haouas., M.Y. Jamali., **K. Atif.**, F. Aziz., S. Amir. «Anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with municipal wastewater and cow dung» iwa regional conference of water reuse and salinity management IWARESA 2018, Murcia Spain, June 11-15/ 2018.

✓ M. Y. Jamali., M. Namous., A. Tallou., **K. Atif.**, S. Amir. 2019. La dégradation de la qualité des eaux souterraines par les activités anthropique et l'utilisation

excessive : cas de la plaine du Tadla. 7^{ème} Edition Congrès International : Eaux, Déchets et Environnement. EST - Salé, Maroc, du 20 au 22 Novembre 2019.

✓ M. Y. Jamali., M. Namous., **K. Atif.**, A. Tallou., S. Amir. 2020. Estimation de la vulnérabilité des eaux souterraines à la pollution par la méthode DRASTIC de la plaine de Tadla, Maroc. La 4ème édition de la conférence internationale de SAWIS sous le thème : « IT, Technologies Géospatiales et Ressources en eau en Méditerranée », organisée à l'ENSA d'Al Hoceima les 11 & 12 Mars 2020.



Dédicaces

A mes très chers parents, dont ce travail constitue une légère compensation pour tous leurs nobles sacrifices afin d'assurer mon bien être et mon éducation, Que Dieu les protège et les garde en bonne santé

Mon adorable mari ABDERRAZZAK

Ma petite princesse Hanae que Dieu la protège

A la mémoire de mon cher petit bébé Mohamed que Dieu l'accueille dans son vaste paradis

Mes chers frère et sœurs : Bouchra, Hanane et Mohamed

A la mémoire de ma chère grand-mère que Dieu l'accueille dans son vaste paradis

A tous ceux qui me sont chers : grande famille et mes amis



Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord ALLAH, le tout puissant, notre Dieu, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce travail.

Mes remerciements s'adressent à Mr. **EL HADADI Benachir**, Doyen de la Faculté Polydisciplinaire de Béni Mellal, Mr **Melliani**, Mr **Hafid**, et Mr **Zeghal**, doyens et vice doyen de la Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane de Béni Mellal, pour l'intérêt et le soutien qu'ils portent pour la recherche scientifique au sein de l'établissement.

Quoique j'adresse ma gratitude et je remercie fortement Madame **AMIR Soumia** qui a accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire. Je suis très sensible à l'honneur qu'elle m'a fait pour diriger mon travail. Je souhaiterais ici lui témoigner ma sincère considération pour tous les conseils et les remarques objectives et ses orientations pour faire avancer ce travail et pour l'autonomie qu'a développée en moi. Je suis aussi reconnaissante pour sa constante disponibilité et son profond dévouement. Elle a su m'apporter un soutien constant, une écoute, une confiance et des conseils précieux et avisés à la hauteur de ses compétences et de ses réelles qualités humaines.

Je suis très reconnaissante aux conseils et à l'aide de Madame **ZAHIR Ilham**, Professeur à la Faculté Poly-disciplinaire de Beni Mellal, pour son intérêt qu'il a apporté à avancer mon travail. Je tiens à lui exprimer ma gratitude pour son endurance, sa serviabilité et surtout son aide.

Mes vifs remerciements s'adressent à Monsieur **FARES Khalid**, Professeur à la Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être rapporteur.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur **BARGUIGUA Abouddihaj** Professeur à la Faculté Poly-disciplinaire de Beni mellal, pour les conseils judicieux qu'il a su me donner tout au long de ce travail doctoral et pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être rapporteur.

Je tiens à remercier Madame **MEDRAOUI Leila**, Professeur à la Faculté des sciences, Rabat, d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur **ABBAS Younes**, Professeur à la Faculté Poly-disciplinaire, Béni Mellal, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être examinateur.

Je suis aussi reconnaissante aux conseils et à l'aide de mon mari **FATTAH Abderrazzak**, Professeur à l'université Hasan II à Casablanca, pour l'intérêt qu'il a apporté à

avancer mon travail. Je tiens à lui exprimer ma gratitude pour sa patience, sa serviabilité et surtout son aide.

Je tiens à remercier Monsieur **AZIZ Faicel**, Professeur à la Faculté Poly-disciplinaire de Safi. Je tiens à lui exprimer ma gratitude pour son endurance et sa serviabilité.

Je voudrais aussi remercier l'ensemble des membres du Laboratoire polyvalent de recherche et de développement (LPVRD), pour leurs aide et soutien tout au long de ce travail de thèse.

Enfin je renouvelle toute mon amitié et ma sympathie à ceux qui m'ont accordé du temps et m'ont témoigné un soutien constant dans ce long travail de recherche.

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	xiv
LISTE DES TABLEAUX	xvi
Liste des abréviations.....	xvii
Résumé.....	xviii
Abstract	xix
ملخص.....	xx
INTRODUCTION GÉNÉRALE	21
Synthèse bibliographique.....	4
I. L'agriculture marocaine et les changements climatiques.....	5
I.1. L'agriculture, moteur économique au Maroc	5
I.2. Adaptation des techniques culturales aux changements climatiques	5
II. Le compostage	6
II.1. Définition du compostage	7
II.2. La normalisation et réglementation du compost.....	8
II.3. L'utilité de filière de compostage.....	8
II.4. Intérêts agronomiques	9
II.5. Les étapes du processus de compostage	9
II.6. Les principaux paramètres physico-chimiques de fonctionnement du compostage.....	11
II. 7. Disponibilité des éléments minéraux (phosphore)	15
II.8. Evolution de la communauté microbienne au cours du compostage.....	15
III. Critères de maturité des composts	18
III.1. Les critères empiriques	19
III.2. Indicateurs physiques.....	19
III. 3. Indicateurs chimiques	20
III. 4. Indicateurs biologiques et microbiologiques	20
IV. La phytotoxicité.....	21
V. L'effet suppressif des composts sur les agents pathogènes.....	22
VI. La lutte biologique.....	27
VI.1. Définition.....	27

VI. 2. Les biopesticides microbiens.....	28
VI. 3. L'intérêt de la lutte biologique.....	28
VI.4. Les microorganismes phytopathogènes et la lutte biologique.....	29
VI. 5. Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés	32
VI.6. Les <i>Pseudomonas</i> utilisées comme agents de lutte biologique.....	34
VI.6.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> comme agent de lutte biologique :.....	34
VI.6.1.1. Caractéristiques générales de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
VI.6. 1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : agent de lutte biologique.....	35
VI. 6. 2. Les principes actifs produits par les <i>Pseudomonas</i>	36
Chapitre I.....	38
Evolution des agents pathogènes et des paramètres physico-chimiques pendant le compostage des déchets ménagers enrichis par des résidus phosphatés et de marjine	38
Pathogens Evolution and physico-chemical parameters during the Composting of the Household Waste Mixture Enriched with Phosphate Residues and Olive Oil Mill Wastewater	38
Abstract	39
Résumé.....	40
I. Introduction.....	41
II. Matériel et méthodes.....	42
II.1. Technique de compostage	42
II.2. Analyses des paramètres physicochimiques	43
II.2.1. Température.....	43
II.2.2. Mesure du pH	44
II.2.3. Taux d'humidité.....	44
II.2.4. Dosage de l'Azote Kjeldahl	44
II.2.4.1. Minéralisation.....	45
II.2.4.2. Distillation et dosage	45
II.2.5. Dosage de carbone organique total	46
II.2.6. Dosage de phosphore assimilable « méthode d'Olsen »	46
II.2.6.1. Extraction.....	46
II.2.6.2. Dosage :	46
II.3. Analyse microbiologique	47
II.4. Test de germination	48
II.5. L'analyse statistique	49
III. Résultats et discussion	49
III.1. Evolution des paramètres physico-chimiques au cours du processus de compostage.....	49

III.2. Dénombrements de la population microbienne	52
III.3. Test de germination	55
III.4. Analyses statistiques	56
Conclusion	58
Chapitre II	60
Evolution de la biomasse microbienne au cours du compostage : qualité du produit final et mesures d'hygiène	60
Microbial biomass evolution during composting: quality of end product and hygienic measures	60
Abstract	61
Résumé	62
I. Introduction	63
II. Matériel et méthodes	65
II.1. Conception des essais de compostage et échantillonnage	65
II.2. Analyses physico-chimiques	66
II.2.1. La conductivité électrique	67
II.3. Analyses microbiologiques	67
III. Résultats et discussion	68
III.1. Évolution de la biomasse microbienne du compost	71
III.1.1. Bactéries mésophiles totales	71
III.1.2. Champignons et autres levures	72
III.1.3. Actinomycètes	74
III.1.4. <i>Escherichia coli</i>	76
III.1.5. Les coliformes fécaux	78
III.1.6. Les streptocoques fécaux	79
III.1.7. <i>Salmonella</i> spp.	80
III.1.8. <i>Staphylococcus aureus</i>	82
III.1.9. Les anaérobies réduisant les sulfites	83
III.1.10. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84
IV. Discussion	86
Conclusion	89
Chapitre III	91
Criblage et isolement des microorganismes à effet antibactérien à partir des composts de différents déchets organiques et leur caractérisation macroscopique et microscopique	91
Screening and isolation of microorganisms with antibacterial effect from composts of different organic wastes and their macroscopic and microscopic characterization	91

Résumé.....	92
I. Introduction.....	93
II. Matériel et méthodes.....	95
II.1. Effet antibactérien contre les microorganismes pathogènes	96
II.1.1. Echantillonnage	96
II.1.2. Souches microbiennes utilisées pour tester l'effet antibactérien et les milieux de culture :	96
II.1.3. Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances antibactériennes	97
II.1.3.1. Test de l'activité antibactérienne des isolats sur un support solide	97
II.2. Caractérisation microscopiques et macroscopiques des microorganismes	98
II.2.1. Sélection des microorganismes d'intérêt.....	98
II.2.2. Milieu de culture utilisé pour les cultures jeunes	98
II.2.3. Caractères microscopiques des isolats.....	99
II.2.4. Caractères macroscopiques des isolats.....	99
II.2.4.1. Aspect de colonies en surface sur milieu solide.....	99
II.2.4.1.1. La taille	99
II.2.4.1.2. La forme	99
II.2.4.1.3. L'aspect de la surface	100
II.2.4.1.4. L'opacité	100
II.2.4.1.5. La consistance	100
II.2.4.1.6. La couleur et/ou pigment.....	101
III. Résultats et discussions.....	101
III.1. Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances antibactériennes .	101
III.2. Le diamètre des aurioles d'inhibition des isolats par rapport aux trois agents pathogènes (<i>E. coli</i> ; <i>Salmonella sp</i> et <i>Streptococcus sp</i>).....	103
III.3. L'effet supprimeur de quelques isolats vis-à-vis <i>Fusarium oxysporum f. sp. albedinis</i>	116
III.3. 1. Cas de <i>Fusarium oxysporum f. sp. albedinis</i>	116
III.4. Les caractéristiques microscopiques et macroscopiques	119
III.4.1. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 1.....	119
III.4.2. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 2.....	121
III.4.3. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 3.....	124
III.4.4. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 4.....	126
III.4.5. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 5.....	128
III.4.6. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 6.....	131

III.4.7. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 7.....	135
Conclusion	138
Chapitre IV.....	140
Effet antimicrobien de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolée à partir du compost issu des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés et caractérisation de ses principes actifs.....	140
Antimicrobial effect of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolated from compost of green waste mixed with phosphate residues and characterization of its active ingredients	140
Abstract	141
Résumé.....	142
I. Introduction.....	143
II. Matériel et méthodes.....	144
II.1. Souches utilisées et milieux de culture	145
II.2. Effet antimicrobien contre les microorganismes pathogènes	145
II.2.1. Echantillonnage	145
II.2.2. Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances à effet antibactérien	146
II.2.3. Test de l'activité antibactérienne des isolats sur le support solide	146
II.2.4. Effet antifongique de l'isolat d'intérêt contre <i>Aspergillus niger</i> et <i>Fusarium oxysporum</i>	146
II.2.5. Identification de l'isolat d'intérêt producteur de substances à effet antimicrobien.....	147
II.2.5.1 Caractérisation moléculaire de l'isolat producteur de substances à effet antibactérien par l'ARNr 16S	147
II.2.5.1.1 Extraction de l'ADN total.....	147
II.2.5.1.2 Amplification de l'ADN codant pour l'ARNr 16S	148
II.2.5.1.3 Séquençage et analyse bio-informatique du gène de l'ARNr 16S :.....	148
II.2.5. Caractérisation préliminaire des substances à activité antibactérienne produites par l'isolat d'intérêt	148
II.2.5.1. Extraction des principes actifs par l'acétate d'éthyle	148
II.2.5.2. Test de l'activité antibactérienne des principes actifs par la méthode des puits.....	149
II.2.5.3. Nature des principes actifs sécrétés par l'isolat d'intérêt.....	149
II.2.5.3.1. Sensibilité des principes actifs à la protéinase K.....	149
II.2.5.3.2. Sensibilité des principes actifs à la lipase.....	150
II.2.5.3.3. Sensibilité des principes actifs à l'amylase.....	150
II.2.5.3.4. Sensibilité des principes actifs au traitement thermique	150
II.2.6. Effet antagoniste de l'isolat d'intérêt contre <i>Aspergillus niger</i> in vivo	151
II.2.7. Effet antagoniste de l'isolat d'intérêt contre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	151

III.	Résultats et discussion	151
III.1.	Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances à effet antibactérien	152
III.2.	Effet antifongique de l'isolat CFSP1L1 contre <i>Aspergillus niger</i> et <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	153
III.3.	Identification de l'isolat CFSP1L1	154
III.4.	Activité antibactérienne des principes actifs de <i>P. aeruginosa</i>	156
III.5.	Stabilité et nature des principes actifs de <i>P. aeruginosa</i>	156
III.6.	Effet antagoniste de <i>P. aeruginosa</i> contre <i>Aspergillus niger</i> in vivo.....	158
III.7.	Effet antagoniste de <i>P. aeruginosa</i> contre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	159
	Conclusion	162
	Références Bibliographiques.....	168
	Khamna S. , A Yokota, S Lumyong 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. World Journal of Microbiology and Biotechnology.....	183
	Annexe 1. Extraction d'ADN génomique bactérien.....	202

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. COURBE THEORIQUE D'EVOLUTION DE TEMPERATURE AU COURS DU COMPOSTAGE (MUSTIN,1987) ...	11
FIGURE 2. EVOLUTION DU RAPPORT C/N DE DIFFERENTS SUBSTRATS AU COURS DU COMPOSTAGE (HAFIDI, 2011)	14
FIGURE 3. PSEUDOMONAS AERUGINOSA (WWW. PSEUDOMONAS.COM).....	35
FIGURE 4. BIOSYNTHESE DES PHENAZINES (PRICE-WHELAN ET AL., 2006).	37
FIGURE 5. LA TECHNIQUE DU COMPOSTAGE EN TAS.....	43
FIGURE 6. MESURE DE LA TEMPERATURE PAR UN THERMOMETRE-SONDE	44
FIGURE 7. PREPARATION DES GRAINES DE LUZERNE.....	49
FIGURE 8. EVOLUTION DE LA TEMPERATURE AU COURS DU COMPOSTAGE.....	50
FIGURE 9. EVOLUTION DU PH AU COURS DU COMPOSTAGE.....	51
FIGURE 10. EVOLUTION DE L'HUMIDITE AU COURS COMPOSTAGE	51
FIGURE 11. EVOLUTION DE LA CHARGE MICROBIENNE AU COURS DU COMPOSTAGE	55
FIGURE 12. EVOLUTION DE LA PHYTOTOXICITE AU COURS DU COMPOSTAGE.....	56
FIGURE 13. TEST DE PHYTOTOXICITE.....	56
FIGURE 14. ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES (ACP) ENTRE TOUTES LES ANALYSES MICROBIOLOGIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES A DIFFERENTES ETAPES DU COMPOSTAGE.....	58
FIGURE 15. ANALYSE DE CLUSTER HIERARCHIQUE ENTRE LES DONNEES MICROBIOLOGIQUES ET LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES A DIFFERENTES ETAPES DU COMPOSTAGE	58
FIGURE 17. COURBE D'EVOLUTION DE LA TEMPERATURE LE LONG DU COMPOSTAGE DES SEPT COMPOSTS	70
FIGURE 18. EVOLUTION DE LA FAUNE MESOPHILE AEROBIE TOTALE (FMAT) AU COURS DU COMPOSTAGE.....	72
FIGURE 19. EVOLUTION DES POPULATIONS FONGIQUES AU COURS DU COMPOSTAGE.....	74
FIGURE 20. EVOLUTION DES ACTINOMYCETES AU COURS DU COMPOSTAGE.....	76
FIGURE 21. EVOLUTION DES E-COLI AU COURS DU COMPOSTAGE	78
FIGURE 22. EVOLUTION DES COLIFORMES FECAUX AU COURS DU COMPOSTAGE.....	79
FIGURE 23. EVOLUTION DES STREPTOCOQUES FECAUX AU COURS DU COMPOSTAGE	80
FIGURE 24. EVOLUTION DES SALMONELLA SPP AU COURS DU COMPOSTAGE	81
FIGURE 25. EVOLUTION DES STAPHYLOCOCCUS AUREUS AU COURS DU COMPOSTAGE.....	83
FIGURE 26. EVOLUTION DES ANAEROBIES REDUISANT LES SULFITES AU COURS DU COMPOSTAGE.....	84
FIGURE 27. EVOLUTION DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA AU COURS DU COMPOSTAGE	86
FIGURE 28. PRESENTATION DE LA FORME DE COLONIE (L.M. PRESCOTT, J.P. HARLEY, D. A. KLEIN).....	100
FIGURE 29. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITION REVELANT L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES DIFFERENTS ISOLATS DU COMPOST 1 (CFS).....	105
FIGURE 30. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS REVELANT L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES DIFFERENTS ISOLATS DU COMPOST 2 (CF)	106
FIGURE 31. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS REVELANT L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES DIFFERENTS ISOLATS DU COMPOST 3 (CG).....	107
FIGURE 32. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS REVELANT L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES DIFFERENTS ISOLATS DU COMPOST 4 (CFG).....	109
FIGURE 33. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS REVELANT L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES DIFFERENTS ISOLATS DU COMPOST 5 (CFO).....	110

FIGURE 34. DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS REVELANT L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES DIFFERENTS ISOLATS DU COMPOST 6 (CGW).....	112
FIGURE 35. ZONES D'INHIBITION REVELANT L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES DIFFERENTS ISOLATS DU COMPOST 7 (CFW).....	113
FIGURE 36. AUREOLES D'INHIBITION DUES AUX DEPOTS DE QUELQUES ISOLATS BACTERIENS SUR DES BOITES PREALABLEMENT ENSEMENCEES PAR LES AGENTS PATHOGENES (E. COLI ; SALMONNELLA SP ET STREPTOCOCCUS SP).....	115
FIGURE 37. L'EFFET ANTAGONISTE DES ISOLATS CONTRE FUSARIUM OXYSPOURUM F. SP. ALBEDINIS.....	117
FIGURE 38. PHOTOS DES BACTERIES A GRAM POSITIF (VIOLET) ET DES BACTERIES A GRAM NEGATIF (ROSE).....	119
FIGURE 39. COLORATION DE GRAM DES BACTERIES AU DEBUT DE COMPOSTAGE DU CFS (A), DURANT LA PHASE THERMOPHILE (B), ET DURANT LA PHASE FINALE (C)	120

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1. MICRO-ORGANISMES CONTRIBUANT AU COMPOSTAGE (MUSTIN, 1987).....	17
TABLEAU 2. RECAPITULATIF DES DIFFERENTS CRITERES DE STABILITE ET DE MATURITE D'UN COMPOST	19
TABLEAU 3. EXEMPLES DE MALADIES TELLURIQUES DONT L'INCIDENCE EST REDUITE PAR L'APPORT DE COMPOSTS	25
TABLEAU 4. QUELQUES AGENTS ANTAGONISTES COMMERCIALISES SOUS FORME DE PRODUITS BIOLOGIQUES UTILISES DANS LE TRAITEMENT DE CERTAINES MALADIES DES VEGETAUX CAUSES PAR DES AGENTS PHYTOPATHOGENES (SABARATNAM ET TRAQUAIR, 2002 ; JIJAKLI, 2003 ; PUNJA ET UTKHEDE, 2003).....	31
TABLEAU 5. AGENTS DE LA LUTTE BIOLOGIQUE UTILISES CONTRE DES AGENTS PHYTOPATHOGENES (ERRAKHI, 2008).....	33
TABLEAU 6. EVOLUTION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES AU COURS DU PROCESSUS DE COMPOSTAGE	52
TABLEAU 7. COMPOSITION ET CARACTERISTIQUES DES MELANGES UTILISES AVANT LE PROCESSUS DU COMPOSTAGE.	66
TABLEAU 8. LES PARAMETRES PHYSICO CHIMIQUES DES 7 COMPOSTS A LA FIN DU PROCESSUS DE COMPOSTAGE (150 JOURS).	70
TABLEAU 9. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST 1 (CFS).....	103
TABLEAU 10. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST 2 (CF).....	105
TABLEAU 11. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST 3(CG).....	106
TABLEAU 12. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST 4(CFG).....	108
TABLEAU 13. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST 5 (CFO).....	109
TABLEAU 14. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST 6 (CGW)	110
TABLEAU 15. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST 7 (CFW)	112
TABLEAU 16. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUE ET MACROSCOPIQUE DES ISOLATS PURIFIES DU COMPOST 1 (CFS)	120
TABLEAU 17. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUE ET MACROSCOPIQUEDES ISOLATS PURIFIES DU COMPOST 2 (CF)	123
TABLEAU 18. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUE ET MACROSCOPIQUEDES ISOLATS PURIFIES DU COMPOST 3 (CG).....	125
TABLEAU 19. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUE ET MACROSCOPIQUEDES ISOLATS PURIFIES DU COMPOST 4 (CFG).....	127
TABLEAU 20. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUE ET MACROSCOPIQUEDES ISOLATS PURIFIES DU COMPOST 5 (CFO).....	130
TABLEAU 21. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUE ET MACROSCOPIQUEDES ISOLATS PURIFIES DU COMPOST 6 (CGW)	132
TABLEAU 22. CARACTERISTIQUES MICROSCOPIQUE ET MACROSCOPIQUEDES ISOLATS PURIFIES DU COMPOST 7 (CFW).....	136
TABLEAU 23. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES ISOLATS DU COMPOST DES DECHETS VERTS MELANGES PAR DES RESIDUS PHOSPHATES	153
TABLEAU 24. RESULTATS DE L'IDENTIFICATION MOLECULAIRE DE L'ISOLAT CFSP1L1 APRES SEQUENÇAGE DU GENE DE L'ARNr 16S	155
TABLEAU 25. EFFET DES DIFFERENTS TRAITEMENTS SUR L'EFFET ANTIBACTERIEN DE L'EXTRAIT DE P. AERUGINOSA. L'ACTIVITE RELATIVE A ETE MESUREE PAR LA METHODE DES Puits CONTRE E. COLI.....	157

Liste des abréviations

ADEME : Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (France)

FMAT : Faune Mésophile Aérobie Totale

FIMAB : Fédération Internationale des Mouvements d'Agriculture Biologique

AFNOR : Association Française des Normes

STEP : Station de traitement et épuration des eaux usées

MF : Matière fraîche

C/N : Carbone/ azote

E. coli : *Escherichia coli*

UFC/g : Unité formant colonie par gramme

K : Potassium

Z.I : Zone d'inhibition

TP : Technique des puits

MO : Matière organique

MS : Matière sèche

LBL : Milieu Luria Bertoni Liquide

LBS : Milieu Luria Bertoni Solide

CE : Conductivité électrique

FAO : Organisation Mondiale de l'Agriculture et de l'Alimentation

PED : Pays en développement

Résumé

L'efficacité des composts pour la suppression des agents pathogènes varie en fonction des mélanges utilisés pour les produire et du système plante hôte-pathogène. Les raisons de cette variabilité demeurent encore en grande partie méconnues. De plus, les mécanismes d'inhibition des pathogènes par les composts restent encore insuffisamment explorés. Une meilleure connaissance des paramètres influençant les propriétés phytosanitaires des composts est donc indispensable afin de pouvoir optimiser leur utilisation pour lutter contre les maladies des plantes.

Dans le premier volet de ce travail, les teneurs en agents pathogènes des composts issus de différents types de matières organiques mélangés par des résidus phosphatés ont été suivies. Les résultats des analyses microbiologiques montrent que le taux des coliformes fécaux ; *Escherichia coli* et les streptocoques fécaux enregistrent une nette diminution au cours du processus de compostage. Les actinomycètes montrent une grande prolifération au long des deux phases du compostage. La quantité de *Pseudomonas aeruginosa* augmente aussi au cours du processus du compostage. En ce qui concerne les populations fongiques le taux pour les différents composts varie entre 10^7 et 10^8 UFC/g MF à la fin du compostage. Tous ces résultats témoignent du bon déroulement des activités biologiques au sein des composts, accompagnées d'une élévation consécutive des températures au cours des phases thermophiles, et ont une relation étroite avec des indicateurs de stabilité et de maturité basés sur les propriétés physico-chimiques du compost et des tests de germination.

Dans un deuxième volet, on a essayé d'isoler une grande partie des microorganismes à effet antimicrobien à partir des composts étudiés. Parmi les 9 isolats efficaces, une bactérie très prometteuse *Pseudomonas aeruginosa* a été identifiée sur la base de la PCR, séquençage du gène de l'ARNr 16S. Ceci explique bien sa prolifération au cours du processus de compostage. Cette bactérie a démontré un effet antibactérien très intéressant contre *Salmonella spp* ; *Streptococcus spp* et *E. coli*. Ainsi que, elle a démontré une grande activité antifongique contre *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* et *Aspergillus niger*. Après avoir exposé les principes actifs de cette bactérie à la chaleur et aux traitements enzymatiques, il s'est avéré que ces principes actifs gardent leur effet antimicrobien, ils'agit donc des principes actifs de nature non protéique, non lipidique et non sachharidique. In vivo, le traitement des pommes de l'espèce *Malus sylvestris* Mill par *P. aeruginosa* (10^8 CFU / ml) et *Aspergillus niger* (10^7 CFU / ml) a réaffirmé l'effet antifongique de cette bactérie, en inhibant complètement l'effet phytopathogène d'*Aspergillusniger*.

Aussi, l'inoculation des mandarines de l'espèce *Citrus reticulata* Blanco avec l'antagoniste *P. aeruginosa* 24 avant *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis* inhibe complètement l'apparition de la sporulation blanche due à *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis* par rapport aux témoins. En perspective de ce travail, les substances bioactives responsables de ces effets anti-bactériens et anti-fongiques seront isolées et purifiées dans un objectif de leur valorisation pour le biocontrôle de phytopathogènes.

Mots clés : Compostage ; analyses physicochimiques ; Phytotoxicité ; analyses microbiologiques ; agents pathogènes ; résidus phosphatés ; Control biologique ; phytopathogènes ; activité antimicrobienne ; *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstract

The effectiveness of composts for pathogen control varies depending on the mixtures used to produce them and the pathogen-host plant system. The reasons for this variability remain largely unknown. Moreover, the mechanisms of inhibition of pathogens by composts are still insufficiently explored. A better understanding of the parameters influencing the phytosanitary properties of composts is therefore essential in order to optimize their use in the fight against plant diseases.

In the first part of this work, the pathogen contents of composts made from different types of organic matter mixed with phosphate residues were monitored. The results of the microbiological analyses show that the level of faecal coliforms; *Escherichia coli* and faecal streptococci show a cleared decrease during the composting process. Actinomycetes show a great development along the two phases of composting. The amount of *Pseudomonas aeruginosa* also increases during the process. In regards to fungal populations, the rate within the different composts varies between 10^7 and 10^8 CFU/g MF at the end of composting. In fact, these changes have been attributed to the good development of biological activities within the composts demonstrated by a great increase in temperature during the thermophilic phases, and it has close relationship with indicators of stability and maturity based on the physical and chemical properties of the compost and germination tests.

In the second section of this work, an attempt to isolate a large part of the microorganisms with an antimicrobial effect from the composts studied was made. Among the 9 effective isolates, a very promising bacterium *Pseudomonas aeruginosa* was identified on the basis of PCR, sequencing of the 16S rRNA gene. This explains its proliferation during the composting process. This bacterium has shown a very interesting antibacterial effect against *Salmonella* spp; *Streptococcus* spp and *E. coli*. As well as, it has shown a great antifungal activity against *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* and *Aspergillus niger*. On the other hand, its antimicrobial activity has not been abolished after heat and enzymatic treatments demonstrating that *P. aeruginosa* acts through active principles of a non-proteinaceous, non-lipidic and non-sacharidic nature. In vivo, treatment of apples of the species *Malus sylvestris Mill* with a suspension of the antagonist *P. aeruginosa* (10^8 CFU / ml) 24 h before inoculation with a suspension of *Aspergillus niger* (10^7 CFU / ml) shows that *Pseudomonas aeruginosa* completely inhibits the phytopathogenic effect of *Aspergillus niger* compared to controls. Also, inoculation of mandarins of the species *Citrus reticulata Blanco* with the antagonist *P. aeruginosa*, 24 before *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis* completely inhibits the occurrence of white sporulation due to *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis* compared to controls. In the perspective of this work, the bioactive substances responsible for these anti-bacterial and anti-fungal effects will be isolated and purified in order to valorize them for phytopathogen biocontrol.

Keywords : Compost ; Physicochemical analyses ; Phytotoxicity ; Microbiological analyses ; Pathogens ; Phosphate residues ; Biological control ; Phytopathogens ; Antimicrobial activity ; *Pseudomonas aeruginosa*.

ملخص

إن التخلص من الكائنات الممرضة للنباتات رهين بنوعيه الخليط المستعمل في السماد العضوي وايضا بالنظام ممرضات-النبات العائل. حتى الان لا تزال أسباب هذا الإختلاف في مجملها غير معروفة. كما ان الاليات التي تمكن السماد العضوي من كبح هذه الكائنات المجهرية الضارة لا تزال غامضة لم يتحرى عنها بعد اذ بات من الضروري التعرف على كل العوامل التي تؤثر على نقاوة السماد العضوي حتى تتمكن من استعماله استعمالا جيدا يمكننا من التخلص من الأمراض الانتهازية التي تهدد النباتات

في بداية هذا العمل، بدأنا بتتبع الكائنات الحية الدقيقة الممرضة المتواجدة في السماد العضوي المتكون من مواد عضوية مختلفة ممزوجة ببقايا الفوسفات. خلال هذا التتبع أظهرت نتائج التحليلات الميكروبيولوجيا أن هناك انخفاض ملحوظ في عدد الكائنات الحية الضارة خلال فترة نضج السماد العضوي، إلا أن الاكتينومييسيت عرفت انتشارا كبيرا خلال تحضير السماد العضوي في مرحلته. كما أن عدد بكتيريا الزائفة الزنجارية، عرفت أيضا ارتفاعا خلال فترة تحضير السماد العضوي. أما فيما يخص الفطريات فالعدد الذي تم تسجيله في مختلف الأسمدة العضوية كان محصورا بين 10^7 و 10^8 UFC/g MF خلال نهاية تحضيرها. هذه النتائج المحصل عليها تؤكد على السير الجيد للنشاط البيولوجي بالأسمدة العضوية الذي غالبا ما يكون مصحوبا بارتفاع في درجة الحرارة خلال الفترة الحرارية وكذلك ذو علاقة وطيدة مع مؤشرات الثبات والنضج على أساس الخواص الفيزيائية والكيميائية للسماد واختبارات الإنبات.

في المرحلة الثانية من هذه الدراسة، قمنا بعزل عدد كبير من هذه الكائنات المجهرية ذات المفعول المضاد المتواجدة بمختلف الأسمدة العضوية المدروسة. عملية العزل هذه مكنتنا من تحديد تسع مجموعات فعالة ومن بينها بكتيريا واعدة، إنها الزائفة الزنجارية والتي تم تحديدها بتقنية PCR وكذا التحديد الجيني S16 ARN r، وهي من بين البكتيريات التي عرفت ارتفاعا ملحوظا خلال فترة تحضير الأسمدة العضوية. هذه الأخيرة أبانت عن مفعولها المضاد تجاه ثلاث بكتيريات ضارات بالنباتات وهي السالمونيل؛ العقديية؛ الإشريكية القولونية.

كما تتميز ايضا الزائفة الزنجارية بنفس المفعول تجاه بعض الفطريات الضارة بالنباتات كأوكسيسبوروم الفيوزاريوم. بعد اخطاع المفعول النشط لهذه البكتيريا لدرجة حرارة مرتفعة ولتأثير انزيمات أخرى تبين أن هذا المفعول لا يتأثر بذلك بل يتطور قليلا، مما يدل على أن طبيعته البيوكيميائية ليست بروتينية أو دهنية أو سكرية. تجريبيا وعند وضع عينه من هذه البكتيريا مع عينة أخرى من فطر *Aspergillus niger* بداخلي فاكهة التفاح من نوع *Malus sylvestris Mill* تبين أن هذا الفطر تم كبحه من طرف الزائفة الزنجارية إذ لم يتمكن من إلحاق الضرر بفاكهة التفاح. نفس الشيء وقع مع فاكهة البرتقال، حيث أن هذه البكتيريا لم تسمح لفطري أوكسيسبوروم الفيوزاريوم من النمو. ومن أجل تثمين هذا المفعول ل الزائفة الزنجارية المضاد للبكتيريات والفطريات الضارة بالنباتات واستعماله كبديل عضوي، سيكون من الضروري تحديد طبيعته البيولوجية وذلك في أبحاث مستقبلية.

الكلمات المفتاح: تحضير السماد العضوي، التحليلات الفيزيوكيميائية، التسمم النباتي، التحليلات الميكروبيولوجية، الكائنات الدقيقة الممرضة، بقايا الفوسفات، المراقبة البيولوجية، أمراض النباتات، النشاط المضاد للكائنات الدقيقة الممرضة، الزائفة الزنجارية.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'urbanisation et le développement économique ont généralement pour corollaire l'accroissement des besoins alimentaires et l'augmentation de la production des déchets dans les pays en développement (Amir, 2005). La gestion de ses déchets demeure un grand problème (Tshala et *al.*, 2017). En fait, l'augmentation de la production de déchets ménagers constitue une menace sérieuse pour l'environnement dans la mesure où les conditions de collecte de ces déchets sont pénibles vu la grande quantité et la nature complexe de ses déchets (Mina et *al.*, 2013). Par ailleurs, les déchets verts, constitués de résidus issus de l'entretien des espaces verts, des zones récréatives, des jardins privés, des serres ou des terrains de sports, sont une source importante de déchets organiques. Leurs traitements constituent un important centre d'intérêt. La mise en décharge et l'incinération sont les méthodes de traitement les plus répandues sans véritable contrôle sur les impacts engendrés (Amir, 2005 ; Dieng et *al.*, 2019). Dans un tel contexte, la valorisation des déchets dans les pays en développement par compostage contribue fort bien au développement durable.

Au Maroc, par exemple, la gestion des déchets occupe une place centrale dans la politique environnementale (Amir, 2005 ; Mina et *al.*, 2013). Dans des études précédentes, le compostage, un procédé biologique aérobie de dégradation de la matière organique, s'est fortement recommandé au Maroc depuis quelques années surtout pour les déchets verts et de déchets ménagers (Amir 2005 ; Jouraïphi 2007 ; El fels, 2014 ; Barje *et al.*, 2012).

Le compostage est une voie naturelle de valorisation comportant de nombreux avantages. Incontestablement, d'après de nombreuses études, le compostage constitue le traitement par excellence qui répond à toutes ces conditions dans des limites financières très accessibles. En fait, les besoins du marché marocain en matière organique sont très importants (El fels, 2014). Le recyclage des déchets par compostage présente les avantages de réduire les risques environnementaux liés à la gestion des déchets par la diminution de ces volumes (Saebo et Ferrini, 2006). De plus, le compostage permet d'obtenir un amendement constitué d'une matière organique stable et humifiée renfermant aussi des nutriments. Ce processus permet ainsi d'assurer une voie du traitement tout en valorisant le produit obtenu en agriculture. En outre,

l'application du compost apparaît comme une pratique intéressante pour lutter contre les agents pathogènes du sol. Plusieurs études rapportent l'effet suppressif des composts sur le développement des maladies affectant les espèces horticoles (Larby, 2006). Il a été rapporté par exemple, que le compostage à partir d'un mélange contenant des boues de station d'épuration est un procédé qui permet de détruire les agents pathogènes, notamment par le biais de l'élévation de température (Amir, 2007 ; El fels, 2014 ; Toundou, 2016). Toutefois, pour une meilleure valorisation, une analyse microbienne serait nécessaire afin de prévenir des maladies. En fait, le compostage est l'une des biotechnologies les plus complexes qu'il soit quant à la compréhension des phénomènes impliquées, en raison des changements d'états physiques et biologiques innombrables durant le processus. Il fait intervenir différentes communautés de microorganismes qui se succèdent, en fonction de leurs potentialités métaboliques au cours des différents stades de transformation de la matière organique et de son degré de maturité (Remy, 2007). En outre, la microbiologie du compostage est complexe dans sa description à cause des grandes variations des populations microbiennes suite aux changements des propriétés physico-chimiques (pH, le rapport C/N, humidité, température, etc.) au sein des composts.

Ainsi, le processus du compostage exige le suivi des changements dans les différentes populations microbiennes aérobiques, mésophiles, thermo tolérants et thermophiles (bactéries, actinomycètes, levures et champignons) qui pourraient être bénéfiques pour le développement de la plante, ou peuvent être pathogènes pour l'homme et les animaux (Beffa *et al.*, 1996 ; Singh, 2014). En outre, leur incorporation dans le sol augmente sa fertilité (à travers les fixateurs d'azote, les nitrificateurs, oxydants de soufre), sa structure (à travers les producteurs d'exopolysaccharide) et peuvent aussi avoir d'autres effets positifs vis-à-vis la qualité du sol (Beffa *et al.*, 1996). Par conséquent, le degré de pathogénèse et la réduction des microorganismes pathogènes pendant le compostage est un critère important qui doit être vérifié et achevé après la maturation du compost (Singh, 2014).

D'autre part, l'identification des micro-organismes dominants peuvent aboutir à une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels les composts favorisent la suppression des agents phytopathogènes (Boulter *et al.*, 2002). Selon ces auteurs, cette suppression sans doute n'élimine pas tous les agents pathogènes existant dans le sol, mais permet d'atténuer leur prolifération et leur gravité. Parmi les microorganismes qui ont un effet supprimeur vis-à-vis des agents pathogènes, on cite *Pseudomonas aeruginosa*, dont la prolifération renseigne sur le bon déroulement du compostage et la métabolisation de la matière organique des déchets surtout dans la phase finale du compostage (Amir *et al.* 2008, Barje *et al.*, 2012). Cette bactérie

est considérée comme thermo tolérante au cours du compostage (Lemanceau *et al.*, 2009), et sa prolifération aux phases finales du compostage a été signalée par plusieurs auteurs (Atif *et al.*, 2018, Dieng *et al.*, 2019). Généralement, les *Pseudomonas*, produisent de nombreux métabolites notamment à effet antifongique (Weller *et al.*, 2002, 2007), et antibactérien (Zahir *et al.*, 2018).

Par ailleurs, la maturité d'un compost est le plus souvent associée à la germination et à la croissance des plantes en contrôlant l'absence de phytotoxicité. En effet, les tests de phytotoxicité sont utilisés par plusieurs auteurs pour contrôler le degré de toxicité des composts avant leur incorporation au sol. En fait, les composts mûrs ne doivent pas présenter des substances ou des agents empêchant la germination des graines et la croissance des plantes, comme les phénols, ammoniacque, et aussi les phytopathogènes. En fait, selon Tang *et al.*, (2006) l'effet phytotoxique du compost immature peut être lié, en partie, à l'émission d'ammoniacque. Effectivement, la présence de l'ammoniacque dans le sol, même en petite quantité, a été décrite comme toxique pour la germination des graines ainsi que pour les racines et pour le développement normal des plantes. Par conséquent, l'indice de germination (IG) doit être calculé pour l'évaluation des effets de compost. Selon, Chennaoui *et al.*, (2016) un compost est considéré comme non toxique lorsque son indice de germination excède 50%. Barje (2010), a montré des indices de germination très faibles (IG < 20,5%) des stades initiaux du compostage, indiquant une phytotoxicité importante des déchets d'huileries d'olives et déchets ménagers avant traitement par compostage. Cet auteur a montré des valeurs d'IG de 99% à des stades finaux du compostage, ce qui reflète une réduction importante de la phytotoxicité, montrant ainsi un degré de maturité remarquable des composts obtenus. Aussi, Dieng (2019) a montré un taux de germination de 90% pour le maïs et 72% pour l'arachide des stades finaux du compostage. En fait, les résultats des tests de germination donnent une idée sur les limites d'utilisation et l'éventuelle valeur ajoutée du compost pour l'agriculture et ainsi la lutte biologique.

D'autre part, les recherches sur la lutte biologique (ou biocontrôle) par utilisation de micro-organismes connaissent un essor remarquable dans le domaine agricole. Il s'agit en fait, d'une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques constituant un danger sur l'environnement et sur l'homme. Cette voie repose sur les mécanismes d'antagonisme microbien qui interviennent dans la protection des plantes contre leurs ennemis. Dans ce sens, le compost est un écosystème caractérisé par une biodiversité microbienne importante qui peut être exploré dans le cadre de la lutte biologique.

Ce travail de thèse est subdivisé en deux grands volets :

Le premier volet est consacré à une bibliographie générale sur le compostage en abordant la notion de qualité. Cette synthèse part de la définition du procédé, des aspects biochimiques, microbiologiques et agronomiques du compostage. Celle-ci se termine par une étude du développement de la biomasse microbienne pendant le compostage et sur les micro-organismes à effets antimicrobiens tel que *Pseudomonas aeruginosa*.

Le volet de recherches réalisées et les résultats obtenus et leurs discussions sont reportés dans quatre chapitres :

Chapitre I : Les exigences de qualité des composts est déterminés via un certain nombre de caractérisations physico-chimiques et biologiques. L'objectif est de vérifier le bon déroulement du processus de compostage, l'hygiénisation et l'absence de phytotoxicité du produit final.

Chapitre II : Suivi de l'évolution des actinomycètes, champignons, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres agents pathogènes dans des composts issus de différents types de matières organiques mélangés par des résidus phosphatés »

Chapitre III : Criblage et isolement des microorganismes à effet antibactérien à partir des composts de différents déchets organiques, et leurs caractéristiques microscopiques et macroscopiques.

Chapitre IV : S'intéresse à l'étude de l'effet du *Pseudomonas aeruginosa* isolée à partir du compost issu des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés sur les phytopathogènes et caractérisation de ses principes actifs.

Synthèse bibliographique

I. L'agriculture marocaine et les changements climatiques

L'agriculture en Afrique est confrontée à de nombreux fléaux parmi lesquels la sécheresse et la dégradation des sols constituent les facteurs plus menaçants (Poss *et al.*, 1997). En fait, l'Afrique du Nord connaît depuis plusieurs années des changements du régime pluviométrique qui se manifestent par des sécheresses de longue durée ou des inondations à des périodes inattendues (Chappell et Agnew, 2004). La sécheresse représente le facteur environnemental le plus menaçant à l'origine de perturbations chez les végétaux. Selon El ajhar *et al.*, 2018 ; Berg *et al.*, 2013, le Maroc a connu ces dernières décennies un changement du régime pluviométrique qui pourrait avoir un effet négatif global sur la production agricole dans les prochaines années.

I.1. L'agriculture, moteur économique au Maroc

Au Maroc, en 2017 le secteur agricole et de la pêche représente 13,6 % de la production interne brut (PIB) pour une valeur de 131,62 milliards DH. La croissance marocaine est très liée à celle du secteur agricole : les fortes variations de la valeur ajoutée du secteur agricole qui témoignent de la dépendance de ce secteur aux conditions climatiques et environnementaux, et notamment à la pluviométrie, se répercutent sur la croissance du PIB.

Au de-là de la production agricole, le Maroc a pu développer un secteur de l'industrie agro-alimentaire diversifié et compétitif, notamment dans la transformation céréalière, l'industrie du lait et des produits laitiers ou encore la transformation des fruits et légumes. Il représente en 2016, 3,9 % du PIB soit 27 % de la production industrielle marocaine.

Depuis 2008, le Maroc s'est doté d'une stratégie volontariste de développement agricole, citant le Plan Maroc Vert (PMV), avec comme ambition de faire de l'agriculture un véritable moteur de croissance et de développement socio-économique du pays.

I.2. Adaptation des techniques culturales aux changements climatiques

Les changements climatiques présentent un impact négatif sur les cultures en réduisant fortement leur rendement (Merf, 2009). L'adoption de nouvelles méthodes culturales tenant compte du contexte actuel des changements climatiques est l'essor pour parvenir au

développement durable dans le secteur. Plusieurs études ont recommandé l'utilisation d'engrais verts et de jachères dans la restauration des sols dégradés (Saragoni *et al.*, 1992 ; Sogbedji *et al.*, 2006) et à l'élaboration de composts de déchets pour l'amélioration des propriétés physico-chimiques du sol et l'augmentation de leur fertilité (Tchegueni *et al.*, 2012 ; Toundou *et al.*, 2014). Selon Toundou *et al.* (2014) et Tchegueni *et al.* (2012), les composts de déchets améliorent significativement les propriétés chimiques (la teneur en fertilisants) du sol et par conséquent le rendement du maïs (jusqu'à 8t/ha contre 3t/ha pour les traitements sans amendement). Dans une étude de Sawadogo *et al.* (2008) concernant l'impact des composts sur le rendement du sorgho, une amélioration très significative par rapport au traitement sans amendement (1,28 t/ha contre 0 t/ha pour le témoin absolu) est observée. Bado *et al.* (1998) et Biielders *et al.* (2002) ont constaté également des augmentations de rendement sur des cultures diverses comme le sorgho et le riz grâce à l'utilisation des phosphates naturels et de la matière organique. Cependant, aujourd'hui, peu d'études se sont intéressées au développement de techniques culturales permettant à la fois la restauration des sols dégradés et l'adaptation des plantes au déficit hydrique compte tenu de l'irrégularité des pluies et de l'augmentation progressive des températures. Les substances organiques à travers leur structure permettent de maintenir voire améliorer la fertilité des sols appauvris par l'excès d'utilisation d'engrais minéraux très solubles (Bresson *et al.*, 2001). En effet, la matière organique du compost contient de l'humus qui intervient dans l'assimilation des ions par la plante et leur rétention dans le sol. Selon Lakhdar *et al.*, (2008) et Garcia *et al.*, (2012), l'ajout de matière organique au sol favorise l'adaptation de la plante aux conditions du déficit hydrique. Les composts tamponnent et améliorent aussi le pH, la conductivité électrique et le potentiel redox des sols en fonction des matières premières utilisées dans leur production. En effet, les composts de déchets verts, le compost d'écorces et le compost de tourteaux de café, qui sont les produits les plus riches en calcium, ont un effet alcalinisant sur le sol. En revanche, le fumier frais et le fumier déshydraté n'ont pas d'effet statistiquement significatif sur le pH.

II. Le compostage

Face aux défis d'amélioration des conditions d'agriculture, pour assurer d'une part la réutilisation des déchets biodégradables (déchets ménagers, production de phosphate, d'huile d'olive, ...) et d'autre part pour augmenter le rendement des plantes et des arbres, il existe une solution simple, naturel, écologique, et rentable de point de vue économique : la technique de

compostage, qui offre des solutions permettant de transformer les déchets organiques. C'est également la solution la plus acceptable pour assainir des matières organiques fraîches.

II.1. Définition du compostage

Le compostage est une transformation aérobie de la matière première par l'action successive des micro-organismes (bactéries, levures, et champignons), dont la concentration peut atteindre des millions, voire des milliards par gramme de compost (Barje *et al.*, 2008 ; Amir *et al.*, 2010 ; El fels 2014).

De façon plus précise, le compostage est 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 (Remy, 2007 ; Amir *et al.*, 2010 ; Dieng *et al.*, 2019).

Toutefois, les déchets organiques fermentescibles contiennent en proportions très variables et sous des formes plus ou moins accessibles aux microorganismes aussi bien des produits simples et facilement fermentescibles tels que les sucres, l'amidon, les graisses, les protéines, etc., et d'autres dont la décomposition biologique est beaucoup plus lente (hémicellulose, cellulose, lignine, etc.). Ces matières peuvent être d'origine animale comme végétale. En fait, ce processus est décrit selon Dieng *et al.*, (2019), par :

- Une oxydation de la fraction fermentescible avec stabilisation de la matière organique.
- Une déshydratation consécutive à l'échauffement et à l'aération.
- Une destruction des germes pathogènes (hygiénisation) résultante essentiellement de l'élévation de la température.

Globalement, ce processus correspond à une oxydation de la matière organique avec formation d'eau, de dioxyde de carbone et dégagement important de chaleur responsable primordial de l'hygiénisation du produit. On doit noter que les quantités d'eau formées par cette réaction sont négligeables en regard des quantités d'eau évaporées par le dégagement de chaleur (Amir, 2005 ; El fels, 2014).

II.2. La normalisation et réglementation du compost

Les normes sur le compost sont devenues nécessaires par la progression de l'industrie du compostage. Au Maroc, à ce jour aucune norme n'existe sur le compostage.

Toutefois, une définition des déchets biodégradables par rapport aux autres types de déchets est fournie par la loi marocaine 28-00 :

Déchets : tous résidus résultant d'un processus d'extraction, exploitation, transformation, production, consommation, utilisation, contrôle ou filtration, et d'une manière générale, tout objet et matière abandonnés ou que le détenteur doit éliminer pour ne pas porter atteinte à la santé, à la salubrité publique et à l'environnement (Article 3 de la loi n° 28-00 relative à la gestion des déchets et à leur élimination).

Déchets biodégradables : tout déchet pouvant subir une décomposition biologique naturelle, anaérobie ou aérobie, comme les déchets alimentaires, les déchets de jardins, de papiers et de cartons ainsi que les cadavres des animaux. (Article 3 de la loi n° 28-00 relative à la gestion des déchets et à leur élimination).

II.3. L'utilité de filière de compostage

Au Maroc la production des déchets est variée ; majoritairement des déchets ménagers, déchets verts, déchets des stations d'épurations et les déchets industriels, de l'agro-alimentaire, des huileries et des résidus de l'industrie de phosphate, etc. Le problème s'accroît en l'absence de filière de traitement des déchets et des opérations de séparation entre les résidus inorganiques et des fractions organiques biodégradables. Alors que plusieurs études précédentes ont montré que la filière de compostage est bien adaptée pour une large gamme de substrats : effluent liquide d'huilerie, déchets ménagers (Barje *et al.*, 2012 ; Abouelwafa, 2008 ; El fels 2014 ; Ayoub *et al.*, 2020), les boues de STEP et déchets verts (Amir *et al.*, 2001, 2010, Jouraiphy *et al.*, 2007, El fels, 2014).

Ces auteurs ont montré que le procédé de compostage est une écotecnologie et biotechnologie utilisant les potentialités microbiennes, pour transformer les substrats organiques, en un compost stable et mature et exempt de toute phytotoxicité. Ce qui permet de

réduire les masses et les volumes de déchets à moitié. Ainsi que, il se produit une transformation de l'azote ammoniacal, responsable principale des odeurs nauséabondes, en azote organique par les micro-organismes au cours du process d'humification. L'augmentation de la température au cours du compostage permet aussi la destruction des agents pathogènes et la destruction de graines d'adventices, ainsi que l'inhibition de l'activité de certains champignons à l'origine de certaines maladies phytopathologiques. Aussi, il possède un effet à long terme dans le sol comparable aux fertilisants chimiques. D'autres vertus sont attribuées aussi aux composts comme la diminution de l'érosion des sols, l'augmentation de la capacité de rétention en eau ou l'amélioration des échanges gazeux, ainsi que l'enrichissement et le maintien de la biodiversité des populations microbiennes des sols.

II.4. Intérêts agronomiques

Les bénéfices agronomiques liés à l'application des composts dans le sol sont diversifiés. Il améliore l'adsorption des éléments nutritifs par la plante, ainsi que la stimulation de l'activité microbienne du sol et celle des microorganismes du compost lui-même. Sa valorisation agronomique a beaucoup d'avantage pour le sol et la végétation (Hafidi et *al.*, 2011). L'utilisation du compost favorise ainsi le processus de reforestation en améliorant la nutrition et la croissance des plantes mais surtout en augmentant leur potentiel de survie pendant les périodes de sécheresse (Guittonny-Larchevêque, 2004 ; Cefrepade, 2008). Les travaux de Sawadogo *et al.* (2008) ont montré notamment que les composts de déchets permettent d'améliorer la croissance et la productivité du sorgho. Aussi, Koledzi (2011) a mis en évidence l'impact positif des composts de déchets sur la productivité des carottes (de 1000 kg/ha à 2400 kg/ha). D'autres travaux ont porté sur la culture du maïs (Kolani, 2007 ; Toundou, 2010, 2016) et les rendements obtenus par utilisation de composts de déchets sont compris entre 6 et 8 t/ha contre 1 à 2 t/ha en moyenne pour des plantes témoins.

II.5. Les étapes du processus de compostage

La conduite du processus de compostage ainsi que l'âge des composts influencent leur qualité biologique. Ce processus est reconnu par la production de la chaleur générée principalement suite aux activités microbiennes. Des oxydations chimiques exothermiques peuvent également prendre part à l'échauffement du compost. Toutefois, l'origine abiotique de

l'échauffement est considérée négligeable devant l'origine biologique, lorsque les températures n'atteignent pas des valeurs très stressantes pour l'activité microbienne.

En fait, c'est l'évolution schématique de la température au sein du compost qui permet de définir quatre phases au cours du compostage (Figure 1). Ces phases sont largement décrites dans la littérature (Cedric Francou 2003 ; Amir 2008 ; Amir 2010 ; El fels 2014 ; Toundou, 2016 ; Atif *et al.*, 2018).

La **phase mésophile** correspond à la phase initiale du compostage caractérisée par une température généralement inférieure à 45°C (Amir *et al.*, 2010). Elle est due à la chaleur dégagée lors de la biodégradation des composés facilement assimilables par les microorganismes mésophiles telles que les glucides (hémicelluloses, sucres), les protéines et les lipides. La température idéale pour cette phase initiale du compostage est de 20 à 45°C. La durée de cette phase peut varier de 1 à 6 jours en fonction de la composition du tas et peut aller jusqu'à deux semaines en fonction des conditions environnementales, c'est pourquoi généralement est inaperçue et négligée (Amir, 2008, 2010 ; El fels, 2014 ; Toundou, 2016). La prolifération par la suite d'une forte activité bactérienne génère une élévation rapide de la température à l'intérieur du compost qui permet l'installation des conditions thermophiles ainsi d'autres microorganismes thermophiles et thermotolérants. Cette **phase thermophile** est caractérisée par une augmentation de la température du tas jusqu'à 60 à 70°C (Amir, 2010, Toundou 2016), résultante de la biodégradation de 46 à 62% de la matière organique par oxydation du carbone suivie organique et dégagement de CO₂, suivi par un assèchement du compost lié à l'évaporation de l'eau (Znaïdi, 2002 ; El fels, 2014 ; Toundou 2016). Cette phase est par une période de diminution de l'activité biologique suite au déficit des nutriments facilement assimilables. Durant laquelle la température diminue graduellement et les microorganismes mésophiles s'installent de nouveaux dans le compost. Ainsi, **La phase de refroidissement** est la phase intermédiaire entre la phase thermophile et la phase de maturation. Durant la phase de maturation, les nouveaux microorganismes mésophiles dégradent les polymères restés intacts en phase thermophile et incorporent l'azote dans des molécules complexes (Znaïdi, 2002 ; El Fels 2014 ; Toundou, 2016, Dieng *et al.*, 2019). Durant cette phase les populations microbiennes évoluent, ainsi que les champignons tirent bénéfices de la diminution de la température et de l'humidité au sein du tas. En fait, leur activité métabolique est fondamentale à l'humification de la matière organique. C'est la phase finale du processus au cours de laquelle la température atteint celle de l'air ambiant 20 à 30°C, le compost mûr obtenu est sous forme de terreau (Compaoré *et al.*, 2010 ; Toundou, 2016).

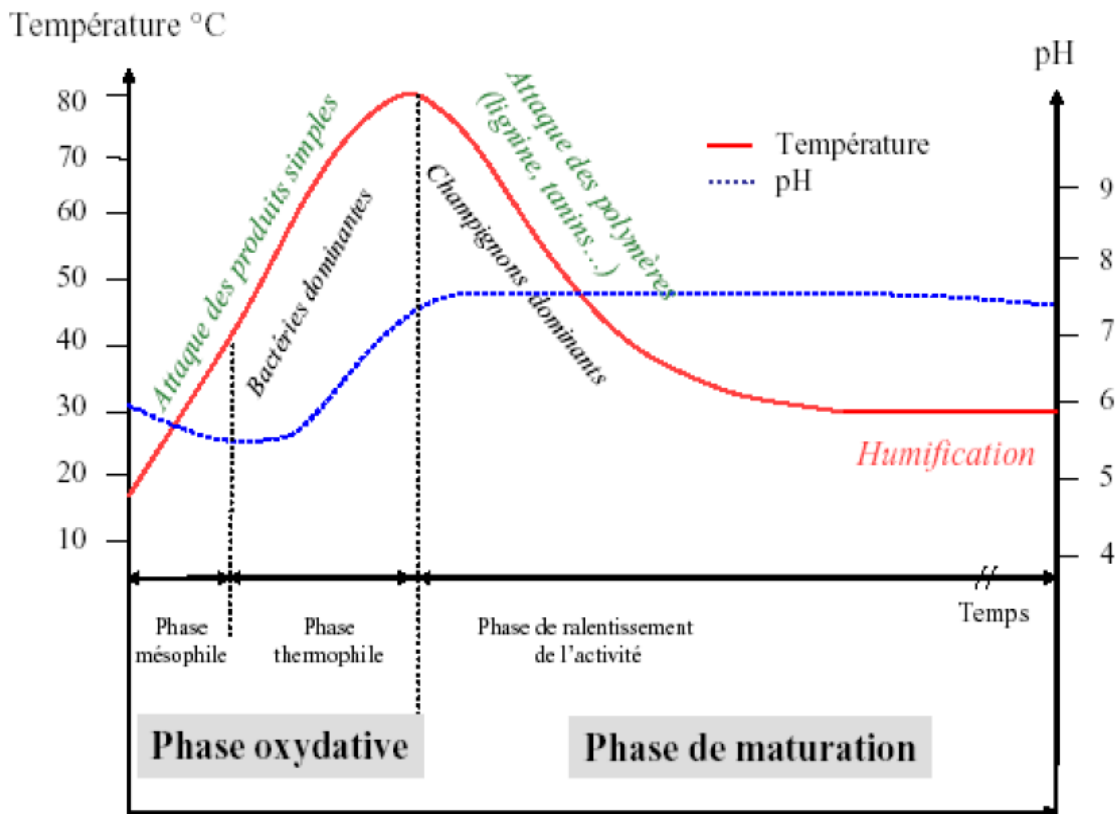


Figure 1. Courbe théorique d'évolution de température au cours du compostage (Mustin, 1987)

II.6. Les principaux paramètres physico-chimiques de fonctionnement du compostage

Les principaux paramètres du compostage sont ceux qui conditionnent le métabolisme microbien : l'oxygénation, pH, l'humidité, la température, la quantité et l'accessibilité des nutriments (Mustin, 1987 ; Lashermes 2010 ; Toundou 2016, Faverial 2016 ; Atif *et al.*, 2018)

La température est le premier paramètre physico-chimique qui reflète la biodégradation de la matière organique. Le suivi de la température est un indicateur pertinent de l'activité microbienne. Le suivi de la température renseigne donc sur la qualité du processus de dégradation (Soudi, 2009). La température de la phase thermophile ou la phase d'hygiénisation pour un compostage bien aéré peut atteindre 65°C (Amir, 2010 ; El fels, 2014). Une température supérieure à 80°C inhibe l'activité bactérienne et par

conséquent affecte négativement le procédé du compostage et peuvent être létale pour la population microbienne (Khalil *et al.*, 2001 ; Liang *et al.*, 2003). Selon Souidi, (2009) et Kolezi, (2011), l'hygiénisation du substrat à une température au-delà de 55°C au moins pendant 5 jours du compostage à l'air libre permettent une bonne hygiénisation. Cependant, selon l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) France (1998), la température devrait dépasser 60°C pendant une semaine pour obtenir une bonne hygiénisation. En effet, la stabilisation de la température est un signe de stagnation des activités biologiques (Toundou, 2016 ; Faverial, 2016 ; Atif *et al.*, 2018).

L'**oxygène** est utilisé par la population microbienne lors de la respiration aérobie et l'oxydation des déchets organiques. Cet indice représente la quantité de la matière organique facilement dégradables. Toutefois, la respiration ou la demande biologique de l'oxygène d'un compost peuvent diminuer en raison de plusieurs facteurs. Sa présence est donc nécessaire au cours du procédé de compostage pour maintenir les conditions aérobies nécessaires à une dégradation du substrat rapide et inodore. Le taux minimal d'oxygène dans les espaces lacunaires d'un compost en fermentation doit être de 5% et au fur et à mesure de la dégradation, le besoin en oxygène diminue. L'aération pendant les premières phases à forte demande en oxygène accélère l'activité des microorganismes et abrège la période de décomposition active réduisant ainsi le temps et l'espace nécessaire au compostage. Le besoin en O₂ décroît ensuite au fur et à mesure que la matière organique est oxydée (Amir, 2010 ; El fels, 2014 ; Toundou, 2016 ; Faverial 2016).

Toutefois, il faut tenir en compte qu'une bonne oxygénation dépend des caractéristiques physico-chimiques du substrat, et plus particulièrement leur fermentescibilité, et les quantités d'O₂ à apporter seront d'autant plus importantes que le substrat est plus fermentescible.

De même, l'efficacité de l'oxygénation du compost est très largement dépendante de la diffusion et la circulation de l'air dans la masse compostée qui sont directement influencées par :

- La granulométrie des constituants du mélange.
- La structure de ces constituants.
- L'humidité du mélange.
- La technique de compostage employée.

A l'exception de certains composts qui sont capables de maintenir passivement la quantité d'O₂ adéquate par convection et diffusion naturelle, en générale, une aération active fournie par des compresseurs et ou par brassage et retournement des ingrédients du compost est nécessaire pour assurer des conditions de biodégradation homogènes et optimales des substrats.

L'humidité : la teneur en eau ou l'humidité est un facteur indispensable pour le déroulement des réactions biochimiques et métaboliques de la cellule microbienne dans le processus du compostage. Si la teneur en eau est en dessous de 20%, la décomposition sera inhibée et limite le développement microbien. En revanche, si elle dépasse 70%, l'eau sature les espaces lacunaires et étouffe les microorganismes des déchets et empêche les échanges d'oxygène, provoquant des conditions favorables à l'anaérobiose, le retournement fréquent du tas est nécessaire pour le maintien du substrat dans la marge optimale d'aération et d'humidité. Selon plusieurs auteurs (Jouraiphy, 2007 ; Amir 2010 ; El fels, 2014 ; Toundou, 2016) une partie d'énergie calorique dégagée lors du compostage sert à l'évaporation de l'eau qui est en grande partie évacuée à l'extérieur du tas, provoquant sa déshydratation. Pour compenser une perte excessive en eau qui limiterait l'activité microbienne, un arrosage est souvent réalisé.

Les formes d'azote minéral sont des critères importants permettant de déterminer la qualité et la maturité des composts. Lors de la décomposition des protéines, il y a une libération d'ammonium. Vers la fin de la phase thermophile et en présence d'oxygène, l'ammonium est transformé en nitrite puis en nitrate (Mathur *et al.*, 1993 ; Heller, 1999). Ainsi, le rapport $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ est un indicateur permettant d'une part, de différencier les digestats des composts (Schleiss *et al.*, 2002) et d'autre part, la caractérisation du degré de maturité des composts (Schleiss *et al.*, 2002). En outre, le rapport $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ permet de limiter les risques de blocage de l'azote lors de l'utilisation des composts (Berner *et al.*, 1996).

Un compost mûr doit être caractérisé par un rapport de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ inférieur à 0,16 (Bernal *et al.* 1998). Cependant ce rapport reste variable d'un pays à l'autre, à titre d'exemple les directives suisses sur la qualité des composts exigent un rapport de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ supérieurs à 2 pour un compost utilisé en horticulture, et un rapport supérieur à 20 pour un compost destiné aux cultures sous abris et aux utilisateurs amateurs (Fuchs *et al.*, 2001). La forte concentration de nitrite dans un compost peut être expliquée soit par l'immaturité du compost ou par le mal stockage c'est-à-dire une mauvaise aération. Dans ce cas, le nitrate est réduit en nitrite par certaines bactéries, ce qui diminue fortement sa qualité biologique (Fuchs, 2002).

Le rapport C/N : Le carbone et l'azote sont les principales ressources pour l'assimilation microbienne. Les bactéries oxydent le carbone comme source d'énergie et incorporent l'azote pour la synthèse des protéines, acides aminés, acides nucléiques, enzymes et coenzymes pour la croissance et le métabolisme de la cellule microbienne. Le processus du compostage entraîne

une décomposition du substrat, donc une consommation de l'azote et du carbone, aboutissant à la diminution du rapport C/N (figure 2). Le C/N d'un compost est très variable et dépend de la composition intrinsèque de la matière compostée (Amir, 2005). Dans la littérature, le rapport C/N entre 20 et 30 a été recommandé comme un optimum pour le lancement du compostage. Un rapport initial de C/N=30 s'avérerait le plus adéquat pour un compostage rapide et garantirait une meilleure conservation de l'azote. Alors, plus ce rapport est élevé, plus le déchet destiné au compostage est riche en carbone organique. Le rapport C/N est donc un facteur nutritionnel important dont la valeur optimale est définie par de nombreux auteurs et dépend des caractéristiques initiales du substrat à composte (Jouraiphy 2007 ; Amir, 2010 ; El fels, 2014 ; Toundou, 2016).

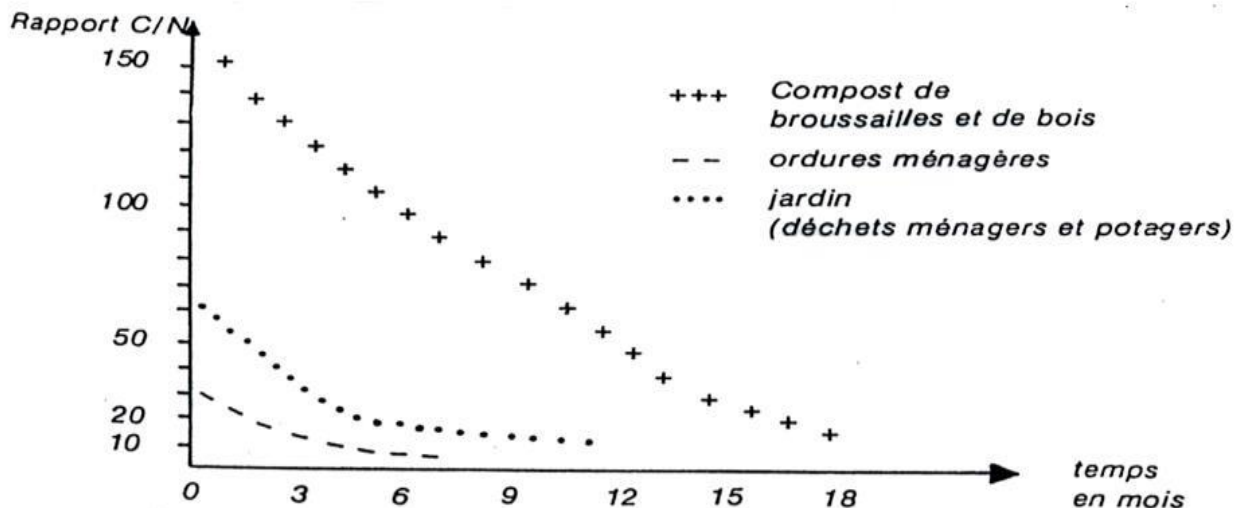


Figure 2. Evolution du rapport C/N de différents substrats au cours du compostage (Hafidi, 2011)

Le pH : Le suivi du pH est un paramètre aussi indicatif du degré de décomposition biologique et biochimique des déchets initiaux. Selon plusieurs auteurs, le pH optimal se situe entre 6 et 8 (Amir, 2005 ; Abouelwafa *et al.*, 2008 ; El fels, 2014 ; Dieng 2019). En effet, au cours de la dégradation aérobie, les variations de pH distinguent deux phases qui se succèdent : une phase acidogène suivie d'une alcalinisation. La phase d'acidogenèse caractérisée par l'oxydation des molécules simples (sucres, lipides...) déclenchée par les micro-organismes mésophiles libérant des acides organiques qui provoquent une acidification du tas (Attrassi *et al.*, 2005 ; Compaoré *et al.*, 2010). Alors que l'alcalinisation est générée par la production du

gaz ammoniac : phase d'alcalinisation. Alors qu'un phénomène de stabilisation est toujours produit dans le compost par le pouvoir tampon de l'humus qui est formé dans la phase de maturation du compost.

II. 7. Disponibilité des éléments minéraux (phosphore)

Les teneurs en phosphore et en potassium du compost permettent d'évaluer sa qualité agronomique. Les teneurs en potassium recommandées par la FAO et AFNOR sont comprises entre 0,4 et 1% M.S. Koledzi (2011) et Compaoré *et al* (2010) ont rapporté une amélioration des teneurs en phosphore dans les composts en rajoutant du phosphate naturel. En fait, ces auteurs ont trouvé des teneurs en phosphore totale comprises entre 1030 mg P/kg MS et 5285 mgP/kg MS dans les composts de déchets ménagers et de phosphate naturel.

Le phosphore Le processus de maturation du compost augmente la solubilité du **phosphore** dans l'eau. Autrement, le phosphore précipite avec le calcium (Ca) et le magnésium (Mg) pour former des composés insolubles. Ces composés organiques phosphorés peuvent cependant être reminéralisés ultérieurement (Traore *et al.*, 1999). Le pH du sol agit directement sur la disponibilité du phosphore, un sol acide est plus riche en phosphore qu'un sol basique formé essentiellement de carbonates (Sinaj *et al.*, 2002).

En fait, le phosphore est un élément minéral indispensable pour le développement et la croissance des plantes et pour s'y nourrir, les plantes le prélèvent de leur milieu sous forme d'ions H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} . Parmi ses principaux rôles, on trouve que le phosphore intervient dans la constitution de certains éléments structuraux essentiels à la vie cellulaire (acides nucléiques, phospholipides), dans les échanges d'énergie (phosphorylation d'un composé organique) et dans de très nombreuses réactions métaboliques (réactivité de substrats ou changement de conformation réactionnelle de coenzyme). Un équilibre s'établit entre le phosphore minéralisé et le phosphore immobilisé, entraînant des disponibilités du phosphore très variables selon le type de sol (nombre de sites d'adsorption, pH). Tester *et al.* (1979) ont montré que l'apport de phosphore extractible par un même compost est très différent suivant le sol amendé.

II.8. Evolution de la communauté microbienne au cours du compostage

La stabilité et maturité du compost est estimée par l'activité microbienne, et par son odeur. La décomposition de la matière organique par les microorganismes est le pilier de la transformation des déchets organiques au cours du compostage. L'évolution des microorganismes, au cours des différentes phases du processus de compostage présente un profil défini en fonction des espèces. Cette évolution est liée principalement aux changements des paramètres physico-chimiques, la nature et la structure des substances compostés (Jouraiphy, 2007 ; El fels, 2014). Une bonne compréhension de ces changements exige une étude précise des successions de communautés microbiennes comprenant l'ensemble des micro-organismes. La microbiologie du compostage doit être étudiée au travers de divers aspects, comme par exemple, la composition et l'évolution de communautés microbiennes pendant le procédé, les micro-habitats, ainsi que les fonctions des microorganismes au sein de la communauté (Haruta *et al.*, 2005 ; Larbi, 2006). On doit insister sur l'importance de la très grande diversité des micro-organismes impliqués et surtout sur les successions de ces populations microbiennes qui se développent si les conditions leur sont favorables (Godden, 1995 ; Jouraiphy, 2007 ; El fels, 2014).

Les micro-organismes jouent un rôle important dans la dégradation de la matière organique complexe comme la cellulose, la lignine, la chitine et les protéines. Certains micro-organismes apparaissent lors de la phase thermophile du compostage et d'autres durant la phase de refroidissement (Jouraiphy, 2007 ; El fels ; 2014, Toundou, 2016). En fait, les micro-organismes responsables de la dégradation de la matière organique sont de trois types : les bactéries, les champignons et les actinomycètes.

Les bactéries sont toujours présentes dans la masse des déchets organiques dès le début du processus du compostage : **dites endogènes**. Elles restent actives durant tout le procédé et surtout pendant la phase de réchauffement. Elles se multiplient très rapidement. Certains présentent des exigences bien déterminées, par exemple, les micro-organismes du genre *Thermus* et *Bacillus* sont souvent rencontrés dans les tas à haute température (Beffa *et al.*, 1996).

Une multiplication rapide et la grande diversité d'espèces pendant la phase thermophile permettent une vaste utilisation de résidus organiques (Amir, 2008 ; Barje, 2010 ; Toundou, 2016). Selon une étude réalisée par Chandna *et al.*, 2013, pendant la phase initiale, le nombre de bactéries mésophiles a augmenté rapidement au cours des dix premiers jours, soit $1,7- 2,84 \times 10^9$ Ufc g⁻¹. Cependant, les bactéries thermophiles étaient dominantes à partir de 11 à 32 jours

du compostage, soit 10^8 à 10^7 ufc g^{-1} , et enfin, la population microbienne se stabilise entre 10^6 à 10^5 ufc g^{-1} au cours du stade de maturation et de refroidissement (Chandna *et al.*, 2013).

Les champignons et les moisissures agissent surtout sur les substances qui résistent aux bactéries. Cependant, ils entrent dans des phases de dormances à des températures supérieures à $50\text{ }^\circ\text{C}$, ils supportent mal les hautes températures et une teneur élevée en eau (humidité élevés) (Amir *et al.*, 2010). Ils sont essentiellement actifs pendant la phase mésophile et la phase de maturation et qui se développent préférentiellement à des températures situées entre $25\text{ }^\circ\text{C}$ et $45\text{ }^\circ\text{C}$ et sont responsables de la dégradation des polymères complexes ce qui explique qu'on les retrouve plus particulièrement en périphérie du compost (Jouraiphy 2007 ; Amir, 2008 ; El fels, 2014, Atif *et al.*, 2018).

Les actinomycètes constituent une sorte de bactéries formant des filaments multicellulaires, agissent plus tardivement que les bactéries et les champignons et se développent moins rapidement. Les actinomycètes tolèrent des pH légèrement basiques mais leur croissance est lente. Ils sont dominants dans les derniers stades du compostage en s'attaquant aux structures les plus résistantes comme la cellulose et la lignine (constituants du bois notamment) (Godden, 1995 ; Jouraiphy, 2007 ; El fels, 2014, Atif *et al.*, 2018).

Tableau 1. Micro-organismes contribuant au compostage (Mustin, 1987)

Groupe	Caractérisation et commentaires
Les bactéries	<ul style="list-style-type: none"> • Toujours présente dans les composts, largement dominants en qualité et en quantité. • Forte croissance si C/N est faible et l'humidité est élevée. • Large spectre d'activité sur large gamme de pH.

<p>Les champignons</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Dominants si C/N est élevé (dégradation de la cellulose et de la lignine). • Capable de croître avec des taux d'humidité plus bas. • Tolérance d'une large gamme du pH (2-9).
<p>Les actinomycètes</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Attaquent des substances non dégradées par les bactéries et les champignons. • Neutrophiles. • Développement dans les phases finales du compost.

Le déroulement du processus du compostage s'effectue essentiellement via trois principaux microorganismes qui sont les bactéries, les champignons et les actinomycètes. Dans les mêmes conditions physico chimiques, on pourrait trouver des algues, des virus, des protozoaires. Parfois d'autres macro-organismes peuvent intervenir, à savoir les lombrics, les insectes, les acariens, les gastéropodes, les myriapodes, les cloportes, etc. Par ailleurs, les composts peuvent être colonisés par d'autres micro-organismes pathogènes pour l'homme tels que des bactéries comme *E. coli*, de genres *Pseudomonas* et *Staphylococci*, des champignons comme *Aspergillus fumigatus* et du genre *Penicillium* ainsi que des virus de types Coxsackie-B-virus et Echo-virus (Toundou, 2016).

III. Critères de maturité des composts

La maturité et la qualité du compost dépendent essentiellement du degré de stabilisation de la matière organique. En fait, il est nécessaire de déterminer le degré de maturité du produit, c'est à dire le stade où le compost n'a pas d'effet phytotoxique. Pour déterminer la maturité et la classe d'un compost, il y a plusieurs critères ou indicateurs à savoir l'odorat, la couleur (sombre), la granulométrie, etc.

De nombreuses études ont proposé un nombre de critères et paramètres communs comme bases de suivi de l'évolution et de la transformation du mélange à composter (Tableau 2) (Jiménez et Garcia, 1992b ; Ouatmane, 2000 ; Brinton, 2000). Ces paramètres permettent de déterminer des indices de stabilité et maturité du compost final. Néanmoins, il n'existe pas de

critère de maturité unique et universel, il est souvent nécessaire d'utiliser simultanément plusieurs critères pour s'assurer de la maturité d'un compost.

Tableau 2. Récapitulatif des différents critères de stabilité et de maturité d'un compost

Critères physiques	Odeur, couleur, aspect (terreau homogène), absence de reste végétal ou autres débris non bien décomposés), température.
Critères chimiques	Rapport C/N, capacité d'échange cationique CEC, NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , rapport NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺ , pH, analyse des substances facilement biodégradables (sucres, acides aminés, phénols etc.) et des fibres.
Critères microbiologiques et enzymatiques	Activité de phosphatase alcaline, indicateurs des microorganismes : phospholipides, mesure de biomasse, métabolisme latent évalué par le taux respiratoire et la capacité d'auto-chauffage.
Test de germination	Évaluation de la phytotoxicité résiduelle (taux de germination des graines, longueur des racines) sur Cresson « <i>Lepidium sativum</i> L. » et Ray grass « <i>Lolium perenne</i> L. » ou d'autres plantes tests.
Critères spectroscopiques et analytiques	Des composts ou de leurs substances humiques (acides humiques et fulviques) : Analyse Élémentaire, Spectroscopies Infrarouges (FTIR) et Résonances Magnétiques Nucléaires (RMN), Chromatographie sur gel de Séphadex, Thermochemolyse / Chromatographie Phase Gazeuse / Spectroscopie de Masse, Rayons X, Spectrométrie UV, de fluorescence, etc.

III.1. Les critères empiriques

Expérimentalement, un compost mature, doit ressembler à du terreau avec une couleur « noire foncée », une odeur normale et souple au toucher avec une texture friable (Iglesias-Jimenez et Perez-Garcia, 1989 ; Mbuligwe *et al.*, 2002). Sa température en fin de processus doit être stable et proche de la température ambiante (Harada *et al.*, 1981 ; Barje *et al.*, 2013).

III.2. Indicateurs physiques

Parmi les indicateurs physiques les plus significatifs de l'évolution des substrats, on trouve celui de la température. En effet, toute augmentation de la température des andains au-delà de la température ambiante pourrait être expliquée comme un indicateur de l'évolution des substrats.

III. 3. Indicateurs chimiques

Les principaux paramètres chimiques relatives au degré de maturité des composts se basent sur l'évolution de : pH, le rapport C/N et le rapport $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ (Charnay, 2005). Généralement, les composts immatures se caractérisent par un pH acide. Alors que les composts matures ont un pH neutre ou limité entre 7 et 9 (Avnimelech et *al.*, 1996). Le rapport C/N présente un indice important dans l'évaluation de la maturité d'un compost. Un rapport C/N inférieur à 12 est considéré comme un indicateur de maturité du compost (Iglesias-Jimenez et *al.*, 1993 ; Bernal, 1998). Généralement, l'équilibre microbiologique d'un sol ne s'altère pas en appliquant un compost avec un rapport C/N inférieur à 15 ($\text{C/N} < 15$) (Bernal, 1998). Sanchez-Monedero, (2001) ont justifié la maturité d'un compost d'ordures ménagères qui a perdu environ 40% de son azote par son rapport $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^- < 1$. L'azote organique des composts stabilisés, se minéralise lentement, avec une vitesse similaire à celle des sols (0,26 mg N/kg/j) sans évolution avec l'âge du compost (Charnay, 2005 ; Achour, 2008).

Pour les composts moins stables, la vitesse de minéralisation est supérieure (0,4 mg N/kg/j) (Houot *et al.*, 2002). En fait, la qualité du compost est évaluée par le suivi de l'évolution de la concentration l'azote. Certains micro-organismes nitrifient le substrat, entraînant une diminution de la concentration en ammonium et une apparition d'ions de nitrate. Un compost de matière organique ne pourrait être stable que lorsque la concentration en ammonium est autour de 0,04% soit 400 mg/kg (Zucconi et De Bertoldi, 1987). Le suivi du processus d'humification permet également l'appréciation de la maturité d'un compost (Harada et Inoko, 1981). Ledit processus d'humification permet d'une part d'augmenter l'oxydation de la MO et d'autre part, la production des groupes fonctionnels provoquant ainsi l'accroissement de la capacité d'échange cationique (C.E.C) (Harada et Inoko, 1981).

III. 4. Indicateurs biologiques et microbiologiques

Les paramètres physico-chimiques et malgré leur efficacité restent insuffisants pour déterminer avec conviction la maturité d'un compost. En effet, ces paramètres ne tiennent pas

compte les sous-produits de biodégradation ou de transformation des composés phytotoxiques, il s'agit d'une sous-estimation des risques phytotoxiques. Pour faire face à cette problématique, il vaut mieux de rassembler les indicateurs ou les paramètres physico-chimiques de maturité avec des paramètres biologiques. Les paramètres physico-chimiques et spectroscopiques peuvent évaluer la maturité d'un compost, mais à certaines limites, par le fait qu'ils demeurent incapables d'évaluer les risques de phytotoxicité réels et les effets des interactions des composés de biodégradation. Pour mieux comprendre la maturité des composts, plusieurs auteurs exigent une comparaison entre différentes méthodes des d'évaluation de la maturité des composts (A.D.A.S Consulting Limited, 2005 ; Francou, 2003 ; Avnimelech *et al.*, 1996 ; Morel *et al.*, 1986 ; Godden, 1986). Une méthode référence est introuvable, d'où la nécessité d'utiliser simultanément plusieurs paramètres afin de s'assurer de la maturité de compost. L'état de stabilité de la matière organique, ainsi que les conséquences sur l'activité microbienne des composts et des sols-plante demeurent parmi les principaux critères d'appréciation de la maturité d'un compost (Houot *et al.*, 2002). Un compost mature est un compost qui se caractérise le plus souvent par la germination et la croissance des plantes sans aucun effet phytotoxique.

IV. La phytotoxicité

Le meilleur indicateur de la maturité d'un compost c'est de s'assurer de l'absence de toute phytotoxicité. Ceci est souvent évaluée par l'étude de la germination ou par des tests de croissance des plantes (Saebo et Ferrini, 2006 ; Said-Pullicino *et al.*, 2007). Nombreuses études ont démontré que les tests de germination sont utilisés pour évaluer l'absence de la phytotoxicité du compost liée à leur incorporation au sol (El fels, 2014 ; Toundou). En fait, les composts matures ne doivent pas contenir des substances inhibant la germination des graines, la croissance et le développement des plantes. Plusieurs graines peuvent être choisies pour ce test par rapport au degré de leurs sensibilités (Navet, Maïs, Cresson, Luzerne, Tomate, Laitue...etc.).

Selon la littérature, l'acide acétique, acétaldéhyde, éthanol, acétone, éthylène et d'autres sont des composés libérés par les composts immatures, et ils contribuent aux effets phytotoxiques. Albuquerque *et al.*, (2006) a déclaré aussi les acides organiques parmi les causes de la phytotoxicité d'un compost. Parfois, juste une application directe du compost immature peut être une source de phytotoxicité en inhibant la germination et la croissance des

plantes (Levy *et al.*, 2003 ; Piotrowska *et al.*, 2006). Pour ne pas être le cas et pour évaluer la maturation d'un compost, il est conseillé de déterminer un indice, il s'agit de l'indice de germination (IG). La valeur de cet indice est comprise entre 0 et 100%, plus la valeur est proche de 100% plus que le compost touche les phases finales de sa maturation et par conséquent ne sera pas une source de phytotoxicité. Des études ont trouvé à peu près les mêmes résultats chez un certain nombre de plantes, lors des stades initiaux du compost l'IG était inférieur de 20,5% en indiquant une phytotoxicité importante des déchets d'huileries d'olives-déchets ménagers étudiés (Barje, 2010). Cependant un IG supérieur à 50% est reconnu comme étant celui d'un compost sans effet phytotoxique (Chikae *et al.*, 2006). Lorsque la valeur de l'IG est proche de 99%, dans ce cas-là on parle des stades finaux de compostage reflétant une réduction importante de la phytotoxicité et montrant ainsi un degré de maturité remarquable des composts obtenus.

V. L'effet suppressif des composts sur les agents pathogènes

Le processus du compostage est défini comme une option d'auto-stérilisation en termes de désinfection et d'inactivation des germes pathogènes (Hao *et al.*, 2009). Selon plusieurs auteurs, le compostage est un traitement très efficace des déchets bruts qui détruit presque tous les agents pathogènes et permet d'avoir un produit final qui répond aux normes d'utilisation en agriculture (Saebo et Ferrini, 2006 ; Soudi, 2005). A la fin du compostage, les composts mûrs renferment une communauté microbienne importante et diversifiée (Gobat *et al.*, 2003). Ainsi, l'amendement d'un sol par le compost ne signifie pas uniquement un apport de matières humifères et des composés minéraux, mais aussi un apport de microorganismes vivants.

A part la destruction des agents phytopathogènes, le compost peut favoriser le développement de microorganismes antagonistes permettant la protection des plantes contre les maladies telluriques (Tableau 3) Ces effets protecteurs ont été observés aussi bien au laboratoire « in vivo » que dans les champs de culture « in situ ». Une expérience a montré que l'utilisation d'un compost à base de fumier a pu réduire d'environ 80 % à 90 % la maladie du gazon de golf « Dollar Spot » causée par le champignon *Sclerotinia homeocarpa* (Block, 1997). Aussi, Widmer *et al.* (1998) ont aussi constaté que l'apport de compost d'ordures ménagères (compost de cuisine) a protégé des boutures d'agrumes contre *Phytophthora nicotiana*. Sidhu *et al.*, (2001) ont rapporté aussi que la micro-flore bactérienne « indigène » pourrait jouer un rôle majeur dans la répression de croissance des *Salmonella*. En revanche, une quantité en excès de

compost peut avoir une influence négative sur la croissance des plantes, probablement à cause d'une teneur en sels trop élevée. La capacité de protection des plantes contre les maladies varie d'un compost à l'autre (Volland et Epstein, 1994 ; Craft et Nelson, 1996 ; Hoitink *et al.*, 1997 ; Dissanayake et Hoy, 1999 ; Fuchs, 2000 ; Fuchs et Larbi, 2004). La variabilité des effets observés de différents composts exige une meilleure reconnaissance de l'utilisation des composts à large échelle pour des mesures ciblées de protection des plantes (Nelson et Boehm, 2002).

Pour satisfaire les attentes des utilisateurs, la production des composts possédant des qualités définies et durables est une nécessité. Généralement, il y a deux types de mécanismes biologiques contrôlant les infections : la suppressivité « spécifique » et la suppressivité « générale » des composts contre les maladies telluriques (Hoitink *et al.*, 1997). La suppression de type « générale » est liée à la compétition entre les microorganismes, efficace par exemple contre *Pythium* et *Phytophthora* spp. (Chen *et al.*, 1988a et 1988b ; Boehm *et al.*, 1993 ; Mandelbaum et Hadar, 1990 ; Hardy et Sivasithamparam, 1991 ; Fuchs et Larbi, 2004). Dans les autres cas, le phénomène est souvent plus ciblé, est dû à un groupe restreint d'antagonistes, on parle alors de suppression de type « spécifique ». Comme exemple, Hoitink *et al.*, (1991) a remarqué dans les cultures hors sol amendées avec du compost, un antagonisme spécifique entre *Rhizoctonia solani* et *Trichoderma* spp (Kuter *et al.*, 1983 ; Nelson *et al.*, 1983). D'autres chercheurs ont pu mettre en évidence l'importance des microorganismes spécifiques dans le compost comme *Trichoderma asperellum* contre la fusariose de Tomate (Cotxarrera *et al.*, 2002), *Acromonium* spp. contre le pathogène parasite *Phytophthora nicotianae* (Widmer *et al.*, 1998), *Bacillus subtilis* (Phae *et al.*, 1990) ; *Aspergillus* spp., *Geotrichum* spp. et *Pythium* spp. (Theodore et Toribio, 1995). Généralement, les mécanismes de suppressivité impliqués se basent sur les interactions microbiologiques, telles la concurrence pour les nutriments (Chen *et al.*, 1988a et 1988b ; Theodore et Toribio, 1995 ; Boehm *et al.*, 1993 ; Hoitink *et al.*, 1993 et 1997 ; Fuchs et Larbi, 2004); la synthèse de substances antibiotiques (Nelson *et al.*, 1983 ; Theodore et Toribio, 1995 ; Craft et Nelson, 1996), l'hyperparasitisme (Kuter *et al.*, 1983 ; Nelson *et al.*, 1983 ; Hoitink et Fahy, 1986) et l'induction de résistance chez la plante hôte (Fuchs, 2002 ; Zhang *et al.*, 1997 et 1998 ; Horst *et al.*, 2005). Dans ce même contexte, Fuchs (2002) désigne des mécanismes de suppression quantitatifs (au lieu de généraux) et qualitatifs (au lieu de spécifiques). Selon, cet auteur, la suppression quantitative est principalement due à la quantité très importante de microorganismes apportés avec les composts jeunes, dont le mécanisme de concurrence est lié à la dominance ou au grand nombre des agents antagonistes. Alors que la suppression qualitative est principalement due à des microorganismes qui sont des

antagonistes plus efficaces, ceux-ci étant sélectionnés naturellement pendant le processus de compostage. L'action de ces microorganismes antagonistes peut être basée sur des relations d'hyperparasitisme ou sur la production de substances antibiotiques.

Cependant, les mécanismes de protection impliqués dépendent de l'organisme ciblé, par exemple un compost issu d'ordures ménagères et sous l'effet de chaleur, ce dernier perd sa capacité à protéger les plantes contre *Rhizoctonia solani* alors que son efficacité contre *Fusarium* sp. demeure intacte (Cohen *et al.*, 1998). L'inhibition de *R. solani* semble liée aux microorganismes non résistants à la chaleur, alors que celle de *Fusarium* sp. est probablement provoquée par des substances fongistatiques résistantes à la chaleur (Cohen *et al.*, 1998).

Généralement, c'est l'activité microbienne des composts qui permet une meilleure protection des plantes contre les maladies (Hoitink *et al.*, 1993 et 1997 ; Nelson et Hointik, 1983 ; Tilston *et al.*, 2002). Le traitement du compost par la chaleur détruit sa microflore, et par conséquent réduit à néant ses effets suppressifs (Nelson et Hointik, 1983 ; Trillas-Gay *et al.*, 1986 ; Brunner et Seemuller, 1993 ; Hadar et Mandelbaum, 1986 ; Hardy et Sivasithamparam, 1991 ; Theodore et Toribio, 1995 ; Serra *et al.*, 1996 ; Ringer *et al.*, 1997 ; Tilston *et al.*, 2002 ; Fuchs, 2002). Rarement, le compost garde sa faculté suppressive après sa stérilisation (Filippi et Bagnoli, 1992 ; Cohen *et al.*, 1998). En outre, plusieurs études, ont démontré une corrélation entre l'activité microbienne mesurée par la vitesse d'hydrolyse de diacétate fluorescent (FDA) et son pouvoir suppressif (Chen *et al.*, 1988a; Mandelbaum et Hadar, 1990 ; Boehm et Hoitink, 1992 ; You et Sivasithamparam, 1994 ; Bruns *et al.*, 1996 ; Craft et Nelson, 1996 ; Dissanayake et Hoy 1999 ; Diab *et al.*, 2003).

Divers antagonistes efficaces ont également été isolés à partir de composts d'écorces, à savoir: *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., *Penicillium* sp., *Mortierella* sp., *Paecilomyces* sp., *Geomyces* sp., *Ophiostoma* sp., *Bacillus* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp., et *Penicillium* spp., (Kuter *et al.*, 1983 ; Nelson *et al.*, 1983 ; Hoitink et Fahy, 1986 ; Phae *et al.*, 1990 ; Chung et Hoitink, 1990 ; Hoitink *et al.*, 1997). *Trichoderma hazianum* et *Trichoderma hamatum* ont été les deux champignons antagonistes les plus fréquemment isolés (Nelson *et al.*, 1983 ; Kuter *et al.*, 1983 ; Trillas-Gay *et al.*, 1986).

Tableau 3. Exemples de maladies telluriques dont l'incidence est réduite par l'apport de composts

Agents pathogènes	Plantes hôtes	Références bibliographiques
<i>Pythium. sp</i>	Agrostis	Nelson et Boehm, 2002
<i>Pythium graminicola</i>	Agrostis	Craft et Nelson, 1996
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	Coton	Cohen <i>et al.</i> , 1998
<i>Rhizoctonia solani</i>	Coton	Cohen <i>et al.</i> , 1998 ; Walter <i>et al.</i> , 1995
<i>Rhizoctonia solani</i>	Haricot	Lumsden <i>et al.</i> , 1983
<i>Plasmodio pharabrassicae</i>	Chou chinois	Tilston <i>et al.</i> , 2002
<i>Phytophthora nicotiana</i>	Citrus	Widmer <i>et al.</i> , 1998
<i>Aphanomyces euteiches</i>	Pois	Lumsden <i>et al.</i> , 1983 ; Walter <i>et al.</i> , 1995
<i>Phoma medicaginis</i>	Pois	Tilston <i>et al.</i> , 2002
<i>Pythium ultimum</i>	Pois	Bruns <i>et al.</i> , 1996
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i>	Concombre	Lumsden <i>et al.</i> , 1983
<i>Pythium sp.</i>	Concombre	Theodore et Toribio, 1995
<i>Pythium aphanidermatum</i>	Concombre	Hadar et Mandelbaum, 1986
<i>Pythium ultimum</i>	Concombre	Ben et Nelson 1999; Fuchs 1995
<i>Rhizoctonia solani</i>	Concombre	Ringer <i>et al.</i> , 1997
<i>Phytophthora fragariaef.sp. rubi</i>	Framboise	Neuweiler et Heller, 1998
<i>Rhizoctonia solani</i>	Impatiente	Diab <i>et al.</i> , 2003

<i>Verticillium dahliae</i>	Pommes de terre	Gent <i>et al.</i> , 1999 ; LaMondia <i>et al.</i> , 1999
<i>Plasmodiophara brassicae</i>	Chou	Ryckeboer et Coosemans, 1996
<i>Pythium ultimum</i>	Cresson	Erhart <i>et al.</i> , 1999 ; Fuchs, 2002
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lini</i>	Lin	Serra <i>et al.</i> , 1996
<i>Phytophthora cinnanomi</i>	Lupin	Hoitink <i>et al.</i> , 1997 ; Tuitert <i>et al.</i> , 1996
<i>Rhizoctonia solani</i>	Gazon	Nakasaka <i>et al.</i> , 1998 ; Nakasaka <i>et al.</i> , 1996
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i>	Oeillet	Pera et Filippi, 1987
<i>Phytophthora capsici</i>	Poivron	Lumdsen <i>et al.</i> , 1983
<i>Pythium ultimum</i>	Radis	Ringer <i>et al.</i> , 1997
<i>Rhizoctonia solani</i>	Radis	Ringer <i>et al.</i> , 1997
<i>Sclerotinia homeocarpa</i>	Gazon	Block, 1997
<i>Rhizoctonia solani</i>	Salade	Fuchs, 1995c; Fuchs, 2002; Rogger, 1996
<i>Sclerotinia minor</i>	Salade	Lumdsen <i>et al.</i> , 1983
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomate	Cotxarrera <i>et al.</i> , 2002 ; Harender <i>et al.</i> , 1997
<i>Phytophthora parasitica</i>	Tomate	Bruns <i>et al.</i> , 1996
<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>	Tomate	D'Amore <i>et al.</i> , 1998
<i>Phytophthora</i> sp.	Plantes diverses	Hardy et Sivasithamparam, 1991
<i>Fusarium culmorum</i>	Blé	Tilston <i>et al.</i> , 2002
<i>Gaeumannomyces graminis</i>	Blé	Tilston <i>et al.</i> , 2002

<i>Pseudocercospora herpatrichoides</i>	Blé	Tilston <i>et al.</i> , 2002
<i>Rhizoctonia solani</i>	Blé	Tilston <i>et al.</i> , 2002
<i>Phytophthora nicotiana</i>	Agrumes	Widmer <i>et al.</i> , 1998
<i>Pythium arrhenomanes</i>	Canne à sucre	Dissanayake et Hoy, 1999
<i>Botrytis cinerea</i>	Bégonia	Horst <i>et al.</i> , 2005

Beaucoup de travaux de recherche indiquent que le compostage est un processus considéré comme très efficace en termes d'hygiénisation dépendant de plusieurs paramètres : la température atteinte, la durée du traitement, l'amplification d'une flore saprophyte rentrant en compétition avec les populations pathogènes, et la stabilisation durable de la matière organique. Le potentiel suppressif des composts est changeable considérablement d'un compost à l'autre (Nelson et Boehm, 2002). En fait lors du compostage, une réduction significative du nombre de micro-organismes pathogènes à savoir les streptocoques fécaux, *Escherichia coli* et *Salmonella*, sera enregistrée dans un intervalle de température entre 58-65°C. Tandis qu'il y a d'autres bactéries sensibles aux antibiotiques émis par les bactéries lors du compostage (El-Abagy & El-Zanfaly, 1984). D'autre part, la maturation du compost est indispensable pour activer la compétition entre la biomasse totale du compost et les agents pathogènes. La quantité faible du carbone facilement dégradable dans un compost mature intensifie la compétition entre les micro-organismes du compost et les agents pathogènes.

VI. La lutte biologique

Actuellement, en agriculture biologique, les composts d'effluents d'élevage, les composts de déchets verts et les composts de bio-déchets, reconnus par des organismes de contrôle est couramment utilisés comme technique de lutte biologique.

VI.1. Définition

Scientifiquement, le concept de la lutte biologique contre les ravageurs est connu pratiquement depuis plus d'un siècle. Depuis, des efforts considérables ont été déployés pour développer cette méthode de la lutte contre les ravageurs (Hoffmann *et al.*, 1994). Plusieurs définitions sont fournies, mais van Driesche et Bellows (1996) ont proposé une définition plus ou moins générale et ont décrit la lutte biologique comme un processus agissant au niveau des populations et par lequel la densité de population d'une espèce est abaissée par l'effet d'une autre espèce qui agit par prédation, parasitisme, pathogénicité ou compétition ». En outre, la lutte biologique peut être définie par l'usage des microorganismes antagonistes ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou les dégâts causés par des organismes nuisibles et s'appuie sur une stratégie de défenses écologiques et durables. En fait, en agriculture biologique, les produits agricoles doivent être obtenus sans utilisation de produits chimiques de synthèse. Ainsi, en ce qui concerne la défense des végétaux, seuls les moyens biologiques, culturaux et les pesticides à base de substances naturelles sont autorisés (Pintureau, 2009). Selon d'autres auteurs, la lutte biologique est donc l'utilisation d'organismes vivants pour limiter la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures « rongeurs, insectes, nématodes, maladies des plantes et mauvaises herbes » (Vincent et Coderre, 1992 ; Eilenberg *et al.*, 2001; Jourdheuil *et al.*, 2002; Altieri *et al.*, 2005). La lutte biologique se base sur la régulation préventive et durable d'importants ravageurs par leurs ennemis biologiques naturels. Cette interaction se déroule entre trois éléments : le ravageur, l'auxiliaire et son habitat (Boller *et al.*, 2004).

VI. 2. Les biopesticides microbiens

Les agents microbiens sont soit des bactéries, des champignons, des levures, et même des virus. Ils sont employés dans le monde entier dans des cultures en champ et en serres pour la suppression ou la réduction de multiples maladies sur diverses céréales, légumineuses, fruits, fleurs et plantes d'ornement (Fravel, 2005 ; Paulitz and Bélanger, 2001).

VI. 3. L'intérêt de la lutte biologique

De point de vue écologique, la lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme. L'investigation de plusieurs modes d'action par un seul agent antagoniste et la mise

en jeu de sa capacité d'adaptation à la rhizosphère contribuent à ce que la lutte biologique devient plus durable que les produits chimiques (Cook, 1993 ; Benbrook *et al.*, 1996). En outre, l'application de la lutte biologique peut participer à la restauration de la biodiversité pour les agro-écosystèmes en introduisant des antagonistes naturels (Altieri, 1999 ; Nautiyal *et al.*, 2000). En plus, vue la problématique causée par la lutte chimique, celle-ci est de plus en plus remplacée par la lutte biologique. En effet, malgré que les traitements chimiques tels que les fongicides pourraient donner des bons résultats à court terme, mais malheureusement leurs utilisations à long terme, conduit à leur accumulation ou l'accumulation de leurs résidus dans l'environnement représentant un vrai danger. A l'opposé, la lutte biologique pourrait avoir des résultats relatifs à court terme, mais à long terme ne présentera pas des problématiques environnementales et économiques (Corbaz, 1990 ; Toussaint, 1996). En outre, la lutte biologique peut être aussi efficace dans le contrôle des maladies phytopathogènes que l'utilisation des fongicides chimiques (Emmert et Handelsman ,1999).

VI.4. Les microorganismes phytopathogènes et la lutte biologique

L'extension des cultures intensives a accentué davantage l'inquiétude vis-à-vis des maladies phytopathogènes (Seitz *et al.*, 1982 ; Alderman *et al.*, 1996). Les dégâts économiques causés par ces maladies phytopathogènes sont énormes, et en aboutit à la réduction de la production agricole mondiale d'environ 12 à 14%, dont 70% des dégâts sont d'origine fongique (F.A.O. 1999). Les champignons telluriques ou phytopathogènes sont à la tête des microorganismes générant les maladies chez les plantes, en réduisant d'une manière effrayante la productivité des cultures dans le monde entier, causant des pertes économiques importantes (Prapagdee *et al.*, 2008). Par exemple au Maroc, la fusariose est l'une des maladies fongiques les plus rencontrées, provoquant des pertes économiques énormes en attaquant plusieurs cultures telles que les lentilles (Belabid *et al.*, 2004), le palmier dattier (El Hassni *et al.*, 2005) et le pois chiche (Larbi, 1990). Les agents pathogènes des plantes responsables de cette maladie appartiennent au genre *Fusarium* spp. et d'autres espèces appartenant aux genres *Drechslera*, *Bipolaris* et *Exserohilum*. Elles sont responsables de la pourriture racinaire et des tâches foncées sur les feuilles. Par exemple, l'helminthosporiose, responsable des stries horizontales de couleur brunâtre des feuilles d'orge entourées de chlorose. Au stade avancé, les tâches se rejoignent et induisent rapidement la mort des feuilles atteintes (Bouzerzour, 1994).

A côté des maladies fongiques, il y a certaines bactéries qui induisent des maladies chez les plantes telles que *Erwinia* spp., *Agrobacterium tumefaciens* et *Streptomyces scabies* (Messiaen, 1991). *Streptomyces scabies* se compte parmi les agents qui peuvent affecter plusieurs cultures maraîchères (carottes, radis, betterave, etc.) et c'est l'agent responsable de la gale commune de la pomme de terre (Goyer et Beaulieu, 1997 ; Lehtonen *et al.*, 2004).

A cause de leur long séjour dans le sol, les champignons pathogènes telluriques sont difficiles à contrôler (Tschen, 1985). Parmi ces microorganismes, il y a même ceux qui sont capables de résister aux fongicides chimiques. Pour faire face à cette situation, il est temps de lancer une recherche sérieuse pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendantes des produits chimiques et sont plus respectueux à l'environnement (Prapagdee *et al.*, 2008). Parmi les alternatives les plus recommandées à l'heure actuelle, il y a celle de la lutte biologique qui reste toujours une méthode prometteuse pour la lutte contre les microorganismes phytopathogènes.

En effet, en plus de son rôle dans la restauration de la biodiversité dans les écosystèmes, la lutte biologique présente un rôle important dans le contrôle des phytopathogènes. Par exemple la lutte contre les ravageurs en agriculture biologique (AB) est basée avant tout sur une compréhension approfondie et une gestion intelligente du système agricole pour que les insectes nuisibles aient de la difficulté à trouver leurs hôtes et à s'y installer et que les auxiliaires soient en nombre suffisant pour maintenir la pression phytosanitaire en dessous d'un seuil économique critique.

Basée sur deux fondements : la biodiversité et la prévention (Boisclair et Estevez, 2006). L'agriculture biologique, de cette manière, dispose en théorie d'une gamme de technologies plutôt modernes pouvant remplacer le recours à des produits de synthèse pour lutter contre les ennemis des cultures. Dans ce contexte, on peut citer l'usage de variétés résistantes aux maladies et l'utilisation d'antagonistes dans la lutte contre les ravageurs et les maladies (FIMAB, 2004). En fait, cette dernière représente une alternative séduisante à la lutte chimique et peut être considérée comme une technique propre pour l'homme afin de produire sa nourriture d'une façon durable. Cependant, dans la réalité, l'agriculture biologique rencontre cependant des impasses techniques et doit accepter des rendements inférieurs qui restent acceptables grâce à des prix de vente plus élevés. En fait, par exemple, en ce qui concerne les pommiers, les phénomènes de résistance du carpocapse vis à vis du virus de la granulose pourraient remettre en cause le développement de cette agriculture (Berling *et al.*, 2009).

Actuellement, plusieurs produits de lutte biologique sont commercialisés et utilisés dans le monde (Tableau 4). (Fravel, 2005 ; Errakhi, 2008).

Tableau 4. Quelques agents antagonistes commercialisés sous forme de produits biologiques utilisés dans le traitement de certaines maladies des végétaux causés par des agents phytopathogènes (Sabaratnam et Traquair, 2002 ; Jijakli, 2003 ; Punja et Utkhede, 2003).

Produit	Microorganismes	Maladies traitées	Distributeur
AQ 10	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	Mildious	Ecogen, USA
Binab T	<i>Trichoderma</i> spp.	Pourriture des racines, fusariose	Bio innovation AB, nouvelle zélande, USA
Biofox C Fusaclean	<i>Fusarium oxysporum</i> (non pathogène)	Fusariose	S.I.A.P.A., USA
Bio-fungus	<i>Trichoderma harzianum</i>	Pourriture des racines, fusariose.	De Ceuster, USA, UE, Nouvelle Zélande.
Intercept	<i>Pseudomonas cepacia</i>	Pourriture des racines.	Soil Technologies, USA.
PSSOL	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Pourriture des racines.	Natural Plant Protection, France.
Contans KONI	<i>Coniothyrium minitans</i>	Pourriture des racines.	Prophyta Biologischer, Hongrie, Allemagne.
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i>	Pourriture des racines.	Biopreparaty, Tchèque.
Primastop (Prestop Mix).	<i>Gliocladium catenulatum</i>	Pourriture des racines, fusariose.	Kemira Agro, Finlande.
Root Shield, Plant Shield, T-22 Planter.	<i>Trichoderma harzianum</i> -T22.	Pourriture des racines.	Bioworks, USA, UE, Nouvelle zélande.

Soil Gard	<i>Gliocladium virens</i> GL-21.	Pourriture des racines	Therma Trrilogy, USA.
Sporodex	<i>Pseudozyma flocculoza</i>	Mildious.	Plant products, Canada.
Trieco.	<i>Trichoderma viride</i>	Pourriture des racines, fusariose.	Ecosens Laboratories, Inde.
GBO3, Mbi 600.	<i>Bacillus subtilis</i>	Fonte des semis.	Horiculture, USA.
Mycostop.	<i>Streptomyces</i> <i>griseovoridis.</i>	Fusariose, fonte des semis.	Kemira Agro Oy, Helsinki, Finlande.

VI. 5. Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés

La pourriture des racines de tomate est l'une des maladies les plus connues qui menace cette plante. Cette maladie est la conséquence d'une attaque d'un ou de plusieurs champignons phytopathogènes, à savoir *Gaeumannomyces graminis*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Gibberella avenacea* ou *Drechslera graminea*. Pour faire face à cette maladie Mavrodi *et al.*, (2006) ont démontré que les phénazines, dont la pyocyanine produite par *Pseudomonas aeruginosa*, permettent d'inhiber la croissance de tous champignons phytopathogènes produisant cette maladie pour cette plante.

Une autre espèce du genre *Pseudomonas* peut protéger aussi la plante de piment rouge avec un pourcentage de 78% contre la pourriture de son collet causée par le champignon *Sclerotium rolfsii*, il s'agit de *Pseudomonas fluorescens* (Singh *et al.*, 2003). Aussi, l'utilisation de deux agents biologiques *Gliocladium viloëreus* et *Burkholderia cepacia* ont pu réduire dans le champ les maladies de la tomate dues aux *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Mao *et al.*, 1998).

Dans le contexte de la lutte biologique basée sur l'induction de résistance, plusieurs espèces de bactéries gram-négatives sont également intensivement étudiées, telles que, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, *P. aureofaciens*, *P. corrugata* ou des entérobactéries du Serratia (*S. marcesens*, *S. plymuthica*) ou *Pantoea agglomerans*. La plupart de ces bactéries

vivent librement dans la rhizosphère mais certaines, telle que *Rhizobium elti* peuvent également pénétrer dans les espaces intercellulaires des tissus racinaires et donc se comporter comme des endophytes (Benhamou *et al.*, 2000 ; Reitz *et al.*, 2002).

Tableau 5. Agents de la lutte biologique utilisés contre des agents phytopathogènes (Errakhi, 2008).

Agent de biocontrôle	Agents phytopathogènes cibles	Mécanisme (s) d' action
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Roselliniana</i> spp.	Parasitisme
<i>Trichoderma koningii</i>	<i>Sclerotium rolfii</i>	Parasitisme
<i>Pseudomonas</i> spp. DF-41 et PA-2	<i>Sclerotinia</i> <i>Sclerotiorum</i>	Antibiose
<i>Streptomyces</i> sp. Di-944	<i>Rhizoctonia solani</i>	Antibiose
<i>Streptomyces</i> sp. 93	<i>Pythium aphanomyces</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Rhizoctonia</i> et <i>Fusarium</i> spp.	Antibiose
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Rhizoctonia bataticola</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotium rolfii</i> et <i>Puccinia arachidis</i>	Antibiose Compétition
<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> PonSSII	<i>Streptomyces scabies</i>	Antibiose Compétition
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> , <i>Pseudomonas tolaasii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Lini</i> et <i>Erwinia amylovora</i>	Antibiose Compétition

<i>Trichoderma</i> spp.	Plusieurs champignons phytopathogènes	Parasitisme Antibiose Compétition
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Fusarium</i> spp.	Antibiose

VI.6. Les *Pseudomonas* utilisées comme agents de lutte biologique

La plupart des espèces de *Pseudomonas* vivent dans des niches écologiques différentes comme le sol, les composts, les plantes et les surfaces aquatiques (Magin, 2019). L'action antagoniste de ce groupe bactérien dans la lutte biologique a été démontrée contre *Fusarium oxysporum* (Mavrodi *et al.*, 2006). En fait, ces dernières sont connues pour leur production de métabolites bioactifs. Leur capacité à coloniser la rhizosphère et les racines des plantes, à contrôler les microorganismes phytopathogènes et à former des biofilms adaptés pour la formulation de produits stables, tout cela présente des paramètres importants pour la réussite du biocontrôle.

VI.6.1 *Pseudomonas aeruginosa* comme agent de lutte biologique :

VI.6.1.1. Caractéristiques générales de *Pseudomonas aeruginosa*

En 1862 Luke a observé pour la première fois des particules de forme circulaire dans un pus de coloration bleu-vert. Les mêmes observations ont été réalisées par Sedillot et quelques années plus tard en 1882, Essarda a isolé *Pseudomonas aeruginosa*. Il l'a appelé *Bacillus pyocyaniques*, du nom du pigment pyocyanique (la pyocyanine), diffusible dans le milieu extracellulaire et à l'origine de la coloration des cultures.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquitaire dans l'environnement, se caractérise par de formidables capacités d'adaptation. On les retrouve partout, dans le sol, la végétation, le compost et toutes catégories d'eau. C'est une bactérie importante, qui appartient à la sous-classe γ des protéobactéries (Barakat, 2012). Elle est dotée des caractéristiques suivantes :

- C'est une bactérie à Gram négatif non sporulant appartenant à la famille des *Pseudomonas* *daceae*. Le genre *Pseudomonas* regroupe 7 espèces : *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. pertucinogena*, *P. putida*, *P. stutzeri* et *P. syringae*.

- C'est la principale espèce représentant le genre *Pseudomonas*. Elle mesure 1 à 5 µm de longueur et 0,5 à 1 µm de largeur (Figure 3) et elle est mobile grâce à un flagelle polaire.

- Cette bactérie mésophile est capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 15 à 42°C. La température optimale de croissance est 37°C.



Figure 3. *Pseudomonas aeruginosa* (www. pseudomonas.com).

VI.6. 1.2. *Pseudomonas aeruginosa* : agent de lutte biologique

La lutte biologique est l'une des méthodes prometteuses, elle consiste en l'utilisation des microorganismes antagonistes. Plusieurs maladies provoquées par des agents phytopathogènes ont été contrôlées par les microorganismes antagonistes (Errakhi, 2008) (Tableau 3). Parmi les bactéries les plus utilisées, nous pouvons citer *Pseudomonas aeruginosa*. Cette dernière a été utilisée comme agent de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques que foliaires (Boulter *et al.*, 2002). Il s'est avéré qu'elle est active contre de nombreux phytopathogènes à savoir *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, etc. Elle est connue par la production de métabolites bioactifs. Elle agit par différents mécanismes comme la production des phénazines (la pyocyanine) (Barakat, 2012).

Les différentes espèces de *Pseudomonas* tels que *P. fluorescens* 2-79, *P. chlororaphis* PCL1391, *P. aeruginosa* PAO1-PA14 et *P. aureofaciens*30-84, se démarquent par l'éventail des phénazines qu'elles produisent avec des gènes de production de phénazines assez semblables (Mavrodi *et al.*, 1998 ; Delaney *et al.*, 2001 ; Chin-A-Woeng, *et al.*, 2003). En fait, certains auteurs ont démontré l'implication des phénazines par une action directe via le phénomène de la compétition écologique sur le biocontrôle des pathogènes fongiques racinaires (Cook *et al.*, 1995 ; Chin-A-Woeng *et al.*, 2003). Ses auteurs ont annoncé que les phénazines permettent d'inhiber la croissance de champignons phytopathogènes tels que *Gaeumannomyces graminis*, *Fusarium oxysporum* (responsable de la pourriture des racines de tomate), *Rhizoctoniasolani*, *Gibberella avenacea* ou *Drechslera graminea* (Mavrodi *et al.*, 2006). D'autres travaux sont focalisés sur les mécanismes indirects utilisés par *Pseudomonas* fluorescents, conçoivent la production d'antibiotiques contre des agents pathogènes (Thomashow *et al.*, 1990),

VI. 6. 2. Les principes actifs produits par les *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont caractérisés généralement par la production des phénazines, qui peuvent présenter une voie intéressante afin d'avoir des biopesticides microbiens naturelles. Ainsi, Les phénazines représentent une vaste famille de molécules hétérocycliques azotées fortement pigmentées, capables d'une action antibiotique à large spectre et également toxiques pour les cellules eucaryotes. L'aptitude à les produire est limitée aux bactéries (*Pseudomonas*, *Bulkholderia*, *Streptomyces*, *Sorangium*, *Nocardia* et *Brevibacterium*). Plus de 100 phénazines naturelles sont actuellement connues, toutes ayant le même noyau hétérocyclique. Certaines souches de *Pseudomonas* peuvent produire jusqu'à 10 dérivés phénaziniques différents en même temps (Mavrodi *et al.*, 1998 ; Delaney *et al.*, 2001 ; Chin-A-Woeng *et al.*, 2003).

Plusieurs espèces de *Pseudomonas* ont la capacité de produire des phénazines. Ces métabolites ont différentes fonctions biologiques et participent notamment à la virulence de la bactérie (Mazzola *et al.*, 1992 ; Mahajan-Miklos *et al.*, 1999 ; Wang *et al.*, 2010).

Pseudomonas aeruginosa produit 4 phénazines différentes: la pyocyanine (1-hydroxy-5-méthyl-phénazine), la phénazine-1-carboxylique acide (PCA), la 1-hydroxyphénazine (1-OHPHZ) et la phénazine-1-carboxamide (PCN).

La biosynthèse des phénazines débute avec l'acide shikimique, à partir duquel est synthétisé le chorismate, qui sera transformé en acide 2-amino-2-deoxyisochorismique. Ce dernier pourra alors se dimériser pour former le premier composé de la famille, soit la phénazine-1-carboxylique acide (PCA). Les autres molécules comme la PYO, la phénazine-1-carboxamide (PCN) et l'1-hydroxyphénazines (1-OHPHZ) dérivent du PCA (Price-Whelan et al., 2006)

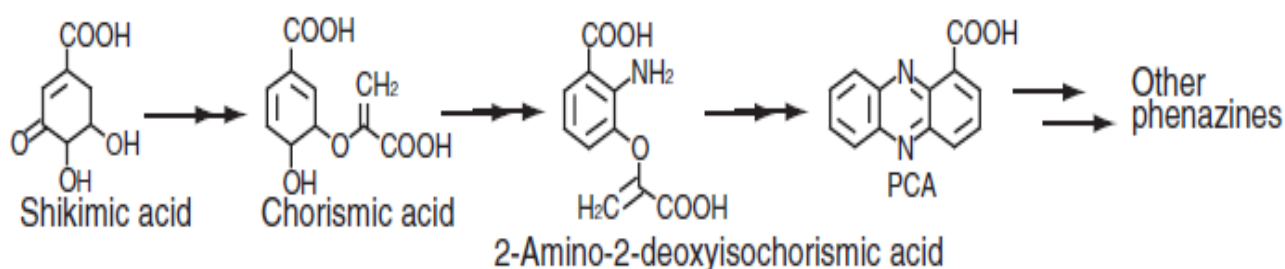


Figure 4. Biosynthèse des phénazines (Price-Whelan *et al.*, 2006).

Les gènes impliqués dans la synthèse des phénazines sont regroupés sur un même opéron et sont bien conservés entre *P. fluorescens* 2-79, *P. chlororaphis* PCL1391, *P. aeruginosa* PAO1-PA14 et *P. aureofaciens* 30-84. Dans chacun des cas, on trouve un opéron de sept gènes : *Phz A, B, C, D, E, F, G* dont la séquence de nucléotides montre une homologie de l'ordre de 70 à 95 % d'identité entre ces différentes espèces (Mavrodi *et al.*, 1998 ; Delaney *et al.*, 2001 ; Chin-A-Woeng, *et al.*, 2003).

De plus, chez *P. aeruginosa*, le génome contient 2 opérons : *phzA1, B1, C1, D1, E1, F1, G1* et *phzA2, B2, C2, D2, E2, F2, G2* distants de 2,6 Mb et dont la séquence est identique à 98,3%. Chacun de ces deux opérons est suffisant pour la production de PCA (Mavrodi *et al.*, 1998).

Chapitre I

Evolution des agents pathogènes et des paramètres physico-chimiques pendant le compostage des déchets ménagers enrichis par des résidus phosphatés et de marjine

Pathogens Evolution and physico-chemical parameters during the Composting of the Household Waste Mixture Enriched with Phosphate Residues and Olive Oil Mill Wastewater

Abstract

The composting of the household waste mixture enriched with phosphate residues and olive oil mill wastewater was assessed by monitoring the activity of micro-organisms during composting. During the composting process, the mixture exhibited a proliferation of actinomycetes during the thermophilic phase and during the maturation phase. Their quantities range from 11×10^2 UFC/g MF at the beginning of the process to 3.45×10^6 UFC/g MF at the end of the process. *Pseudomonas aeruginosa* and total fungi concentration show also an increase during composting from 0.2×10^6 UFC/g MF and 3.7×10^6 UFC/g MF at the start of composting to a maximum of 4.1×10^6 UFC/g MF, 5.1×10^6 UFC/g MF after 30 days. While other pathogenic microorganisms show a distinct decrease as fecal coliforms decrease from 8×10^6 UFC/g MF to 12×10^3 UFC/g MF; *Escherichia coli* (*E. coli*) from 7.9×10^6 UFC/g MF to 14×10^3 UFC/g MF; Fecal streptococci (S.F) varied from 7.1×10^6 UFC/g MF to 10×10^4 UFC/g MF; *Staphylococcus aureus* (Staph) decreased from 5.2×10^6 UFC/g MF to 8×10^4 UFC/g MF; Clostridial spores (SCR) reduced from 6.8×10^6 UFC/g MF to 11×10^3 UFC/g MF at the end of composting. A good relationship could be noted between actinomycetes and available phosphor, and between total fungi and NTK. The pathogenic bacteria, Staph, SCR, CF, *E. coli*, S.F., show more correlations with available organic components T.O.C, O.M., C/N, mainly present in the early phases of composting. The germination test shows that the water-soluble extracts of the initial stages of composting give low germination indices (GI) between 8.18 and 3.20%. After one month of composting, a successive increase of (GI) is observed to reach a maximum of 93.67% for compost after 150 days. These results provide an idea of the quality and maturity of this compost.

Keywords : Compost ; Phosphate résidus ; Physicochemical analyses ; Microbiological analyses ; Phytotoxicity test.

Résumé

L'évolution des microorganismes du compost de déchets ménagers enrichi par des résidus phosphatés et du margine démontre une prolifération des actinomycètes lors de la phase thermophile et pendant la phase de maturation du compostage. Leurs quantités présentes dans le compost sont comprises entre $11 \cdot 10^2$ UFC/g MF au début de processus et $3.45 \cdot 10^6$ UFC/g MF à la fin du processus. Les teneurs de *Pseudomonas aeruginosa* et les champignons totaux évoluent respectivement de $0.2 \cdot 10^6$ UFC/g MF et $3.7 \cdot 10^6$ UFC/g MF au début de compostage à $3.18 \cdot 10^6$ UFC/g MF et 410^6 UFC/g MF. Alors que les coliformes fécaux démontrent une grande diminution de 810^6 UFC/g MF à $12 \cdot 10^3$ UFC/g MF ; *Escherichia coli* réduits de 7.910^6 UFC/g MF à $14 \cdot 10^3$ UFC/g MF; streptocoques fécaux diminuent de 7.110^6 UFC/g MF à $10 \cdot 10^4$ UFC/gMF ; les *Staphylococcus aureus* décroissent de $5.2 \cdot 10^6$ UFC/g MF à $8 \cdot 10^4$ UFC/g MF; Spores des clostridium baissent de $6.8 \cdot 10^6$ UFC/g MF à $11 \cdot 10^3$ UFC/g MF. Ceci démontre une nette hygiénisation au cours du processus du compostage. En fait, le test de germination indique que les extraits hydrosolubles des stades initiaux du compostage induisent des indices de germination (IG) faibles entre 8,18% et 3,20%. Alors qu'après un mois du compostage, on remarque une augmentation successive de (IG) pour atteindre un maximum de 93.67%. Ces résultats permettront d'obtenir une idée sur la qualité et le degré de maturité de ce compost.

Mots clés : Compost ; résidus phosphatés ; analyses physicochimiques ; analyses microbiologiques ; test de phytotoxicité.

I. Introduction

Le recyclage des déchets par compostage est actuellement considéré comme une des composantes du développement durable (El fels, 2014 ; Dieng *et al.*, 2019) car il permet à la fois de réduire le volume des déchets et d'assurer une voie de traitement tout en valorisant le produit obtenu en agriculture. Le compostage est un processus de décomposition et de transformation « contrôlées » de déchets organiques sous l'action des populations microbiennes diversifiées évoluant en milieu aérobie (Amir 2008 ; Barje *et al.*, 2008 ; El fels 2014). Des communautés différentes de micro-organismes se succèdent lors du compostage, elles sont constituées majoritairement de Bactéries, d'Actinomycètes, de Champignons (ou Mycètes), de Protozoaires ou d'Algues (Tuomela *et al.*, 2000 ; Hassen *et al.*, 2001).

A la fin du processus de compostage, les composts mûrs renferment une communauté importante et diversifiée de microorganismes mésophiles (Gobat *et al.*, 2003). Ainsi, l'amendement d'un sol par le compost ne signifie pas uniquement un apport de matières humifères contenant des composés minéraux, mais aussi un apport de microorganismes vivants (Miller F. C. 1996).

Ainsi, la conception du processus de compostage, est relié au suivi des changements dans les différentes populations microbiennes (bactéries, champignons, actinomycètes) soit celles témoignées bénéfique pour la croissance des plantes et la fertilité du sol, ou celles reconnues pathogène pour l'homme et les animaux. En fait, le degré de leur pathogénèse et sa réduction pendant le compostage est un critère important qui doit être respecté (Singh, 2014). Les conditions du bon développement des activités micro-biologiques doivent être optimisées et leur suivi est indispensable pour évaluer la bonne conduite du compostage et l'obtention d'un produit final de bonne qualité (Jiménez et García, 1992 a ; Bernal *et al.*, 1996). Selon Haruta *et al.*, 2005, la microbiologie du compostage doit être étudiée au travers de divers aspects, comme par exemple, la composition et la succession des communautés pendant le processus, les micro-habitats, ainsi que les fonctions des microorganismes au sein de la communauté.

Par ailleurs, le test de phytotoxicité est souvent employé pour examiner l'absence de la toxicité des composts suite à leur incorporation au sol par l'étude de la germination ou par des tests de croissance (Saebo et Ferrini 2006 ; Said-Pullicino *et al.*, 2007). En effet, les composts mûrs ne doivent pas présenter des substances empêchant la germination des graines et la

croissance des plantes. L'acide acétique, acétaldéhyde, éthanol, acétone, éthylène sont selon la littérature, des composés libérés par les composts immatures, et ils contribuent aux effets phytotoxiques (Jimenez et Garcia, 1989). Plusieurs graines peuvent être choisies pour ce test grâce à leurs sensibilités (Navet, Cresson, Luzerne, Tomate, Laitue...etc.).

Dans cette optique, nous envisageons d'étudier au cours de ce présent chapitre le développement de la biomasse microbienne pendant le compostage des déchets ménagers mélangés par des résidus phosphatés.

II. Matériel et méthodes

II.1. Technique de compostage

Le mélange composté est constitué essentiellement de 210 Kg de déchets ménagers ; 5 Kg de résidus phosphaté, et de 10 L de margine. La technique du compostage adoptée au cours de ce travail est le compostage en tas. Le tas est ensuite retourné de manière périodique une fois par semaine afin d'assurer une bonne aération et permettre une fermentation aérobie.

Un suivi de la conduite du compost est effectué chaque jour par une mesure de température du tas à l'aide d'un thermomètre-sonde. L'évolution et l'augmentation de la température témoignent de la prolifération de l'activité microbienne qui intervient dans la décomposition des matières organiques.

Les échantillons sont prélevés à différentes périodes de compostage : ECB0=mélange initiale, ECB1= compost après 15 jours, ECB2= compost après 30 jours, ECB3= compost après 60 jours, ECB4= compost après 90 jours, ECB5= compost après 120 jours, et ECB6 = compost final après 150 jours. Dans le but d'obtenir des échantillons homogènes, les prélèvements sont effectués à différents niveaux du tas et sont mélangés et homogénéisés. Ensuite, les échantillons destinés pour analyse sont prélevés selon le principe du quartage.



Figure 5. La technique du compostage en tas

II.2. Analyses des paramètres physicochimiques

II.2.1. Température

L'activité des micro-organismes impliqués dans la décomposition des matières organiques initiales a pour conséquence la production de la chaleur lors de la dégradation des composés les plus simples et les plus accessibles. Ainsi, il est possible d'estimer le degré de décomposition de la matière organique d'un compost par une mesure de l'élévation de température. Plusieurs travaux ont montré la pertinence de l'élévation de température pour évaluer la maturité des composts (Leifeld *et al.*, 2001 ; Amir 2005, 2010 ; El fels 2014, Dieng *et al.*, 2019). Ainsi, dans notre travail la température a été mesurée quotidiennement à différents niveaux du tas à l'aide d'un thermomètre-sonde qui est introduit directement dans l'andain et qui permet de récupérer la température.



Figure 6. Mesure de la température par un thermomètre-sonde

II.2.2. Mesure du pH

Le pH est déterminé dans le surnageant d'une solution du compost dilué au 1/10 en utilisant l'eau distillée après 1h d'agitation, et à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné par des solutions tampons (pH= 7 puis pH= 4).

II.2.3. Taux d'humidité

Le taux d'humidité est déterminé sur un échantillon de 100 g, après séchage dans une étuve à 105°C pendant 48 heures (AFNOR, 2000), selon la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = 100 \times (P_f - P_s) / P_f$$

Sachant que : P_f = poids frais et P_s = poids sec

L'eau, fortement retenue par la matière, peut être sous-estimée, alors qu'un traitement par excès peut engendrer la perte d'une partie des substances organiques. L'évaporation d'eau jusqu'à poids constant est influencée par les conditions de séchage, qui dépendent du système d'évacuation d'air de l'étuve, l'humidité de l'air et la qualité de conservation au dessiccateur avant les mesures (balance sensible à 0,1 mg).

II.2.4. Dosage de l'Azote Kjeldahl

Dans un compost, l'azote se trouve sous forme minérale et organique (protéines, phosphoamino- lipides...). Pour doser la totalité de l'azote, l'échantillon doit être minéralisé en totalité afin de permettre la transformation de l'azote organique en azote minéral. La teneur en azote est déterminée par la méthode de Kjeldahl (Bremner, 1965).

II.2.4.1. Minéralisation

Dans un matras, on mélange 0,5g d'échantillon préalablement séché et broyé, avec 10 ml de H₂SO₄ concentré (36N) en présence de 0,5g du catalyseur Kjeldahl (K₂SO₄ : 50g, CuSO₄ : 5g et Sélénium Se : 0,5 g) qui permet de convertir les différentes formes d'azote en sulfate d'ammonium. Ensuite, on place les matras dans un minéralisateur à haute température jusqu'à l'obtention d'un minéralisât blanchâtre qui apparaîtra au bout d'au moins 3 heures.

II.2.4.2. Distillation et dosage

Après refroidissement, le minéralisât est distillé en milieu alcalin (excès de soude) (NaOH 50ml, 10N) en présence d'un indicateur coloré qu'est le phénolphtaléine. L'ammoniac est récupéré par l'acide borique (H₃BO₃) (10 ml, 1 N). Ensuite, l'ammoniac est dosé après neutralisation par une solution de H₂SO₄ (0,02N) en présence d'un indicateur coloré : l'indicateur de Tashiro (Rouge de méthyle 0,1 g, Vert de bromo-crésol 0,5 g, Ethanol à 95 % : 500 ml).

La teneur en azote minérale, est déterminée selon l'expression suivante :

$$N (\%) = N'(V_e - V_t) \times 1,4 / P$$

N : Azote NTK.

V_e : volume de titre de l'échantillon (ml).

V_t : volume de titre de témoin (ml).

N' : normalité de l'acide sulfurique du dosage.

P : poids en gramme de la prise d'essai (mg).

II.2.5. Dosage de carbone organique total

Le taux de matière organique est déterminé après calcination de l'échantillon au four pendant 6 heures à 600 °C, l'augmentation de température se fait par paliers thermiques, pour éviter la perte de l'échantillon par projection suite à sa brusque combustion.

Le carbone organique total est calculé par la méthode suivante : Après la calcination, la combustion de matière organique est achevée, ainsi sa teneur est déterminée par simple différence entre le poids avant et après calcination, selon la formule suivante :

$$\text{MO (\%)} = 100 \times (\text{Ps} - \text{Pc}) / \text{Ps}$$

Ps : Poids de l'échantillon sec et Pc : Poids de l'échantillon après calcination

A partir des % de MO, les pourcentages de COT (carbone organique total) sont déterminés en appliquant la relation suivante :

$$\text{MO (\%)} = \text{COT (\%)} \times 1,8$$

Le calcul est basé sur le fait que la MO est constituée de presque 55,5% de carbone.

II.2.6. Dosage de phosphore assimilable « méthode d'Olsen »

II.2.6.1. Extraction

L'extraction est effectuée sur 1g d'échantillon frais traité par 20 ml d'une solution de bicarbonate de sodium NaHCO_3 (0.5N) à pH=8,5. Après une agitation de 30 min, le mélange est filtré sur un filtre en fibres de verre GF/C.

II.2.6.2. Dosage

Pour 5 ml du filtrat, on ajoute 5 ml du réactif AB (20 ml du réactif A (molybdate du sodium $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, solution à 2.5 % dans l'acide sulfurique 10N) et 10 ml du réactif B (sulfate d'hydrazine à 0.15 % dans l'eau). Après homogénéisation, le complexe est réduit à chaud pendant 10 min dans bain marie bouillant.

La densité optique est mesurée (après refroidissement) au spectrophotomètre à 820 nm et la concentration du phosphore assimilable est déterminée à partir d'une gamme étalon.

II.3. Analyse microbiologique

L'échantillon du compost (10 g) est dilué dans 90 ml d'une solution tampon (Na_2HPO_4 0,06 M / NaH_2PO_4) (1/9 v / v) à pH 7,6. Des dilutions de séries décimales (10^{-1} à 10^{-10}) de chaque échantillon ont été réalisées et inoculées aseptiquement dans des milieux de croissance sélectifs.

- Gélose Lactose TTC avec Tergitol a été employée pour le dénombrement des coliformes (Norme marocaine 08.0.124).
- Gélose digestive de la caséine de soja a été utilisée pour le dénombrement d'*E. coli* (Norme marocaine 08.0.124).
- Gélose à l'esculine biliaire a été exploitée pour le dénombrement des *Staphylococcus* du groupe D (norme marocaine 03.7.001).
- Baird Parker agar (BP-Agar) a été utilisé pour sélectionner *Streptococcus aureus*. L'identification a été confirmée par la culture des souches sur la gélose infusée de cœur de bœuf puis par un test de coagulase avec du plasma de lapin (norme marocaine ISO 6888-1-2008).
- Les bactéries anaérobies réduisant les sulfites (SRA) ont été comptés sur la gélose SPS (sulfite polymyxine sulfadiazine et cystéine). Avant inoculation, les échantillons ont été pasteurisés à 80 °C, pendant 10 min, afin d'éliminer les formes végétatives (norme marocaine 08.0.125 standards).
- Le dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* a été effectué sur le milieu de culture gélose au cétrimide. C'est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des bactéries du genre *Pseudomonas* et notamment de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. Ce milieu gélosé contient un antiseptique : le cétrimide (bromure de N-acétyle-N, N, N-triméthylammonium). L'utilisation de ce dérivé d'ammonium quaternaire comme agent sélectif aboutit à une large inhibition de la flore et permet une meilleure croissance de *Pseudomonas*. Le milieu favorise aussi la production de pigments par *Pseudomonas aeruginosa* (pyoverdine et pyocyanine). Il s'agit de couler 17 millilitres de gélose cétrimide fondue et d'étaler ensuite en surface environ

0,1 ml de l'inoculum. Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant vingt-quatre heures. Par la suite, la dernière étape consiste à dénombrer les colonies verdâtres et à vérifier si l'oxydase était positive.

Enfin, les champignons et les actinomycètes ont été identifiés par l'inoculation en étalant l'échantillon sur la surface du milieu contenant l'agar Sabouraud chloramphénicol et l'Extrait de Sol (Biokar Diagnostics, France), respectivement.

Tous les comptages microbiens ont été calculés sur la base du poids humide, pour lesquels l'évaluation de la concentration cellulaire dans un échantillon du compost a été déterminée par comptage sur plaque de dilutions en série selon l'équation ci-dessous :

$$\text{UFC / g} = \text{colonies Nombre} \cdot \text{dilution} \cdot 100$$

II.4. Test de germination

Les essais de germination ont été effectués sur 30 graines de Luzerne par les extraits hydrosolubles de composts (10 g/100 ml), sur des boîtes de pétri avec papier filtre imbibé d'extrait du compost. Les essais ont été conservés à l'obscurité et à température ambiante (25°C), durant 72h (Mayer *et al.*, 1989 ; Garcia *et al.*, 1991 ; Cunha-Queda *et al.*, 2007). Trois répétitions ont été effectuées pour chaque stade du compostage. Le test de phytotoxicité est basé sur le suivi de l'émergence des graines (test à 24h), et la croissance des racines (test de 72h). L'indice de germination (IG) est déterminé par rapport à l'émergence et la croissance racinaire dans l'extrait hydrosoluble de chaque stade du compostage et dans l'eau distillée selon la relation suivante :

$$\text{IG\%} = \frac{\text{NG hydr} \times \text{LR hydr}}{\text{NG eau} \times \text{LR eau}} \times 100$$

Avec :

NG hydro : Nombre de graines germées dans les extraits hydrosolubles.

NG eau : Nombre de graines germées dans l'eau distillée

LR hydro : Longueur des racines dans les extraits hydrosolubles.

LR eau : Longueur des racines dans l'eau distillée.



Figure 7. Préparation des graines de Luzerne.

II.5. L'analyse statistique

Afin d'avoir des résultats statistiquement significatifs pour calcul de la moyenne avec l'écart-type, nous avons effectué trois répétitions pour chaque analyse. Le test Student et ANOVA sont conçues pour affirmer les différences statistiquement valables. L'analyse en composantes principales (ACP) et l'analyse de cluster ont été effectuées entre toutes les analyses microbiologiques et physico-chimiques durant les différentes phases de compostage pour déterminer les corrélations et le degré de liens entre ses paramètres. Le logiciel statistique utilisé est SPSS version 9 (SPSS 2010).

III. Résultats et discussion

III.1. Evolution des paramètres physico-chimiques au cours du processus de compostage

L'évolution de la température au cours du compostage est un premier indice qui reflète le degré de dégradabilité des déchets au cours du compostage. Les résultats obtenus (Figure 8), montre une augmentation rapide de la température pendant les 7 premiers jours. Cette phase thermophile est caractérisée par une élévation de la température jusqu'à une température de 60°C. Cette augmentation de la température est le résultat d'une intense activité microbienne qui résulte de la dégradation des molécules simples présentes dans le substrat (Khalil *et al.*, 2001 ; Paredes *et al.*, 2002 ; Knicker, 2004 ; Lhadi *et al.*, 2006 ; Barje *et al.*, 2012 ; El Fels *et*

al., 2014). Cependant, durant la phase de maturation qui succède à la phase thermophile, la température de l'andain enregistre une phase mésophile avant sa baisse pour atteindre des températures ambiantes de 23°C. Cette baisse de température est due à l'épuisement du milieu en composés organiques facilement métabolisables ; et seules les composées résistantes à la dégradation (lignine, cellulose...) persistent (Ait Baddi *et al.*, 2004 ; Amir, 2005).

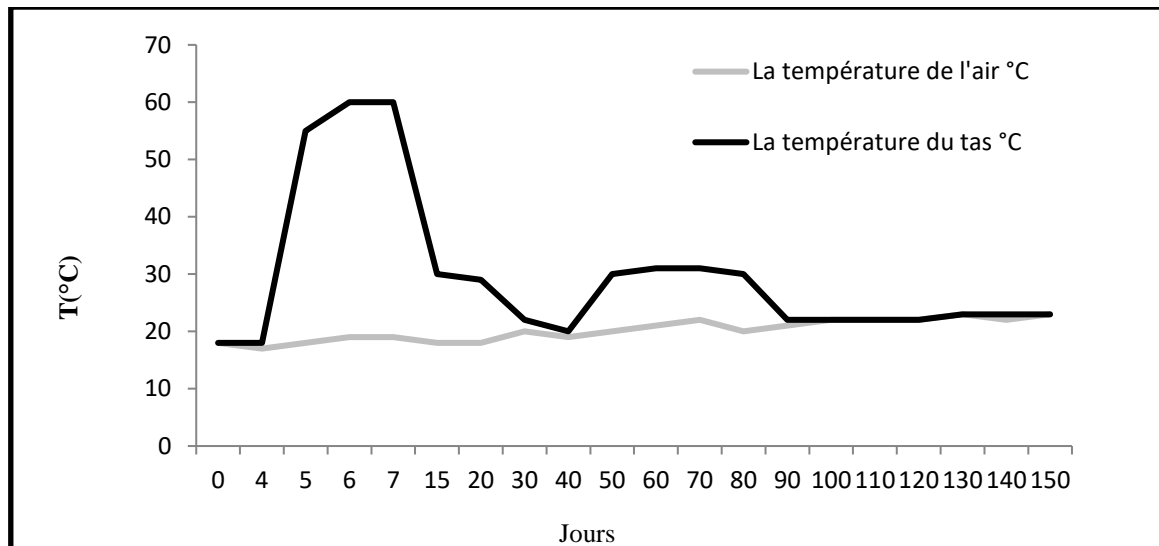


Figure 8. Evolution de la température au cours du compostage

Le suivi du pH (figure 9) a montré que, dans le mélange des déchets ménagers, de la margine, et des résidus phosphatés, le pH est légèrement acide avec une valeur de 6,4. Au cours du processus, le pH a diminué de 6.4 à 5.2. Cette diminution est due probablement à la production d'acides organiques et à la dissolution de CO₂ dans le milieu et/ou les produits de dégradation des molécules simples (glucides et lipides). Ces acides provoquent une acidification du milieu à cause de leur accumulation (Mustin, 1987 ; Peters *et al.*, 2000 ; Barje *et al.*, 2012). Par la suite, le pH a augmenté pour se stabiliser autour d'un pH neutre 7.5.

L'augmentation ultérieure du pH peut s'expliquer par un processus d'ammonification et la production ammoniacale à partir de la dégradation des amines (protéines, bases azotés...) (Ouattmane *et al.*, 2000), et peut être due aussi à une libération des bases existantes dans les déchets organiques (Beck-Friis *et al.*, 2001 ; Vergnoux *et al.*, 2009). L'intégration des acides organiques pour former des nouvelles substances humiques et l'effet tampon de ses substances ont été aussi proposés pour expliquer le retour de pH à la neutralité (Amir, 2005).

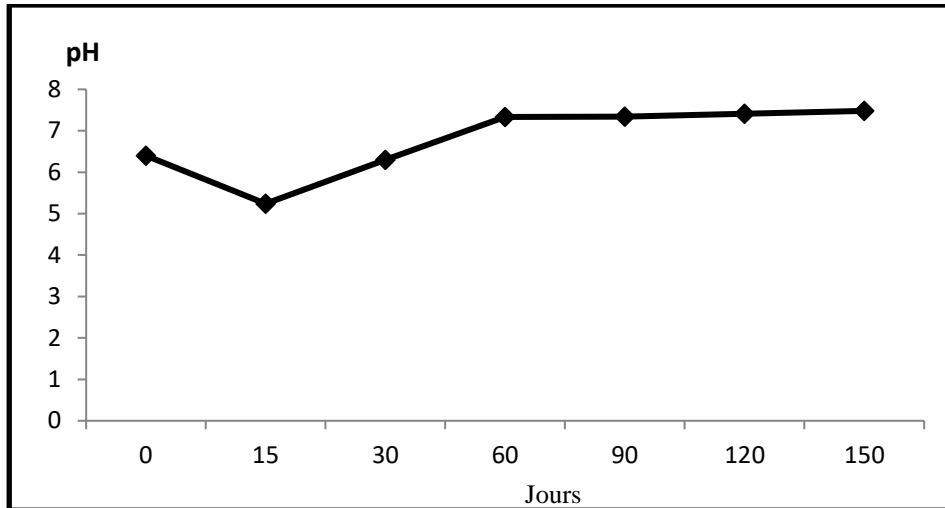


Figure 9. Evolution du pH au cours du compostage

Les résultats obtenus pour l'humidité (Figure 10), montrent que le taux était élevé au début du compostage avec des valeurs entre 70.55% et 81%, puis a diminué progressivement pour atteindre 43.02% à la fin du processus compostage. En fait, le taux d'humidité pendant le déroulement du compostage doit être compris entre 50% et 70% en fonction des déchets compostés (Richard *et al.*, 2002 ; Sghairoun, 2011). En fait, une teneur en eau trop faible limite le développement microbien, et dans le cas d'une humidité trop élevée, l'eau saturé les espaces lacunaires et étouffe les microorganismes dans le tas du mélange à composter (Amir, 2005).

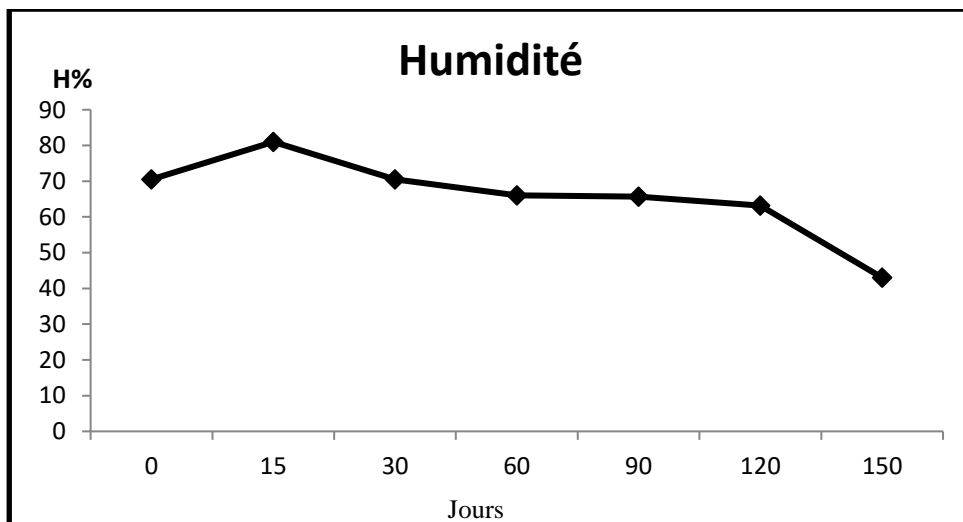


Figure 10. Evolution de l'humidité au cours compostage

Le rapport C/N passe de 30.23 à 10,14 à la fin du compostage (Tableau 6). La diminution de ce rapport est étroitement liée à la perte du carbone organique par biodégradation de la matière organique et le dégagement du CO₂ et d'un autre part, à l'augmentation du taux de l'azote total du milieu. La baisse de ce rapport est atténuée par les pertes de l'azote sous forme ammoniacale au cours de la phase thermophile (Amir, 2005 ; Barje, 2010). Les valeurs finales atteintes de C/N voisines de 10, après cinq mois du compostage, témoignent d'une bonne maturité du compost final. En effet selon de nombreux auteurs (Jouraiphy, 2007 ; Barje *et al.*, 2012), un compost est considéré mature s'il présente un rapport C/N entre 10 et 15. Les résultats montrent aussi une augmentation progressive du phosphore assimilable au cours du compostage de 30.63 à 65.73 µg/ml, ce qui témoigne d'une solubilisation du phosphore au cours du compostage (Barje *et al.*, 2007).

Tableau 6. Evolution des paramètres physico-chimiques au cours du processus de compostage

Paramètres / Jours	TOC%	NTK%	C/N	MO%	Phosphore µg/ml
0	34.76	1.15	30.23	54.90	30.63
15	30.52	2.10	14.53	48.22	23.47
30	26.28	2.96	8.88	41.52	38.45
60	24.59	2.30	10.69	38.85	65.72
90	22.89	2.12	10.80	36.16	65.73
120	22.04	2.16	10.20	34.80	65.76
150	21.20	2.09	10.14	33.50	65.78

TOC : carbone organique totale ; C/N : le rapport carbone azote ; NTK : Azote total kjeldahl ; MO : Matière Organique

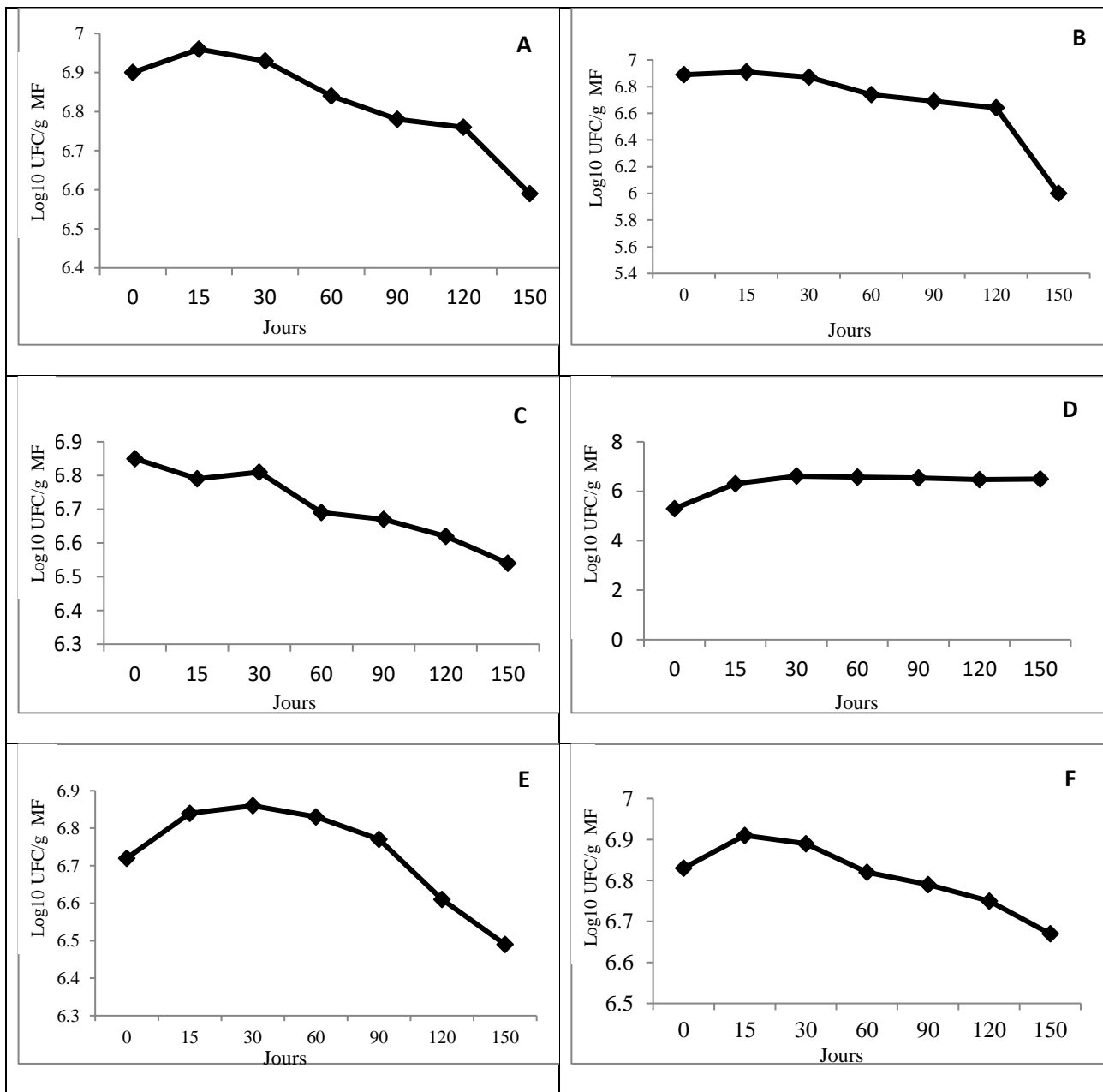
III.2. Dénombrements de la population microbienne

L'inventaire de la microflore du compost est une étape nécessaire pour toute approche de valorisation et/ou d'utilisation du compost comme amendement du sol et source des nutriments pour les plantes. En effet, la connaissance de la diversité fongique, et bactérienne dans le compost est essentielle pour déterminer son mode d'application optimal, son impact sur la fertilité, son effet sur la microflore du sol et pour la préparation du certificat de qualité et des mesures correctives d'utilisation (Anastasi *et al.*, 2005).

Ainsi, les résultats des analyses microbiologiques (Figure 11 D) montrent que la concentration des *Pseudomeunas aeruginosa* augmente de $0,2 \cdot 10^6$ UFC/g MF à $4,1 \cdot 10^6$ UFC/g MF ; et celle des champignons totaux (Figure 11G) de $3,7 \cdot 10^6$ UFC/g MF à $5,8 \cdot 10^6$ UFC/g MF, malgré une diminution nette des champignons entre les deux phases du compostage. La prolifération de la population de *Pseudomeunas aeruginosa* et celle des champignons renseigne sur le bon déroulement du compostage et la métabolisation de la matière organique des déchets (Amir *et al.*, 2008, Barje *et al.*, 2012). Alors que la diminution des champignons entre les deux phases peut s'expliquer par une réduction des champignons après la phase thermophile, puisque la majorité des champignons ne tolèrent pas généralement une élévation de température à plus de 50°C (Amir *et al.*, 2008 ; Barje *et al.*, 2012). Différents auteurs (Finstein et Morris, 1975 ; De Bertoldi *et al.*, 1983 ; Marshall *et al.*, 2004) ont montré que l'activité microbienne durant le processus de compostage correspond aux différents groupes de micro-organismes, à savoir la flore totale aérobie mésophile (FMAT), les actinomycètes et la microflore fongique.

Les résultats montrent aussi que les actinomycètes présentent une biomasse faible au début par rapport à la fin du compostage (figure 11 H). Deloraine (2002), a montré une charge en actinomycètes thermophiles (bactérie à Gram-positif) de l'ordre de 10^3 UFC/g MS dans le produit de départ, et $3 \cdot 10^6$ UFC/g MS dans le produit final (compost). Amir *et al.*, (2008) et Barje *et al.*, (2012), ont rapporté que les actinomycètes ont la capacité de se développer tout au long du compostage sous une large gamme de variation de température, avec un optimum entre $25-30^\circ\text{C}$ pour les souches mésophiles, et $45-55^\circ\text{C}$ pour les thermophiles. Les actinomycètes présentent une intense activité surtout durant la phase de maturation (Xiao *et al.*, 2011 ; Barje *et al.*, 2012). Perez *et al.*, (2002) et Nakasaki *et al.*, (2009), ont montré que les actinomycètes thermophiles produisent une enzyme active pour dégrader les composés lignocellulosiques. Généralement, les actinomycètes ne sont pas prédominants dans le compost, mais présente un rôle important dans le processus du compostage et contribuent largement à la dégradation des molécules complexes.

Cependant, pour les germes pathogènes, le taux des coliformes fécaux (figure 11A), *E. Coli* (figure 11B), les streptocoques fécaux (figure 11C), les staphylocoques (figure 11E), ont diminué fortement au cours du compostage à des valeurs très faibles au-dessous des normes pour l'acceptabilité du compost comme amendement organique. En fait, les températures atteintes pendant la phase thermophile favorisent l'élimination des pathogènes et les formes végétatives.



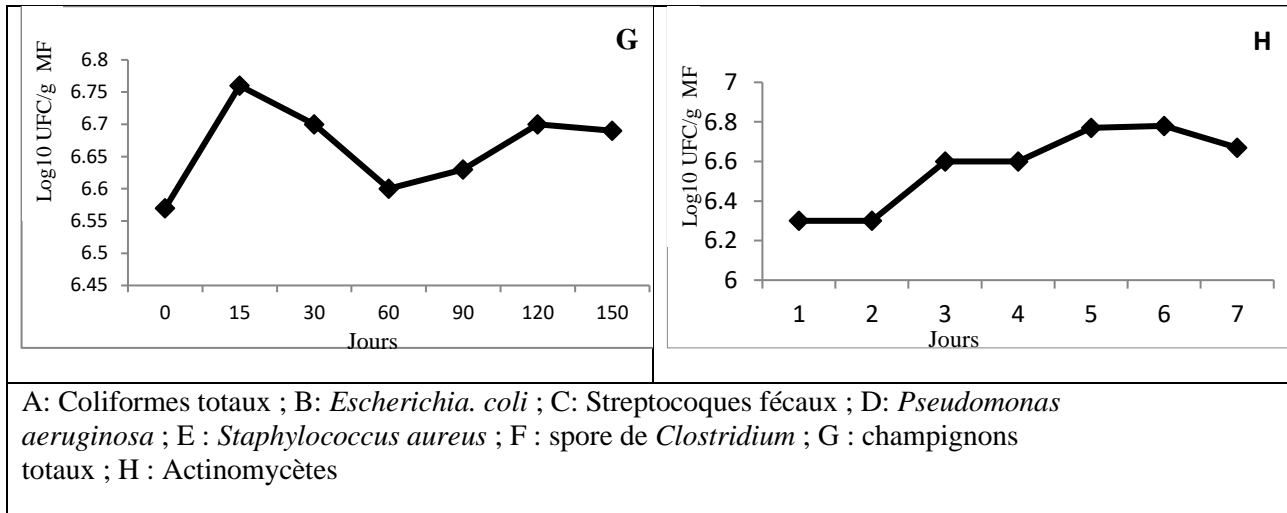


Figure 11. Evolution de la charge microbienne au cours du compostage

III.3. Test de germination

Le test de germination montre que les extraits hydrosolubles des stades initiaux du compostage induisent des IG faibles (Figure 12). Les faibles taux de germination sont dus aux substances hydrosolubles phytotoxiques contenues dans les échantillons, durant les premiers stades du compostage. En effet, (Chapman *et al.*, 1983 ; El Fels, 2014) ont rapporté que la libération des produits de dégradation au cours de la phase de stabilisation peut contribuer à l'inhibition de la germination. Plusieurs auteurs ont montré qu'au cours du compostage et avant la maturation du compost, des substances très variées ont un pouvoir inhibiteur sur la germination des graines (Piotrowska *et al.*, 2006 ; Hachicha *et al.*, 2009).

Après un mois du compostage, on remarque une augmentation importante de (IG) surtout après 150 jours (Figure 12 et 13). Ces résultats de germination de la luzerne sont en accord avec ceux trouvés par d'autres chercheurs et qui ont montré qu'un compost est considéré comme non toxique lorsque son IG dépasse 50% (Levy *et al.*, 2003 ; Yanguì *et al.*, 2009). Ces auteurs ont rapporté que l'effet stimulateur de la germination et la croissance des racines dont l'IG atteint et dépasse 100% est dû à la teneur en matière organique stable, la richesse en substances humiques et en éléments minéraux durant la phase de maturation.

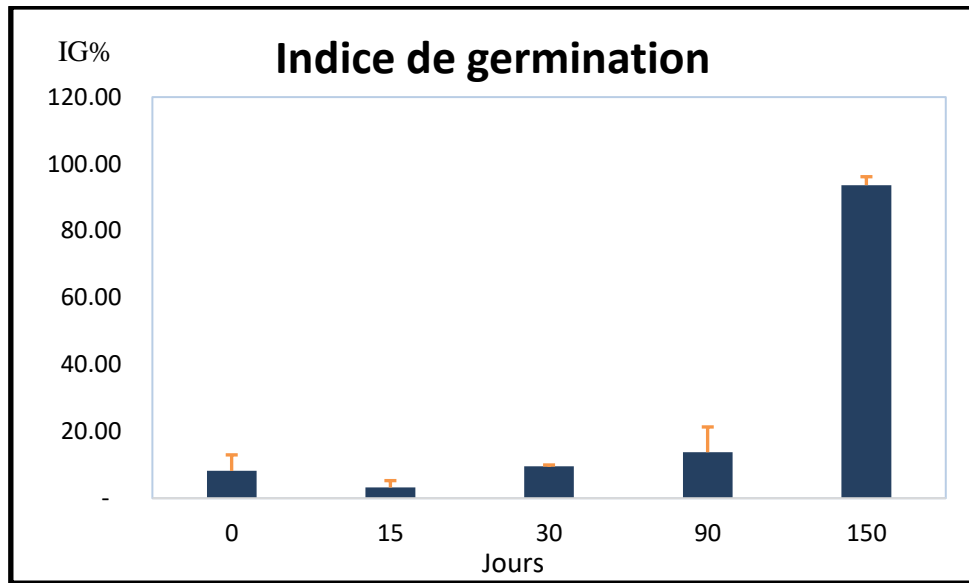


Figure 12. Evolution de la phytotoxicité au cours du compostage

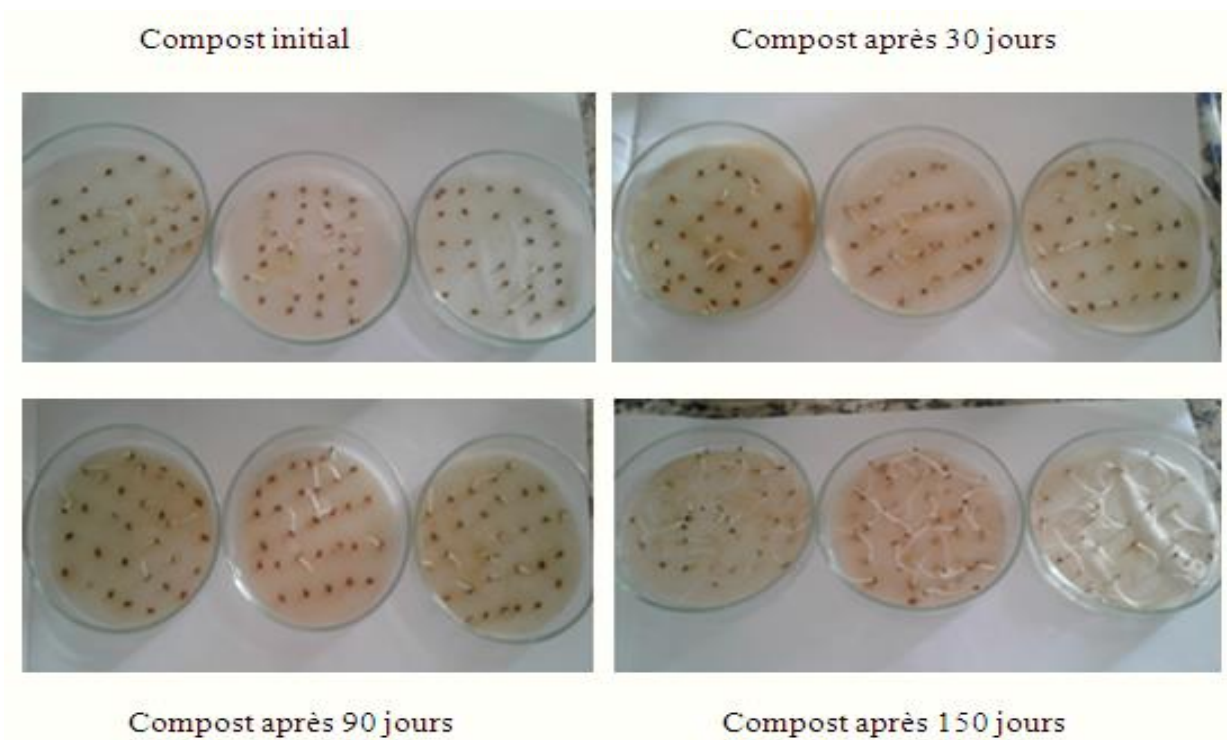


Figure 13. Test de phytotoxicité

III.4. Analyses statistiques

L'analyse statistique en composantes principales a été effectuée entre les différents paramètres microbiologiques et physico-chimiques (Figure 14). Les résultats montrent deux principaux groupes, le groupe I engendre les paramètres suivants : *Pseudomonas*, champignons totaux, actinomycètes, NTK, P et le groupe II rassemble : les Staph, SCR, CF, E. Coli, S.F, T.O.C, O.M, C/N). Ceci témoigne encore de la maturité du compost, ainsi à ce stade les micro-organismes du groupe I profitent de P et NTK disponibles après la décomposition des matières lignocellulosiques. En effet, les actinomycètes profitent du phosphore, al., ors que les champignons totaux exigent le NTK. Hamdali (2008) a démontré l'effet des souches d'actinomycètes sur la solubilisation du phosphore naturel. Alors que de nombreux travaux, ont démontré que les champignons tolèrent une large gamme du pH avec un niveau modérément élevé d'azote nécessaire à leur développement (El fels 2011 ; Pullicino *et al.*, 2007). Alors que, dans le deuxième groupe II, les bactéries pathogènes telles que les Staph, SCR, CF, E. Coli, S.F, ont montré plus de corrélations avec les paramètres correspondants aux composantes organiques disponibles TOC, OM, C/N, principalement présents dans les premiers phases du compostage et qui diminuent ou disparaissent à la fin du compostage.

Le carbone organique disponible (CO) est l'un des facteurs importants favorisant la prolifération et la survie des microorganismes. Williams *et al.*, (2015) a démontré la bonne relation entre le carbone organique et les agents pathogènes opportunistes.

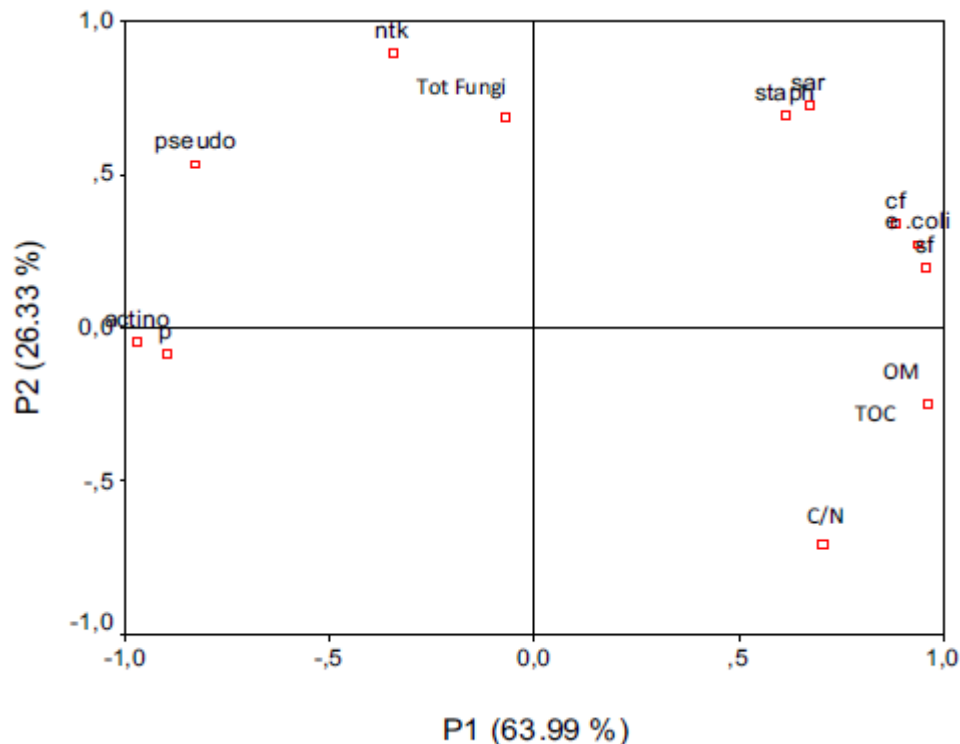


Figure 14. Analyse en composantes principales (ACP) entre toutes les analyses microbiologiques et physico-chimiques à différentes étapes du compostage

L'analyse de cluster hiérarchique entre les paramètres physico-chimiques et microbiologique indique que le compost est considéré stabilisé ou mature à partir des 90 jours. Les 90, 120, 150 jours étaient strictement regroupés par rapport aux premiers stades du compostage 0, 15, 30 jours (Figure15).

H I E R A R C H I C A L C L U S T E R A N A L Y S I S

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

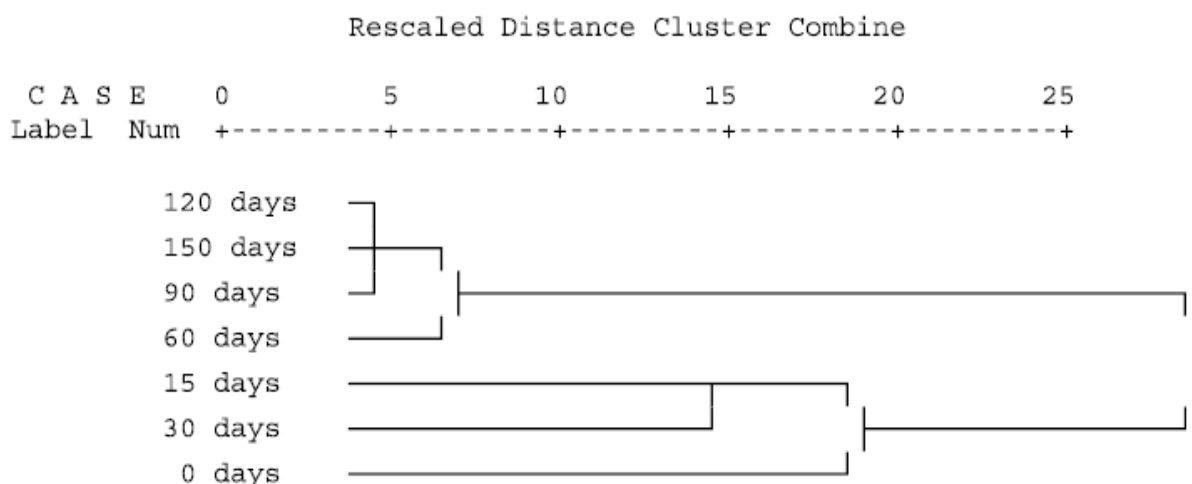


Figure 15. Analyse de cluster hiérarchique entre les données microbiologiques et les paramètres physico-chimiques à différentes étapes du compostage

En fait, l'analyse de cluster hiérarchique confirme les conclusions retenues de l'analyse en composantes principales (ACP), en ce qui concerne les relations et les corrélations significatives entre les paramètres physicochimiques et microbiologiques en fonction de leurs profils au cours du compostage et la maturité du compost.

Conclusion

Le suivi de l'activité microbienne pendant le compostage des déchets ménagers a démontré une augmentation de l'activité de *Pseudomonas aeruginosa*, et des champignons totaux, ainsi que des actinomycètes. Cette intensification microbienne conduit à des

modifications importantes du compost et sa composition tout au long du processus du compostage. Ceci induit une stabilisation du produit fini que l'on peut valoriser en agriculture.

Les autres éléments pathogènes tels que les coliformes fécaux, *Escherichia coli* et streptocoques fécaux ont démontré des valeurs au-dessous des normes de l'acceptabilité du compost comme amendement organique et qui ont été diminué encore durant le compostage suite à une élévation de la température durant la phase thermophile.

Par ailleurs, la communauté bactérienne subit un changement lié à la disponibilité du substrat nutritif, et aux variations physico-chimiques du milieu. En fait, le développement et la succession des microorganismes, est strictement liée aux substrats et aux stades de compostage.

Ainsi, il est primordial de connaître l'état et la qualité des composts dans le cadre d'une bonne gestion de ces amendements organiques. Autrement, des composts immatures et infectés peuvent produire des effets néfastes pour les plantes lors de leur application aux sols. Dans ce travail, les résultats obtenus à travers les tests de germination ont montré que le compost des déchets ménagers mélangés par des résidus phosphatés peut être considéré comme un amendement organique qui permet d'améliorer les propriétés physiques, chimiques et microbiologiques des sols et par conséquent les rendements de cultures.

L'analyse en composantes principales (ACP) et l'analyse de cluster hiérarchique concordent sur une relation significative entre les paramètres physicochimiques et microbiologiques et indique que le compost est considéré stabilisé et mature à partir des 90 jours.

Chapitre II

Evolution de la biomasse microbienne au cours du compostage : qualité du produit final et mesures d'hygiène

Microbial biomass evolution during composting: quality of end product and hygienic measures

Abstract

This study is devoted to monitoring of some pathogens likely to be present in the organic materials used to produce composts. As well as, behavior of actinomycetes, fungi have been followed. Seven different tests composed of mixtures of different types of organic matter wastes, five of them are mixed with phosphate residues, two others ones as used as control. al., 1 compost trials are carried out for a period of 150 days. The results of microbiological analyzes show that the rate of *Fecal coliforms*; *Escherichia coli*; *Salmonella*; *Fecal Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, Spore Forming Bacteria, Total mesophilic bacteria recorded a great decrease and even a suppression during all composting trials, although some differences of concentrations and behavior between the 7 trials. The variation is attributed to the composition of mixtures used for composting, so the metabolic activities involved during composting. In fact, thermophilic conditions and further the contributions of some antagonist mesophilic micro-organisms, constitute the main causes of the decline of pathogens during the two successive steps of composting. Indeed, in the most compost, the actinomycetes, fungi and *Pseudomonas aeruginosa* show evident increase during composting.

Keywords: Organic mixtures, composting, pathogens, actinomycetes, *Pseudomonas aeruginosa*.

Résumé

Cette étude est consacrée au suivi de certains pathogènes susceptibles d'être présents dans les matières organiques utilisées pour produire des composts, en outre du comportement des actinomycètes et des champignons. Dans cet objectif, 7 composts composés de différents types de déchets de matières organiques, dont 5 sont enrichis avec des résidus de phosphate et deux présentent des contrôles. Les résultats des analyses microbiologiques montrent que les *coliformes fécaux*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Streptocoques fécaux*, *Staphylococcus aureus*, les spores de *Clostridium* et les bactéries mésophiles ont enregistré une forte diminution et même une suppression lors du processus de compostage, avec quelques variations de concentrations et de comportement entre les 7 composts. Ces variations pourraient être liées à la composition différente de chacun des composts en termes de leur matière organique influençant les activités métaboliques des pathogènes lors du compostage. Le déclin des pathogènes au cours des deux étapes successives du compostage pourrait être expliqué par l'effet de certains micro-organismes mésophiles antagonistes ainsi que l'effet des conditions thermophiles. Au contraire et pour la plupart des composts, nous avons enregistré lors du compostage une nette augmentation des actinomycètes, des champignons et de *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés : Mélange organique ; Compostage ; agents pathogènes ; actinomycètes, *Pseudomonas aeruginosa*.

I.Introduction

Vu l'importance de l'utilisation du compost dans le domaine d'agriculture ces dernières décennies, les études et les recherches ont été accéléré dont l'objectif d'identifier l'effet de l'évolution des paramètres physico-chimiques des déchets sur la communauté microbienne indigène au cours du processus de compostage. Le compostage est la biotransformation de déchets organiques solides en un produit final riche en fertilisants utilisés dans les fermes comme engrais en remplaçant les engrais chimiques. La teneur élevée en matière organique et l'activité biologique des microorganismes colonisant le compost jouent un rôle incontournable et efficace en favorisant la régénération des végétaux, la biofiltration, et la bioremédiation du sol (Alexander *et al.*, 1999).

Différentes communautés de microorganismes, constituées principalement de bactéries, champignons et protozoaires, se succèdent lors du compostage et participent aux différents processus de biodégradation et d'humification de la matière organique (Amir, 2005). Ces communautés microbiennes développées lors du compostage contiennent parfois des agents pathogènes pour l'homme, dont certains sont plus ou moins facilement éliminés par les conditions thermophiles, tandis que d'autres persistent.

Ainsi, la livraison d'un compost de bonne qualité dépend de sa salubrité, car parfois malgré le respect de la condition de maturité du compost, il subsiste un risque de croissance d'agents pathogènes s'ils trouvent un environnement favorable dans le sol avec les sources d'énergie nécessaires et disponibles pour leur développement. Sidhu *et al.*, (2001) ont démontré que le compost présente des risques de croissance potentielle de microorganismes pathogènes et que la détermination de la maturité n'est pas un facteur suffisant pour garantir l'absence de risque sanitaire.

Pour se rassurer de la qualité ou la sécurité microbienne d'un compost, le suivi et la compréhension des agents pathogènes survécus dans ce dernier restent indispensable. En effet, certains déchets organiques bruts utilisés dans le compostage peuvent contenir des agents pathogènes. Parfois le résultat de l'application d'un compost dans un champ de culture fait penser les gens que le compost est dépourvu de la plupart des pathogènes (Jones et Martin, 2003). Une malveillance du processus de compostage pourrait engendrer une prolifération des champignons et de bactéries potentiellement pathogènes et/ou allergènes thermotolérants / thermophiles (Beffa *et al.*, 1996 ; Millner *et al.*, 1994). D'autres facteurs peuvent être favorables

à la prolifération des pathogènes citant le rapport carbone / azote, responsable du développement de *Salmonella spp.* dans des composts issus des boues d'épuration lorsqu'il est supérieur à 15, comme a été rapporté par Soares *et al.*, (1994). D'autres travaux ont affirmé, la possibilité de prolifération d'*E. coli* et de *Salmonella* dans un compost final si le processus du compostage n'est pas bien conduit et que la matière organique est mal stabilisée (Sidhu *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2010). En revanche, il est difficile de prévoir la composition taxonomique et les activités métaboliques du matériel de compostage qui peuvent être changées à tout moment pendant le processus du compostage (Beffa *et al.*, 1996 ; Strauch, 1996). De même, l'instabilité des conditions physico-chimiques impliquées lors du compostage pourrait influencer ses résultats à n'importe quel moment (Richard, 1995). Il n'est donc pas surprenant que les rapports sur la survie des agents pathogènes microbiens dans les déchets compostés soient variables. C'est l'objectif de ce chapitre, afin de réaliser un suivi de différentes communautés bactériennes dans différents mélanges de déchets organiques, et de voir la possibilité de les proposer comme amendements organiques à effet suppresseur contre les maladies phytopathogènes.

Pour limiter le risque potentiel de maladies bactériennes liées aux produits alimentaires, il est nécessaire d'utiliser des amendements et des engrais organiques dépourvus des agents pathogènes. Sachant qu'au cours du compostage, la température élevée lors de la phase thermophile détruit généralement la majorité des agents pathogènes (Epstein, 1996). Dès que la température devient supérieure à 55 ° C, la majorité des pathogènes sont détruits au bout de 3 jours. Néanmoins, certaines études ont montré que certaines bactéries ou pathogènes supportent la température élevée de la phase thermophile du compostage, parce qu'elles sont thermo-tolérantes et profitent de ces conditions pour se proliférer (Sunar *et al.*, 2014). Alors que les pathogènes mésophiles se disparaissent lorsque la température du compostage atteint une valeur comprise entre 50 et 65°C (Golueke, 1985). L'efficacité de la température dépend de deux facteurs, son importance et sa durée, soit une température élevée pendant une courte période ou une température plus basse pendant une longue période. Lors du compostage, deux paramètres doivent être pris en considération, le temps d'extinction de l'agent pathogène et la vitesse de diminution de sa concentration dans le compost. En fait, plus la concentration d'agents pathogènes présents est élevée, plus leur délai d'extinction sera long. Malheureusement, de nombreuses études ne parlent ni du taux ni des conditions de destruction ou anéantissement en se focalisant sur le temps d'extinction ou le taux de survie de l'agent pathogène. Trois facteurs peuvent influencer la qualité microbienne d'un compost final, à savoir :(i) l'origine et la composition des déchets initiaux, (ii) les conditions préalables au

processus et (iii) la qualité du produit final. Le suivi exhaustif de toutes les activités microbiennes, malgré être impossible semble être essentiel pour évaluer le bon déroulement du compostage et l'obtention d'un produit final de bonne qualité agronomique et sanitaire (Larbi, 2006 ; Dieng *et al.*, 2019).

Dans ce sens, le but de ce présent travail consiste à suivre le comportement des bactéries pathogènes lors du compostage des déchets organiques issus de différentes matières premières. Ainsi que le suivi de l'effet de la variation de la température lors du compostage sur la survie de ces agents pathogènes, en outre de la biotransformation des déchets organiques.

II. Matériel et méthodes

II.1. Conception des essais de compostage et échantillonnage

Les sept composts (tableau 7) ont été élaborés à partir de divers déchets organiques (Déchets ménagères, déchets verts, Déchets des olives) et qui ont été enrichis en résidus de phosphate à l'exception des deux composts 6 et 7. Ainsi, la composition et les caractéristiques des sept composts sont rapportées au tableau 7.

La technique du compostage adoptée au cours de cette étude est le compostage en tas. Ce dernier est ensuite retourné de manière périodique une fois par semaine afin d'assurer une bonne aération et permettre une fermentation aérobie.

Un suivi de la conduite du compost a été effectué chaque jour par une mesure de la température du tas. L'échantillonnage est effectué aux stades suivants :

E0=mélange initiale ; E30= compost après 30 jours, c'est la phase thermophile ; E90= compost après 90 jours c'est la phase de refroidissement ou phase de maturation ; E150= compost après 150 jours c'est la fin du processus de compostage.

Dans le but d'obtenir des échantillons homogènes, les prélèvements ont été effectués à différents niveaux du tas et sont mélangés et homogénéisés et un échantillon pour analyse est prélevé selon le principe du quartage. Les échantillons sont analysés soit immédiatement, soit stockés à 4 ° C jusqu'à l'analyse.

Tableau 7. Composition et caractéristiques des mélanges utilisés avant le processus du compostage.

Composts	Les composants de compostage.	pH	C/N	Humidité (%)
CFS	(70%) Déchets ménagères + (10%) déchet de betterave + résidus de phosphates.	7,4	16	67,4
CF	(95%) Déchets ménagères + résidus de phosphates.	5,71	25	79,2
CG	(80%) Déchets verts+ résidus de phosphates.	5,96	139	55,6
CFG	(65%) Déchets ménagères + (15%) Déchets verts + résidus de phosphates.	7,4	18	81,8
CFO	(55%) Déchets ménagères + (3%) paille de blé + (22%) géranium d'olives + (70L) margine + résidus de phosphates.	5,91	65	60,0
CGW	(100%) déchets verts.	5,41	31	80,1
CFW	(100%) Déchets ménagères.	4,41	52	87,1

Durant 150 jours, nous avons effectué un suivi régulier de tous les mélanges dont les dimensions sont à l'ordre de 5 x 1,2 x 6 m (base x hauteur x longueur) et dont un poids frais initial d'à peu près de 1300 kg (est presque égale pour tous les tas). Pour avoir une humidité optimale (60%) et de l'oxygène pour l'activité métabolique des micro-organismes, l'eau a été ajoutée aux différents composts avec un retournement manuel hebdomadaire. La température a été surveillée quotidiennement à l'aide d'un thermomètre à sonde numérique à différents points et à différentes profondeurs.

II.2. Analyses physico-chimiques

La méthodologie adoptée est la même que le chapitre I. Brièvement, le pH est déterminé dans le surnageant d'une solution du compost dilué au 1/10 en utilisant l'eau distillée après 1h d'agitation. L'humidité est déterminée par calcul de différence du poids d'échantillon après un séchage à 105°C pendant 24h. La teneur en azote est déterminée par la méthode de Kjeldahl (Bremner, 1965) et la teneur en carbone est dosée par voie humide (Anne, 1945).

II.2.1. La conductivité électrique

Une prise d'essai d'un 1 g du compost a été ajoutée à 10 ml d'eau distillée. Le mélange a été agité pendant 15 minutes à 180 tours/min « Figure 16 G ». Après la filtration « Figure 16 H », la conductivité électrique de la solution a été mesurée par un conductivimètre (Figure 16).

II.3. Analyses microbiologiques

L'échantillon du compost (10 g) a été dilué dans 90 ml d'une solution tampon (Na_2HPO_4 0,06 M / NaH_2PO_4) (1/9 v / v), pH 7,6. Des dilutions de séries décimales (10^{-1} à 10^{-10}) de chaque échantillon ont été réalisées et inoculées aseptiquement dans des milieux de croissance sélectifs.

- Gélose Lactose TTC avec Tergitol, pour le dénombrement des coliformes et gélose digestive de la caséine de soja pour le dénombrement d'*E. coli* (Norme marocaine 08.0.124).
- Gélose à l'esculine biliaire pour le dénombrement les streptocoques du groupe D (norme marocaine 03.7.001).
- Baird Parker agar (BP-Agar) a été utilisé pour sélectionner *Staphylococcus aureus*. L'identification a été confirmée par la culture des souches sur la gélose infusée de cœur de bœuf puis par un test de coagulase avec du plasma de lapin (norme marocaine ISO 6888-1-2008).
- Les anaérobies réduisant les sulfites (SRA) ont été comptés sur la gélose SPS (sulfite polymyxine sulfadiazine et cystéine). Avant inoculation, les échantillons ont été pasteurisés à 80 ° C, pendant 10 min, afin d'éliminer les formes végétatives (norme marocaine 08.0.125 standards).
- Le dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* a été effectué sur le milieu de culture gélose au cétrimide. C'est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des bactéries du genre *Pseudomonas* et notamment de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. Ce milieu gélosé contient un antiseptique : le cétrimide (bromure de N-acétyl-N, N, N-triméthylammonium).

L'utilisation de ce dérivé d'ammonium quaternaire comme agent sélectif produit une large inhibition des micro-organismes contaminants, inhibe suffisamment la flore d'accompagnement et permet une meilleure croissance de *Pseudomonas*. Ce milieu favorise la production de pigments par *Pseudomonas aeruginosa* (pyoverdine et pyocyanine). On fait

couler 17 millilitres de gélose cétrimide fondue ensuite d'étaler en surface environ 0,1 ml de l'inoculum. Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant vingt-quatre heures. La dernière étape a consisté à dénombrer les colonies verdâtres et à vérifier si l'oxydase était positive.

Enfin, les champignons et les actinomycètes ont été identifiés par l'inoculation en étalent l'échantillon sur la surface du milieu contenant l'agar Sabouraud chloramphénicol et l'Extrait de Sol (Biokar Diagnostics, France), respectivement.

Tous les comptages microbiens ont été calculés sur la base du poids humide, pour lesquels l'évaluation de la concentration cellulaire dans un échantillon du compost a été déterminée par comptage sur plaque de dilutions en série selon l'équation ci-dessous :

$$\text{UFC / g} = \text{colonies Nombre} \cdot \text{dilution} \cdot 100$$

III. Résultats et discussion

Le compostage est un processus dynamique touché par un grand nombre de facteurs environnementaux et biologiques. Tout changement de l'un de ces facteurs change directement la qualité du compost et également le temps nécessaire au compostage. Lors du processus du compostage de différents déchets ou résidus, se produit la prolifération d'une grande activité microbienne avec une succession de populations microbiennes en fonction de la température atteinte lors des processus de biodégradation (Hachicha *et al.*, 2009 ; Kowalska *et al.*, 2010).

Dans ce travail, les sept mélanges de déchets présentent des évolutions différentes de températures (Figure 17), indiquant différents comportements microbiens générés par diverses activités métaboliques en fonction des mélanges de déchets utilisés. En effet, il y a une relation entre la dégradation de la matière organique et la dynamique des activités métaboliques des micro-organismes (Biyada *et al.*, 2020). Presque tous les composts présentent une étape thermophile où la température dépasse 55 °C, sauf pour les composts ne contenant pas de résidus de phosphate CGW et CFW les températures n'ont pas dépassé les 50 °C, ce qui est probablement lié à une faible prédominance des bactéries en absence du phosphore. Néanmoins, ces conditions sont favorables pour le développement des champignons lignocellulosiques (Amir *et al.*, 2010 ; Biyada *et al.*, 2020). En fait, plusieurs études ont expliqué que de nombreuses espèces fongiques, en particulier celles appartenant aux Actinomycètes et

Basidiomycètes, sont connues pour leur capacité à dégrader la lignine, la cellulose ou l'hémicellulose (López *et al.*, 2014 ; Tuomela *et al.*, 2000). Au CFW, la température n'a pas dépassé 55 ° C durant une semaine. Cela pourrait être attribué à l'effet d'inhibition de certains facteurs physico-chimiques contre la croissance microbienne tels qu'un pH plus bas à de l'ordre de 4,4 ainsi qu'une humidité plus élevée à l'ordre de 87% et une teneur plus élevée en phénols proche de 1,22% (tableau 8). Les conditions physiques et chimiques impliquées pendant le compostage sont variables et peuvent modifier les résultats du processus de manière imprévisible (Richard, 1995). La température maximale atteinte lors du compostage varie d'un compost à l'autre, en fait certains d'entre eux ont montré une phase mésophile plus tardive lors de la maturation par rapport aux autres (figure 17).

Concernant le rapport C/N, tous les composts se caractérisent par une diminution du rapport al., allant jusqu'à une valeur inférieure à 10 à la fin du compostage (indice de maturation), sauf les composts qui ne contiennent pas des résidus de phosphate CFW (= 18) et CGW (= 20). Cela signifie que les sept composts n'ont pas atteint le même degré de maturation. Sans oublier la composition initiale des composts jouant un rôle clé sur la microflore des composts. En fait, de nombreuses études ont montré que la vitesse de décomposition et les étapes de maturation reflètent la vie microbienne des composts (Laarbi, 2006 ; Dieng *et al.*, 2019 ; Amir *et al.*, 2010 ; Barje *et al.*, 2008). D'un autre côté, la composition taxonomique et les activités métaboliques du matériel de compostage peuvent être changés à tout moment pendant le compostage (Beffa *et al.*, 1996 ; Strauch 1996). La connaissance de la biomasse microbienne lors du compostage est indispensable pour assurer sa qualité et elle pourrait permettre de mieux comprendre le fonctionnement de la biomasse microbienne en fonction des types de résidus organiques utilisés. Ainsi, nous pouvons suggérer quelques indices sur le bon déroulement du processus et la maturité des composts.

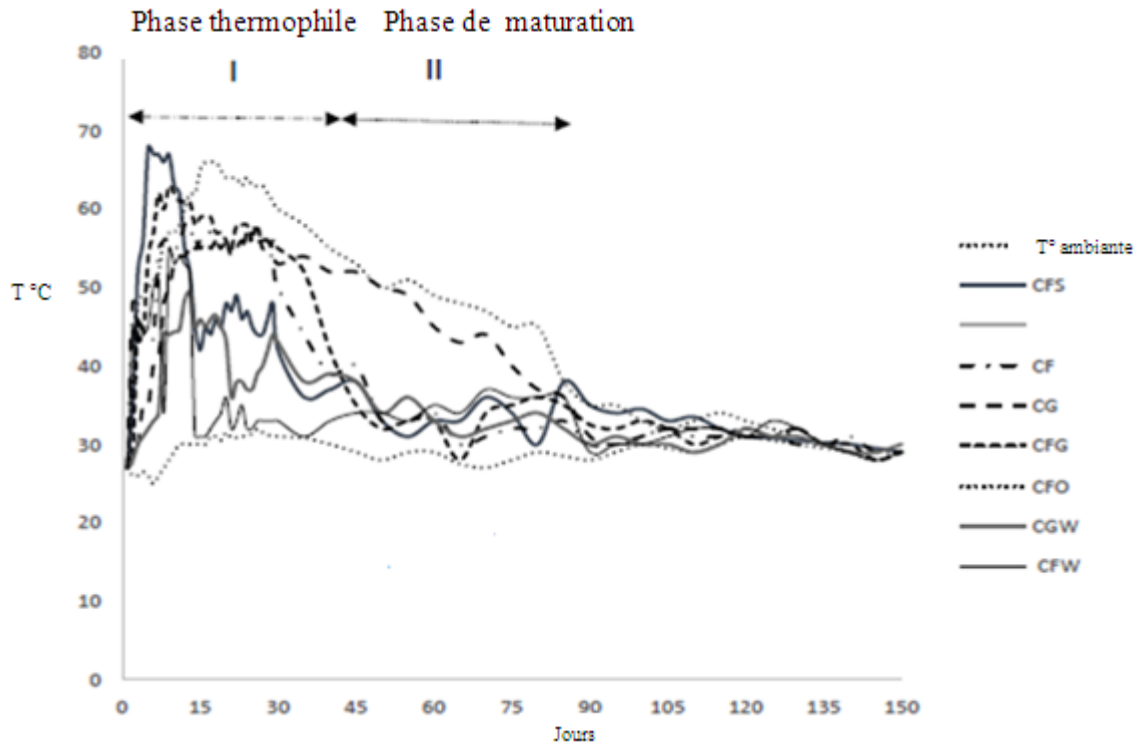


Figure 16. Courbe d'évolution de la température le long du compostage des sept composts

Tableau 8. Les paramètres physico chimiques des 7 composts à la fin du processus de compostage (150 jours)

Composts	T (°C)	Humidité (%)	pH	Conductivité (mS/cm)	MO (%)	NTK (%)	C/N
CFS	67	16,1	9,5	5,3	19,1	1,20	10,1
CF	58	28,8	9,6	4,4	23,7	0,81	18,5
CG	57	43,2	8,2	1,8	18,3	1,47	8,0
CFG	63	22,4	8,7	1,9	22,4	1,62	8,7
CFO	66	27,9	8,6	1,6	44,9	2,92	9,7
CGW	49	48,9	8,2	4,1	63,8	2,02	20,0
CFW	55	21,0	9,3	4,6	50,2	1,8	18

T °C: Température ; carbone organique totale ; C/N: le rapport carbone sur azote; NTK: Azote total Kjeldahl; MO: Matière Organique

III.1. Évolution de la biomasse microbienne du compost

III.1.1. Bactéries mésophiles totales

Certains auteurs rapportent qu'au cours du compostage, l'activité microbienne est principalement due à la communauté bactérienne mésophile (Hassen A *et al.*, 2001). En effet, les profils de FMAT montrent que tous les composts présentent un nombre important de bactéries mésophiles supérieur à 10^6 UFC / g de FM (bactéries (ou cellule) / g de déchets), avec des teneurs plus faibles dans CGW et plus grande dans CFO (Figure 18). La forte communauté bactérienne mésophile enregistrée au CFO (10^7 CFU/g FM), peut être probablement dû à la diversité des déchets alimentaires de ce mélange, donc à sa microflore indigène. Cependant, les faibles valeurs enregistrées chez le CGW pourraient être dues à des conditions stressantes, telles que la présence de substrats organiques lignocellulosiques moins biodisponibles pour les bactéries. En fait, ce compost est le seul où la température n'a pas pu dépasser 50 °C indiquant une faible activité bactérienne au profit des champignons.

Par ailleurs, tous les composts présentent le même scénario d'évolution de leur température, c'est-à-dire une augmentation au début du compostage, suivi d'une diminution après l'étape thermophile. Les mêmes observations ont été rapportées par Lemunier *et al.*, (2005), qui ont signalé une augmentation du nombre de microorganismes indicateurs notamment les bactéries mésophiles au cours de la première semaine du compostage puis il descend après 2 semaines du compostage. En effet, au début du processus de compostage où les températures sont comprises entre 20-40°C, les bactéries mésophiles se sont les principales responsables de la dégradation des déchets organiques frais. Ensuite et vu l'élévation de la température, au cours de la phase thermophile (températures de 40 à 60 ° C), les microorganismes mésophiles laissent la place aux bactéries thermophiles, thermotolérantes et aux actinomycètes.

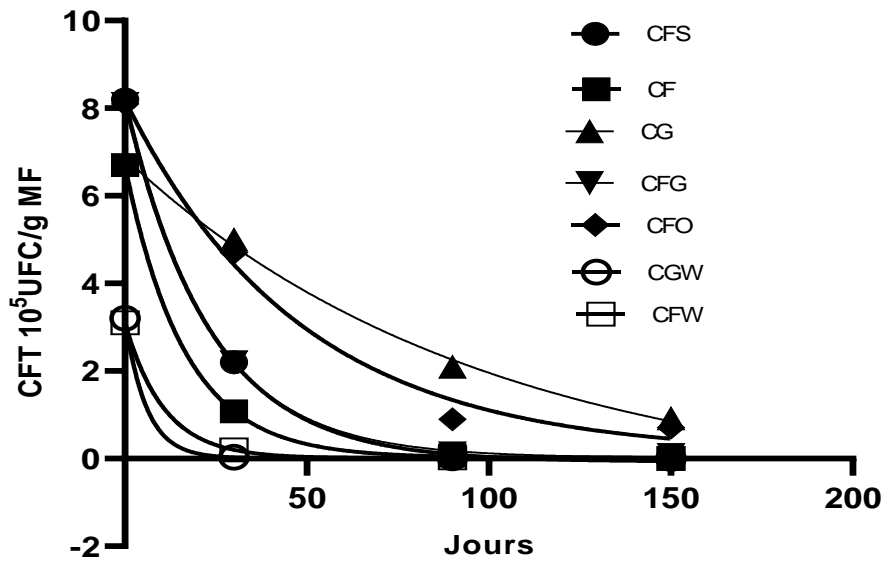


Figure 17. Evolution de la faune mésophile aérobie totale (FMAT) au cours du compostage

III.1.2. Champignons et autres levures

Le suivi des champignons montre leurs prédominances dans les composts CFS, CGW suivis par CG et CF (figure 19). Le niveau fongique des composts est compris entre 10^7 - 10^8 UFC / g du compost. Un résultat proche de la nôtre a été déjà trouvé par d'autres chercheurs (Oppliger et Duquenne, 2016) qui ont signalé des niveaux allant jusqu'à 10^5 - 10^7 CFU / g de matière). Dans cette étude, les auteurs ont révélé que les taxons fongiques qui apparaissent le plus abondamment fluctuaient en fonction de facteurs tels que le type de déchets, le type de processus et le stade de ce processus. En fait, la décomposition de la matière organique initiale fraîche a lieu sous l'action de bactéries, champignons ou levures, dont l'activité déclenche l'augmentation de la température jusqu'à 50 -70 ° C. Connus par leur capacité de produire des composés antibiotiques et de vivre en interaction avec les levures, les champignons agissent sur les matériaux qui résistent aux bactéries, mais ils ne survivent pas au-delà de 50 ° C (Amir *et al.*, 2008). On les retrouve notamment à la périphérie du compost où la température est basse, ils sont les seuls qui peuvent s'activer dans un compost sec. En fait, les conditions les plus sèches sont enregistrées dans le CFS en raison de la présence des déchets de betteraves. Alors que les deux composts CGW et CG contiennent de la matière organique lignocellulosique de déchets verts. Plusieurs études ont expliqué que de nombreuses espèces fongiques, en

particulier celles appartenant aux Ascomycètes et Basidiomycètes, sont connues par leur capacité à dégrader la lignine, la cellulose ou l'hémicellulose (López *et al.*, 2014 ; Tuomela *et al.*, 2000). Hefnawy *et al.*, (2013) a révélé que lors du compostage de la paille de riz, la succession microbienne était dominée par des communautés fongiques plutôt que bactériennes.

Ensuite, la phase thermophile se caractérise par une diminution significative du taux de champignons dans tous les composts sauf le compost CF qui montre une légère diminution (Figure 2). Suite à l'augmentation de température au stade thermophile, les champignons ont été désactivés ou endormis formant des spores sauf les thermophiles. Dans des travaux antérieurs, en surveillant les changements des composants phospholipidiques et stéroïdes utilisés comme indice spécifique de certains champignons, il a été démontré qu'ils ont baissé après un pic de chauffage à 54 ° C (Amir *et al.*, 2010 ; Amir *et al.*, 2008).

La prédominance de champignons en phase thermophile dans le compost CF, pourrait s'expliquer par la faible concentration de résidus de phosphate déclenchant la prolifération des champignons, le résultat qu'a été déjà trouvé par des études antérieures (Maluf *et al.*, 2018). De plus, la colonisation de ce compost par des champignons thermotolérants pourrait être suspectée. De nombreux auteurs rapportent la présence en phase thermophile des composts de champignons thermophiles tels que *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus* et *Absidia* spp., *Aspergillus* spp., *Humicola* spp., *Talaromyces* spp. Et *Thermomyces* spp. (Beffa *et al.*, 1996 ; Hefnawy *et al.*, 2013 ; Ghazifard *et al.*, 2001 ; Charest *et al.*, 2004). Néanmoins, à la phase de maturation du compostage, les champignons recolonisent de nouveau pendant cette phase mésophile tous les composts, et restent toujours actifs dans les composts CFS, CGW suivi de CG puis CF. Le même comportement des champignons a été rapporté dans des travaux précédents (Barje *et al.*, 2008 ; Hefnawy *et al.*, 2013).

Un compost jeune en phase thermophile est dominé par les bactéries, puis les actinomycètes et en phase finale se sont les champignons qui prennent le relais du compostage (Larbi, 2006 ; Dieng *et al.*, 2019 ; Amir *et al.*, 2010 ; Barje *et al.*, 2008). D'autres auteurs rapportent que les bactéries ont été progressivement remplacées par des champignons lors du compostage (Korniłowicz *et al.*, 2010). Hefnawy *et al.*, (2013), rapportent que des champignons pathogènes, tels que *Fusarium oxysporium* et *Fusarium moniliforme*, disparaissent après 20 ou 40 jours du compostage, d'autres espèces fongiques telles que *Trichoderma viride* et *Trichoderma reesei* présentent une fréquence élevée à la fin des cycles du compostage. La plupart des champignons mésophiles qui dominent au stade initial du compostage étaient les

genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Rhizopus*. Le pathogène *Fusarium* sp a complètement disparu au cours de la phase thermophile, par contre *Trichoderma reesei* et *Trichoderma viride* sont apparus dès qu'il y a une diminution de température, alors que *Rhizopus nigricans* était dominante durant toutes les phases du compostage. Ainsi que, la phase de maturation est souvent caractérisée par le développement d'une nouvelle microflore fongique mésophile (Ishii *et al.*, 2000).

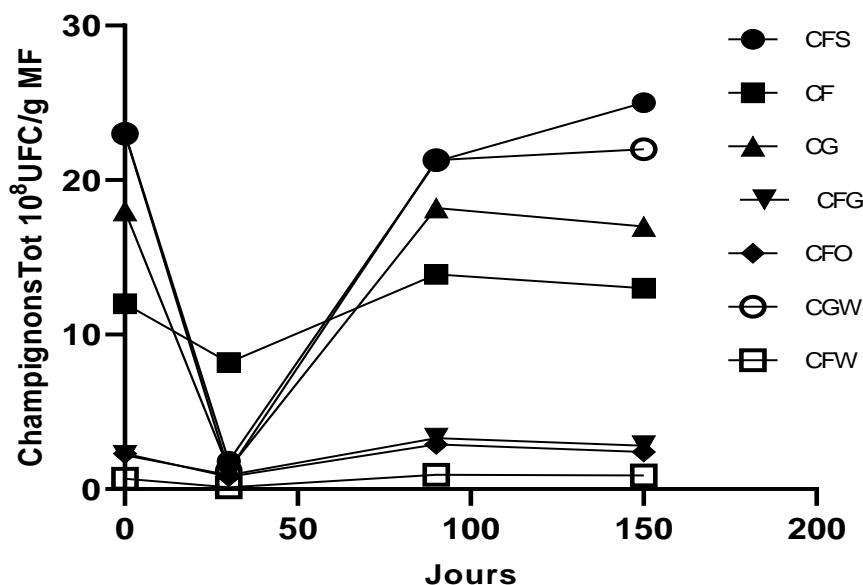


Figure 18. Evolution des populations fongiques au cours du compostage

III.1.3. Actinomycètes

Le mélange initial du compost contient à peu près 10^5 CFU/g MF sauf à CG, CFW et CFG, qui présentent des valeurs autour de 10^4 CFU/g MF. Durant la phase mésophile et celle thermophile, le nombre des actinomycètes a connu une nette augmentation et ce dans tous les composts et notamment dans CFG (figure 20).

La faible teneur en actinomycètes au niveau du mélange initial et leur dominance dans les composts matures ont été rapportées dans des études précédentes (Amir *et al.*, 2010 ; Hefnawy *et al.*, 2013). Au niveau des sept composts finaux, les quantités atteignaient 10^6 UFC / g MF. En effet, différents auteurs comme (Partanen *et al.*, 2010 ; Sundberg *et al.*, 2011 ; El fels, 2014) ont trouvé une corrélation entre la température et l'augmentation du nombre des

actinomycètes et ils ont considéré ce phénomène comme un indicateur de maturité du compost. El fels (2014) a rapporté que les actinomycètes ont la capacité de se développer tout au long du compostage sous une large gamme de variations de température, avec un optimum entre 25-30°C pour les souches mésophiles et 45-55°C pour les thermophiles. Larbi (2006) a montré que les quantités d'actinomycètes présentes dans les composts sont comprises entre 10^6 et 10^8 UFC / g. Levanon *et al.*, (2002) a trouvé une quantité d'actinomycètes de l'ordre de 10^5 CFU / g. Cette différence est probablement due à la composition du matériau initial et au fonctionnement du système de compostage. En revanche, il est évident que la croissance des actinomycètes s'est produite fortement en milieu non colonisé par des champignons ou par des bactéries (CFG, CFW, CF). Ainsi, les composts à haute teneur en champignons (CFS, CG) ne présentent pas de grandes concentrations d'actinomycètes, sauf à CF. Ceci laisse à penser qu'il existe un effet d'antagonisme entre les actinomycètes et les champignons pour la dégradation des déchets cellulotiques de lignine. Alors que, le compost CGW présente des faibles concentrations de bactéries mésophiles totales et de des spores de bactéries et ce dans les mélanges initiaux du ce compost par rapport aux mélanges d'autres composts. Ce résultat pourrait être expliqué par l'absence de composants organiques facilement biodégradables, ainsi les actinomycètes et les champignons bénéficient tous les deux d'une matière lignocellulosique plus récalcitrante. Au niveau du CF, la présence concomitante de champignons et d'actinomycètes pourrait être liée à la présence d'une faible quantité du phosphore, ainsi ils favorisent la solubilisation de ce dernier (Atif *et al.*, 2018).

Goyal *et al.*, (2005) ont déclaré que les actinomycètes sont des agents essentiels dans la dégradation de la lignocellulose, malgré leur capacité à dégrader la cellulose et la lignine n'est pas aussi grande que celle des champignons, mais ils sont impliqués dans la décomposition des composés cellulotiques présents dans la matière organique. Partanen *et al.*, (2010) suggèrent qu'un nombre plus élevé d'actinobactéries indique le début de la décomposition de matières lentement dégradables comme la lignine et la cellulose. L'environnement à haute température et à pH élevé représente une étape active du compostage où les actinobactéries à des concentrations élevées commencent à décomposer l'hémicellulose, la cellulose et la lignine (Partanen *et al.*, 2010 ; Yu, H., *et al.*, 2007). La présence d'Actinobactéries et les *Thermoactinomyces* spp., témoignent un processus de compostage rapide et bien aéré (Partanen *et al.*, 2010). Hefnawy *et al.*, (2013) rapportent que des espèces thermotolérants *Thermo dichotomicus* et *Thermo vulgaris* étaient les principaux actinomycètes qui présentaient une fréquence dans tout le tas du compost. Ces auteurs ont démontré aussi que cinq espèces

mésophiles *Streptomyces* sp., *Streptomycesant bioticus*, *S. cinnaborinus*, *S. roseus*, *S. griseus* et *S. aureofciens* étaient présents dans tout le tas du compost et pendant tous les cycles du compost.

Danon *et al.*, (2008) ont classé les Actinobactéries parmi la communauté bactérienne productrice des enzymes capables de dégrader la cellulose, de coloniser les substrats dans des conditions de faible disponibilité en nutriments et de solubiliser la lignine. Chares *et al.*, (2004) ont déclaré la présence d'actinomycètes pendant le processus du compostage utilisant une activité enzymatique pour décomposer les fractions de carbone résistantes.

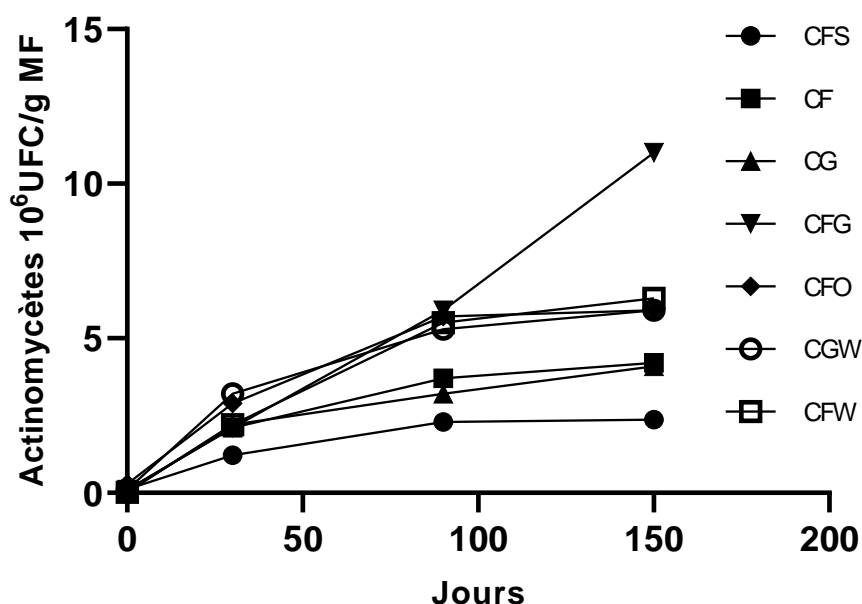


Figure 19. Evolution des Actinomycètes au cours du compostage

III.1.4. *Escherichia coli*

E. coli est connue comme étant une bactérie indicatrice de la présence des agents pathogènes dans les engrais organiques (Sunar *et al.*, 2014). Il est préférable de suivre un indicateur tel que les coliformes et non pas les organismes pathogènes réels, car les indicateurs apparaissent généralement à des fréquences plus élevées que les autres agents pathogènes et sont plus simples et plus sûrs à détecter (Hassen *et al.*, 2001). Au début du processus de

compostage, les mélanges initiaux contiennent des teneurs d'*E. coli* variant entre 10^5 - 10^6 UFC /g FM, sauf quelques composts contenant des teneurs plus faibles. En fait, *E. coli* se développe de préférence dans des conditions mésophiles et en milieu riche en phosphate. Cependant après la phase thermophile le nombre de bactéries d'*E. coli* a diminué significativement en se rapprochant de 10^3 UFC / g FM dans tous les composts, sauf dans CFO et CFW. Ces valeurs sont inférieures aux normes pour les concentrations maximales d'*E. coli* dans les biosolides et les composts utilisés comme engrais organiques (Sunar *et al.*, 2014). Par ailleurs, le compostage est généralement efficace pour réduire les niveaux initiaux élevés d'*E. coli* (Lemunier *et al.*, 2005). En effet, il a été rapporté que le temps de destruction d'*E. coli* est de 30 jours à 60 °C et de 4 jours à 70 °C (Jones *et al.*, 2003). Néanmoins, il est évident que même si la température de CFO atteint 60 °C par rapport aux autres composts CF et CG (figure 21) qui ne dépassent pas les 60 °C, le premier compost démontre un faible déclin d'*E. coli* par rapport aux deux autres composts. Donc, cela signifie qu'il existe d'autres paramètres qui contrôlent le déclin d'*E. coli*. En effet, le CFO et le CFW sont riches en matière organique facilement biodégradable par rapport aux autres composts. Pendant la phase de maturation l'absence de croissance de bactéries antagonistes ultérieures attaquant la matière lignocellulosique et inhibant les bactéries pourrait être suspectée l'origine de la présence encore d'*E. coli* dans ses composts.

A une température de 55°C et pendant au moins 2h, *E. coli* s'élimine du mélange de fumier de ferme, d'excréments de porc et de paille (Turner, 2002). En fait, dans notre cas, tous les composts dépassent 55 °C dans l'étape thermophile sauf CGW. Tandis que, ce compost présente un grand déclin d'*E. coli*. En effet, ce compost est caractérisé par une étape de maturation mésophile distincte, qui confirme notre suggestion de la croissance de bactéries mésophiles antagonistes en étape de maturation jouant également un rôle clé sur le déclin d'*E. coli* lors du compostage. En fait, certains auteurs ont signalé que la destruction des bactéries peut dépendre de facteurs autres que la température, notamment la teneur en humidité, la concentration d'ammoniac et la présence d'autres organismes (Jones *et al.*, 2003).

D'autres auteurs, comme Ishii *et al.*, (2000), et Ryckeboer *et al.*, (2003) suggèrent que la diminution de la survie d'*E. coli* dans les composts échantillonnés à 4 semaines pourrait être expliqué par une augmentation des effets antagonistes de la microflore indigène. Ils rapportent que lorsque la diversité microbienne élevée augmente dans l'étape de maturation, elle devrait logiquement augmenter l'antagonisme, une augmentation de la diversité microbienne pourrait entraîner une inactivation d'*E. coli* pendant la phase de maturation.

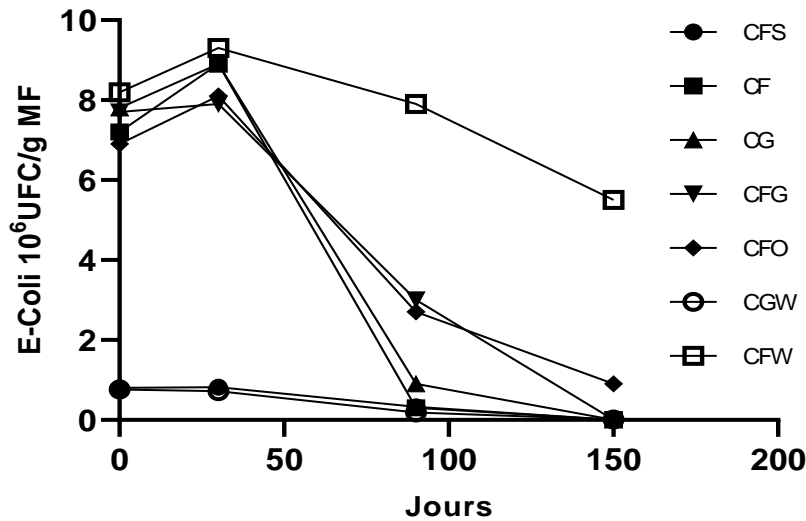


Figure 20. Evolution des E-Coli au cours du compostage

III.1.5. Les coliformes fécaux

La présence des coliformes est souvent utilisée comme un indicateur de la qualité sanitaire globale des sols et des eaux. Turner *et al.*, (2002) a confirmé que les coliformes peuvent se développer seules dans le compost à des températures mésophiles de 37 ° C. La présente étude (figure 22) montre que le nombre des coliformes fécaux dans les mélanges initiaux est compris entre $3,1 \times 10^5$ et $8,2 \times 10^5$. Après la phase thermophile, se produit une diminution de cette teneur dans tous les essais du compostage à des concentrations inférieures à 10^2 pour CGW et CFW, et inférieure à 10^3 pour CFG. De même, presque, une quasi-suppression est enregistrée pour le CFC et CF. Alors que les deux composts, CG et le CFO montrent également une diminution importante mais elle est lente par rapport aux autres composts. Ceci pourrait s'expliquer soit par le retard des conditions thermophiles et / ou par l'absence de croissance des bactéries mésophiles antagonistes, par rapport aux autres composts.

Des résultats similaires ont été trouvés par Lemunier *et al.*, (2005) qui montrent que le nombre de coliformes a même augmenté à la quatrième semaine, puis il a commencé à diminuer jusqu'à la fin du compostage (12 semaines), avec des concentrations comprises entre $3,3 \times 10^2$ et $2,3 \times 10^4$ CFU/g du compost et ce dans les quatre composts.

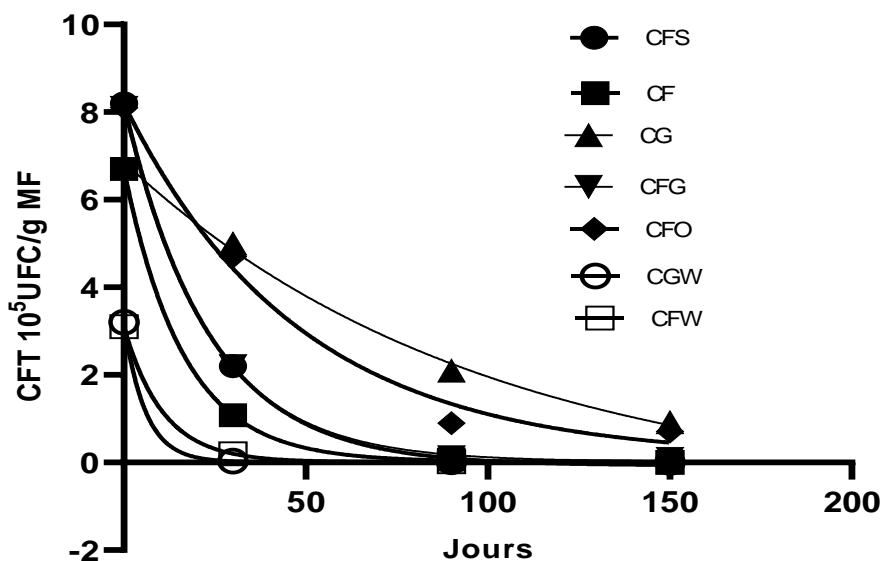


Figure 21. Evolution des Coliformes Fécaux au cours du compostage

III.1.6. Les streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux sont généralement considérés comme les meilleurs indicateurs de la pollution fécale. Ils présentent des concentrations autour de 10^5 UFC / g FM au niveau des mélanges initiaux (Figure 23). Pendant le compostage, les valeurs montrent une diminution à 10^4 UFC / g FM dans la plupart des composts, ce qui est très important en CF où la diminution atteint 10^3 UFC / g FM. La concentration des bactéries passe de 10^7 à 10^3 bactéries / g de compost pendant la phase thermophile ($60 - 65^\circ \text{C}$), mais à la fin du cycle de compostage, ils ont remarqué une légère croissance de la concentration de streptocoques aux alentours de 10^4 bactéries / g de compost (Hassen *et al.*, 2001). Les auteurs rapportent que les streptocoques fécaux sont plus résistants aux différents facteurs environnementaux que les coliformes et ils sont essentiellement représentés par *Streptococcus faecalis*, *S. faecium* et *S. bovis*.

Cependant, notre étude a révélé que la concentration de ces bactéries a connu une diminution durant le compostage, et qui est produite consécutivement dans les deux étapes thermophiles et mésophiles, probablement en raison de l'effet de bactéries antagonistes successivement thermophiles et mésophiles. En effet, les composts (CG, CFG, CFO)

connaissent une diminution plus faible de la concentration des streptocoques fécaux par rapport aux autres (CFS ; CF ; CGW ; CFW) qui démontrent une phase mésophile nette. Ceci pourrait s'expliquer par l'implication des bactéries mésophiles antagonistes à l'étape de maturation. Ainsi, les streptocoques fécaux pourraient être éliminés soit par des conditions thermophiles élevées bien supérieures à 54 °C, soit par compétition avec des bactéries thermophiles survécus à ces températures, soit par l'antagonisme de micro-organismes mésophiles qui se développent à l'étape de maturation. En effet, cela explique la diminution non significative de streptocoques fécaux au compost CG dont la température n'a pas dépassé 54-55 °C pendant la phase thermophile, avec une absence même de phase de maturation, donc des micro-organismes antagonistes.

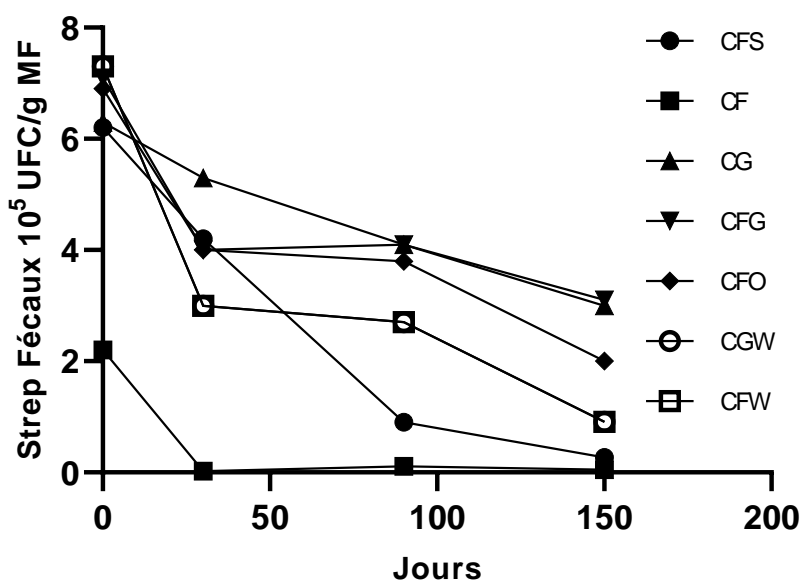


Figure 22. Evolution des streptocoques fécaux au cours du compostage

III.1.7. Salmonella spp.

Certains auteurs ont signalé que certaines bactéries telles que *E. coli* et *Salmonella* peuvent parfois se développer ultérieurement lorsque le processus du compostage s'effectue de manière inefficace (Jones et Martin, 2003). Lorsque la matière organique n'est pas bien désinfectée ou mal stabilisée, la recontamination pourrait se produire et le compost pourrait

devenir une source d'agents pathogènes. La présence de *Salmonella* est considérée comme le problème majeur et spécifique de la qualité hygiénique du compost (Yanko *et al.*, 1995 ; Hay *et al.*, 1996). Ces bactéries sont omniprésentes et ont une capacité de croissance très rapide, elles proviennent de déchets alimentaires, essentiellement de viandes, volailles, lait et ses dérivés. Dans notre étude, les mélanges initiaux présentent des valeurs de *Salmonella* autour de 10^5 UFC / g FM, avec des faibles valeurs enregistrées aux mélanges initiaux de CFS et CFG. Cependant, avec les progrès du compostage, tous les composts montrent une élimination ultime ou un déclin de *Salmonella* depuis le début du compostage (Figure 24). En fait, des concentrations inférieures à la limite de détection ont été observées pour la plupart des composts finaux, avec des réductions de 5 à 6 unités logarithmiques ont été produites. Cela pourrait s'expliquer par l'incapacité de *Salmonella* à entrer en compétition pour les nutriments disponibles face aux autres bactéries, comme le rapporte Jones et Martin (2003). En fait, une étude réalisée par Gibbs *et al.*, (1998) ont montré que *Salmonella* n'était pas détectée après compostage à environ 52 à 53 ° C, mais elle a été isolée dans 7 parmi 11 échantillons de composts entre 30 et 40 ° C. Tiquia *et al.*, (1998) ont constaté que *Salmonella* n'était plus détectée lors d'un compostage au bout de 3 semaines dans un mélange de fumier de porc partiellement décomposé et de sciure de bois à des températures comprises entre 64 et 67 ° C. Hassen *et al.*, (2001) ont montré que les espèces de *Salmonella* disparaissaient au 25^{ème} jour dès que la température atteignait 55 ° C et qu'elles n'étaient pas détectées plus tard dans le compost.

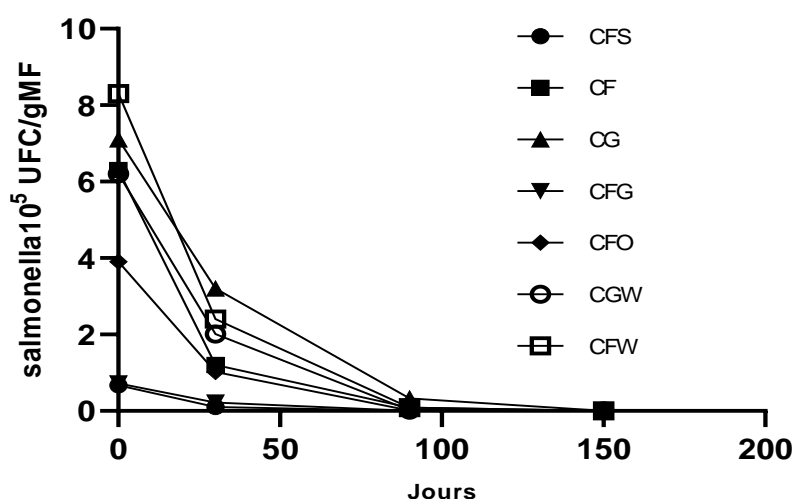


Figure 23. Evolution des Salmonella spp au cours du compostage

III.1.8. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est l'une des principales causes de toxi-infections collectives des aliments. Cette espèce génère également des infections cutanées qui représentent un risque pour les manipulateurs du compost et les agriculteurs lors de l'épandage du compost de ferme et elle libère une entérotoxine thermostable (Hassen *et al.*, 2001). Dans ce travail, le suivi de *Staphylococcus aureus* au cours du compostage a démontré, une augmentation de ses teneurs au début de la phase thermophile dans tous les composts, mais une diminution est enregistrée dès la quatrième semaine. Néanmoins chez CF et CFO, la diminution est enregistrée avec le commencement du compostage (Figure 25). Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'il existe une possibilité de présence davantage de bactéries antagonistes dans ces deux composts. Ces deux composts sont caractérisés par la présence des conditions mésophiles précoces avant la phase thermophile et la grande disponibilité de composants organiques labiles.

Jones et Martin (2003) ont rapporté que *Staphylococcus aureus* disparaît après 10 min à 50 °C. Ainsi, comme les bactéries citées ci-dessus, *Staphylococcus aureus* disparaît aux conditions thermophiles générées dans la première étape du compostage ou par l'antagonisme des bactéries thermotolérantes. L'évolution des staphylocoques au cours du cycle de compostage est également similaire à celle trouvée dans l'étude de Hassen *et al.*, (2001). Autres auteurs rapportent que les staphylocoques semblaient être les bactéries dominantes pendant la phase mésophile et au début de la phase thermophile, mais que *Bacillus* devient le genre dominant pendant le reste du cycle de compostage.

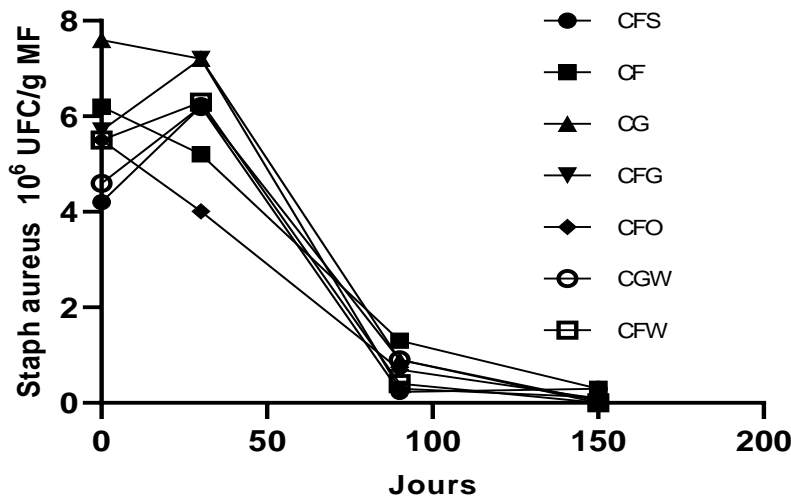


Figure 24. Evolution des *Staphylococcus aureus* au cours du compostage

III.1.9. Les anaérobies réduisant les sulfites

Un certain nombre de bactéries, en particulier des genres *Bacillus* et *Clostridium*, produisent des endospores résistantes qui leur permettent de survivre pendant de longues périodes dans des environnements stressants (Jones et Martin, 2003). Ainsi, la présence ou le développement de spores résistantes provient de la résistance de certains microorganismes aux agressions extérieures et au stress. Dans les mélanges initiaux, le nombre de bactéries produisant des spores variait de $7,2 \times 10^5$ à $7,8 \times 10^7$ spores / g FM (figure 26). Cette quantité de spores a légèrement augmenté au cours du premier mois de compostage dans tous les composts sauf pour CFS, CG et CGW. Tandis que, les derniers composts montrent des conditions plus stressantes telles que le pH au CFS et une faible biodisponibilité de la matière organique au CG et au CGW. Ensuite, les spores de *Clostridium* montrent une diminution progressive jusqu'à 10^2 en CFG, 10^3 en CF, CGW et CFO à la fin du cycle de compostage. Alors que les composts CFS, CG et CFW ont enregistré une diminution à 10^4 spores / g FM. Cette diminution de la quantité de bactéries produisant des spores est importante par rapport aux études précédentes comme celle de Hassen *et al.*, (2001), où elles montrent une diminution de 10^7 à 10^5 . Ces auteurs suggèrent que cette diminution en fin de processus pourrait s'expliquer par une augmentation du nombre total de microorganismes pendant la phase de refroidissement en raison de la

germination et de la multiplication des principaux organismes sporogènes tels que le genre *Bacillus*.

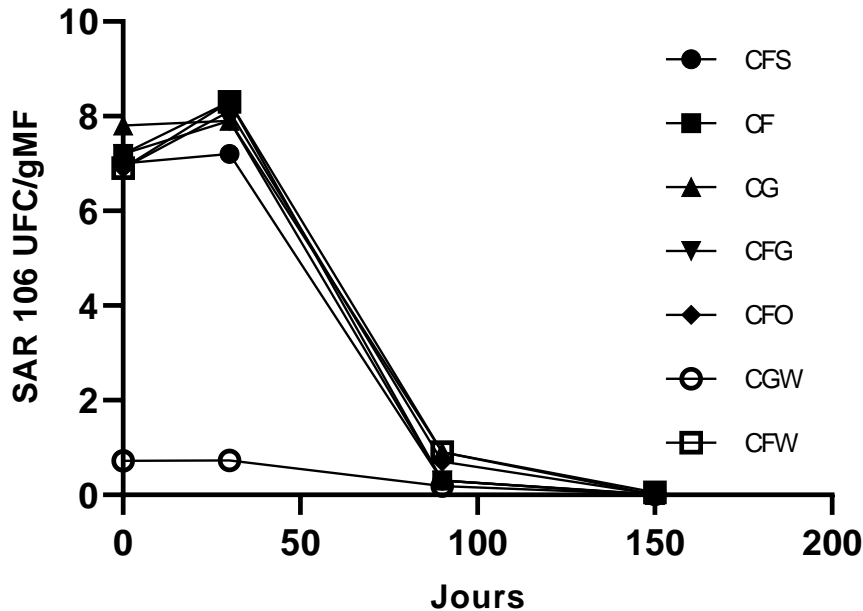


Figure 25. Evolution des anaérobies réduisant les sulfites au cours du compostage

III.1.10. *Pseudomonas aeruginosa*

Le nombre moyen de *Pseudomonas aeruginosa* est d'environ 10^5 UFC / g MF pour la plupart des mélanges initiaux destinés au compostage, sauf chez CGW et CFO qui présentent des valeurs autour de 10^4 UFC /g MF et chez CFG montrant une valeur inférieure à 3×10^3 UFC / g MF (Figure 27). Au cours du compostage, le nombre de *Pseudomonas aeruginosa* a augmenté, avec un certain freinage comme en C1 où la température dépasse 67°C en phase thermophile. De plus, il s'est avéré qu'au début de la phase de maturation, la quantité a légèrement diminuée ou stagnée dans certains composts tels que CF, CFG, CGW et CFW, contrairement aux autres composts (CFS, CG, CFO) caractérisés par une nette augmentation du nombre de *Pseudomonas aeruginosa* lors de cette phase. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que pour les premiers composts, il y a une diminution complète de la matière organique biodisponible en tant que nutriment bactérien, ce qui est traduit effectivement par une absence

de phase de maturation mésophile dans ces composts. D'un autre côté, cela pourrait également être dû à la croissance lors de cette phase de micro-organismes plus antagonistes qui bénéficient de matériaux lignocellulosiques plus récalcitrants. En fait, le compost CFG contenant une faible quantité de *Pseudomonas aeruginosa* est caractérisé par la prédominance d'actinomycètes qui inhibent probablement la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. De plus, le compost CGW présente à la fois une teneur élevée en champignons et en actinomycètes lors de l'étape de maturation ce qui freine probablement la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. En fait, les deux composts sont composés de déchets verts, ce qui améliore la croissance des champignons et des actinomycètes responsables de la dégradation des résidus lignine-cellulosiques. Les deux groupes sont importants dans la dégradation de ce dernier type de matière organique, bien qu'avec des stratégies de vie différentes.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont principalement associées à la matière organique fraîche, riche en composés facilement dégradables, Alors que les actinomycètes sont traditionnellement considérés comme des bactéries tardives pendant le processus de décomposition, où ils sont considérés comme des concurrents puissants profitants des composés organiques complexes (Thirup *et al.*, 2001). En effet, les composts qui ont montré des activités importantes d'actinomycètes et / ou de champignons, présentent un effet antagoniste contre *Pseudomonas aeruginosa*. Néanmoins, la majorité des composts montrent que la quantité de *Pseudomonas aeruginosa* a augmenté au cours du processus de compostage (figure 2). Des résultats similaires ont été trouvés précédemment (Atif *et al.*, 2018). En effet, cette bactérie produit des substances à effet antibactérien comme les phénazines (Rane *et al.*, 2007, Zahir *et al.*, 2018), expliquant peut-être sa résistance lors du compostage. Kulshreshtha et Velusamy (2012), ont également démontré que *Pseudomonas aeruginosa* a une activité antimicrobienne qui pourrait inhiber des microbes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. Le test réalisé sur les extraits des composés antimicrobiens de *Pseudomonas aeruginosa* contre certains microorganismes pathogènes, tels que *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* et *Klebsiella pneumoniae* a révélé un effet antagoniste de cette bactérie accompagné de la production des métabolites secondaires, qui sont de puissants composés bioactifs pour contrôler les agents pathogènes du sol (Wadekar *et al.*, 2019).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie du sol omniprésente et a été largement étudiée pour son activité antibactérienne avec la production de composés bioactifs (Weller, 2007 ;

Shanmugaiah *et al.*, 2010). Cependant, dans notre étude, après l'application des composts au sols dans des tests agronomiques, en utilisant les sept composts séparément, *Pseudomonas aeruginosa*, n'a été pas détecté dans la plupart des sols ou présente de faibles concentrations d'environ 10^2 UFC / g MF.

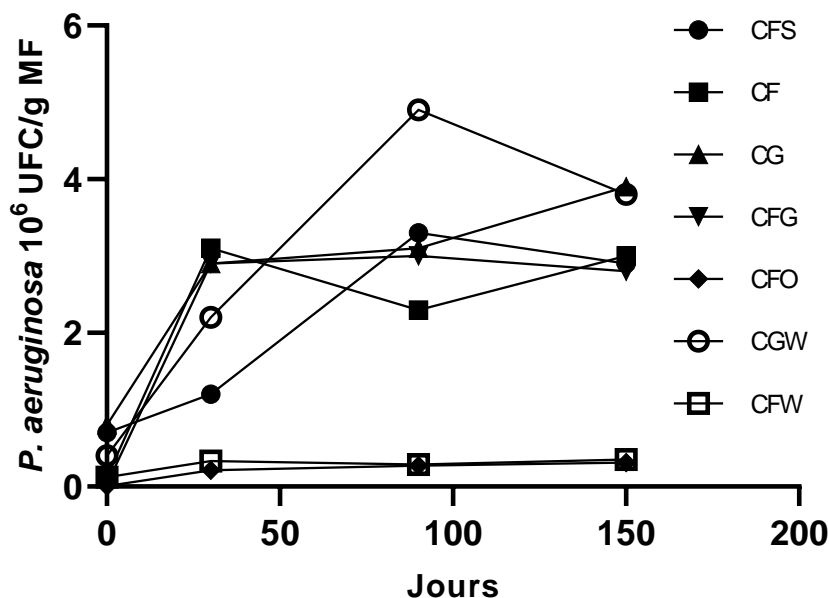


Figure 26. Evolution de *Pseudomonas aeruginosa* au cours du compostage

IV. Discussion

La communauté microbienne a fortement changé pendant les cycles de compostage entre les cycles initiaux de réchauffement et de refroidissement final. Le nombre et l'existence de micro-organismes ont démontré une forte variation entre les bactéries mésophiles et thermophiles, les champignons et les actinomycètes.

Pendant le processus du compostage, le suivi de la température reflète l'intensité de l'activité microbienne et détermine l'efficacité du compostage (Miller, 1991 ; Namkoong et Hwang, 1997). En effet, au commencement du compostage, l'augmentation de la température dans la phase thermophile joue un rôle clé déterminant pour détruire les pathogènes et son efficacité est en outre liée au temps d'exposition à ses températures élevées. Par ailleurs, la

compétition et l'épuisement des nutriments combinés à cette température accrue entraînent l'inactivation et la destruction des agents pathogènes.

Dans l'étude actuelle, la température de tous les tas du compost testés était très élevée après le troisième jour de compostage et présentait le niveau maximal (55 °C à 68 °C) au long d'un minimum de 15 jours de compostage. Ces températures et le temps de réchauffement du compost sont plus adéquats pour détruire la plupart des microbes pathogènes. Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par d'autres auteurs, qui ont également mentionné que l'augmentation de la température du compost jusqu'à 55 °C à 65 °C était toujours souhaitable pour détruire la plupart des agents pathogènes (Hefnawy *et al.*, 2013, Saidi *et al.*, 2008).

Les organismes utilisés pour surveiller l'efficacité du processus de compostage pour produire des déchets désinfectés étaient *E. coli*, les streptocoques fécaux et *Salmonella* (Jones et Martin, 2003). En effet, dans la présente étude, la chaleur générée pendant le compostage a détruit toutes les bactéries pathogènes dans les composts matures finaux et quelques-uns se sont avérés même débarrasser complètement d'*E. coli*, de coliformes fécaux, de streptocoques fécaux et de *Salmonella*.

Les populations bactériennes se sont avérées maximales au début ou pendant la phase mésophile initiale du compostage, mais ont diminué pendant la phase thermophile et sont éliminées davantage dans la phase de refroidissement et de maturation du compostage. Les mêmes résultats ont été rapportés par Chandna, (2013).

Ainsi, au cours de notre étude, nous avons remarqué une nette diminution des agents pathogènes (coliformes et streptocoques fécaux, *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*) malgré la diversité de la composition initiale des déchets utilisées pour le compostage. Cette diminution peut même aller jusqu'à l'élimination vers la fin du processus de compostage, en faveur d'une augmentation des actinomycètes, de *Pseudomonas aeruginosa* et des champignons. Lemunier (2005) a confirmé que la composition des déchets affecte la croissance des agents pathogènes dans les composts. Cet auteur a déclaré aussi qu'aucune relation claire entre les paramètres physico-chimiques du compost et la survie des agents pathogènes n'a été trouvée. Néanmoins, la microflore indigène joue un rôle essentiel dans le contrôle des agents pathogènes.

Levanon et Pluda (2002) ont constaté que la population bactérienne totale diminue au cours du processus de compostage au profit de celle des actinomycètes et des champignons

totaux. En effet, nous pouvons suggérer que la diminution du nombre de microorganismes à la fin du compostage peut également s'expliquer par la diminution des sources de carbone et d'azote et / ou aussi le développement de micro-organismes antagonistes thermotolérants ou mésophiles. En effet, un déclin continu et important des agents pathogènes opportunistes est enregistré en phase de maturation en raison du manque de la matière organique pour les micro-organismes, comme le suggère également (Goyal, 2005). Chandna *et al.*, (2013) ont rapporté aussi que la population bactérienne s'est avérée être maximale au début ou pendant la phase mésophile du compostage, puis elle commence à diminuer pendant la phase thermophile. Cette diminution s'accélère davantage en se rapprochant de son élimination pendant la phase de refroidissement et de maturation du compostage.

Cependant, la prolifération des actinomycètes et des champignons lors de l'étape finale du compostage est liée au fait que ces micro-organismes sont des agents essentiels dans la dégradation de la lignocellulose présente dans la matière organique (López *et al.*, 2014 ; Tuomela *et al.*, 2000 ; Goyal *et al.*, 2005). Les activités de ces derniers micro-organismes variaient selon les mélanges initiaux des déchets. Biyada *et al.*, (2020) a trouvé une relation entre la dégradation de la matière organique et la dynamique des activités métaboliques des micro-organismes. L'activité de la cellulase dépend des types de micro-organismes cellulotiques qui se développent sur les déchets organiques (López *et al.*, 2014 ; Yu *et al.*, 2007, Buswell et Chang, 1994). Tang *et al.*, (2007) rapportent que la phase mésophile du compostage est plus efficace pour réduire la masse de fumier de bovins, de paille du riz dans le compost que la phase thermophile en raison de l'activité de décomposition plus élevée de la communauté microbienne caractérisée par la prédominance des bactéries mésophiles et des champignons. Il est donc temps de développer une technique alternative pour produire un compost de bonne qualité en utilisant la biomasse lignocellulosique (Chandna *et al.*, 2013). Par conséquent, les tendances récentes en matière du recyclage des résidus de cultures indiquent la possibilité d'utiliser certaines microflore efficaces, en particulier les dégradateurs de cellulose et de lignine les plus connus. Si la microflore était ajoutée pendant le compostage, le temps du compostage pourrait être réduit (Buswell et Chang, 1994).

Par ailleurs, après compostage, aucune bactérie pathogène n'a pu reprendre sa prolifération après sa diminution, d'autres études ont trouvé les mêmes résultats, à savoir Hassen *et al.*, (2001). Cela pourrait être s'expliqué par la présence au compost final de bactéries plus résistantes comme *Pseudomonas aeruginosa*, qui sont des bactéries plus résistantes aux

conditions sévères, et qui peuvent aussi produire des substances bioactives pour limiter la croissance de nombreuses bactéries et champignons. Les composés à effet antimicrobien de *Pseudomonas aeruginosa* étaient les phénazines composées de pyocyanine, de 1-hydroxyphénazine, de phénazine-1-carboxamide et d'acide phénazine-1-carboxylique (Zahir *et al.*, 2018 ; Kulshreshtha et Velusamy, 2012). En effet, *Pseudomonas aeruginosa* est classée parmi les bactéries à activités antimicrobiennes selon nombreux travaux (Rane *et al.*, 2007, Zahir *et al.*, 2018 ; El-Naggar *et al.*, 2009). En fait, les vésicules membranaires contenant des peptidoglycanes hydrolases produites naturellement par *P. aeruginosa* lysent la couche peptidoglycane de plusieurs bactéries à Gram négatif et à Gram positif (dont *Mycobacterium*) (Li *et al.*, 1998). Des études rapportent l'effet inhibiteur de *Pseudomonas aeruginosa* sur *E. coli* (Rane *et al.*, 2007, Hongthani *et al.*, 2007); sur *Staphylococcus aureus* et staphylocoques à coagulase négative (Hongthani *et al.*, 2007 ; Uzair *et al.*, 2006); sur *Bacillus subtilis* (Hongthani *et al.*, 2007), sur *Erwinia carotovora* (Nansathit *et al.*, 2009 ; Hongthani *et al.*, 2007) et sur *M. tuberculosis* (Rane *et al.*, 2007). En fait, *Pseudomonas aeruginosa* est l'une des microorganismes omniprésents dans le sol et qui a été largement étudiée aujourd'hui pour son activité antibactérienne avec la production de composés bioactifs (Weller, 2007 ; Shanmugaiah *et al.*, 2010). En fait, *P. aeruginosa* est un exemple typique de double évaluation ; dans un environnement clinique, c'est l'une des bactéries pathogènes opportunistes les plus importantes, mais dans le domaine de la protection de l'environnement, les souches de cette espèce sont couramment utilisées à des fins de bioremédiation (Kaszab, 2010). Kousser *et al.*, (2019) a rapporté que *Pseudomonas aeruginosa* inhibe la germination de *Rhizopus microsporus* par séquestration du fer libre de l'environnement.

Conclusion

La complexité des matières végétales dégradées et la qualité du produit final dépendent du type de biomasse microbienne impliquée pendant le compostage. Cependant, bien qu'il existe quelques différences dans la désinfection du compost, les conditions de réchauffement et le développement de micro-organismes thermophiles et mésophiles jouent un rôle important dans l'élimination des agents pathogènes des déchets utilisés dans le compostage. Ainsi, le compostage pourrait être choisi comme traitement biologique pour la désinfection des déchets organiques. La maturation du compost pourrait également être évaluée par la présence de certains micro-organismes, principalement des actinomycètes et des champignons. Bien que la persistance de *Pseudomonas aeruginosa* donne une idée sur la qualité hygiénique du produit

final et son rôle sur le compostage, les actinomycètes et les champignons se sont les principaux micro-organismes présentant un rôle incontournable à la phase de maturation du compostage dans la dégradation des matériaux lignocellulosiques. Toutefois, malgré que *Pseudomonas aeruginosa* présente un risque sanitaire, elle pourrait jouer un rôle antibactérien bénéfique contre les phytopathogènes. Finalement, la persistance de *Pseudomonas aeruginosa* dans des conditions du compostage n'a jamais été étudiée et son Comportement devra encore être investigué au sein du compost.

Chapitre III

Criblage et isolement des microorganismes à effet antibactérien à partir des composts de différents déchets organiques et leur caractérisation macroscopique et microscopique

Screening and isolation of microorganisms with antibacterial effect from composts of different organic wastes and their macroscopic and microscopic characterization

Résumé

Dans l'objectif de lutter durablement contre les agents pathogènes représentant des vrais ennemis pour l'agriculture, certains agriculteurs marocains choisissent une lutte biologique comme étant une solution alternative, prometteuse et sans danger pour l'environnement. Parmi ces techniques durables et environnementales figurent la lutte biologique par l'usage des microorganismes isolée des composts mature, considérés comme une source très intéressante des métabolites à effet antimicrobien.

Ainsi dans le présent travail, nous avons pu isoler et purifier 178 isolats des 7 composts, qui ont des effets antibactériens très significatifs vis-à-vis des souches pathogènes tels que, *Escherichia coli* CCMM/B4, *Streptococcus* sp. CCMM/B24 et *Salmonella* sp. CCMMB17. La grande variabilité des résultats des caractères microscopiques et des caractères macroscopiques d'une bactérie à l'autre et d'un compost à l'autre ce qui rend difficile la comparaison et l'interprétation des résultats. Cependant, on note une tendance générale de diminution des bactéries gram- et une augmentation des teneurs de ceux Gram+, témoignant de la bonne conduite du processus du compostage. En fait, on peut utiliser le rapport gram+ sur gram- comme indic de maturité du compost.

Mots clés : Compost ; phytopathogènes; activité antimicrobienne; caractères microscopiques ; caractères macroscopiques ; résidus phosphatés.

Abstract

In order to control in a sustainable way the pathogens that represent real enemies for agriculture, some Moroccan farmers choose biological control as an alternative and environmentally friendly solution. Among these sustainable and environmental techniques is the biological control by the use of microorganisms isolated from mature composts, considered as a very interesting source of metabolites with antimicrobial effect.

Thus, in the present work, we could isolate and purify 178 isolates from 7 composts, which have very significant antibacterial effects against pathogenic strains such as, *Escherichia coli* CCMM/B4, *Streptococcus* sp. CCMM/B24 and *Salmonella* sp. CCMMB17. The great variability of the results of the microscopic and macroscopic characters from one bacterium to another and from one compost to another makes it difficult to compare and interpret the results. However, there is a general trend of a decrease in gram- bacteria and an increase in the content of gram-positive bacteria, indicating that the composting process was well conducted. In fact, we can use the gram+ to gram- ratio as an indicator of compost maturity.

Keywords : Compost ; plant pathogens ; antimicrobial activity ; microscopic characters ; macroscopic characters ; phosphate residues.

I.Introduction

Au Maroc, le secteur agricole est un secteur économique important ; plus que 50% de la population vivant de ce secteur. Pourtant, ce domaine est menacé par les phytopathogènes qui attaquent les plantes cultivées menant ainsi à leur altération et à des grandes pertes économiques.

A l'heure actuelle, le contrôle chimique reste la principale mesure pour le traitement des plantes infectées par l'utilisation des pesticides. Cependant, cette méthode conventionnelle est polluante à l'environnement et présente un effet néfaste sur la santé humaine. Par ailleurs, les agents pathogènes développent des mécanismes de résistances vis-à-vis des pesticides chimiques utilisés d'une manière irrationnelle et répétée. Devant cette situation, la recherche d'autres alternatives non nocifs et capables d'éliminer les phytopathogènes est devenue une nécessité parmi lesquelles figure la lutte biologique par l'usage des microorganismes.

Vu sa richesse en microorganismes ayant un effet supprimeur contre les maladies phytopathogènes, le compost reste l'alternatif de lutte biologique le plus efficace. D'autre part, le compost a été rapporté par plusieurs travaux de recherche scientifique comme étant un amendement organique adéquat à appliquer par les agriculteurs. Par ailleurs, la qualité du compost des bio-déchets de point de vue microbiologique est fortement avantageux pour, l'agriculture, l'économie et aussi pour la salubrité environnementale. En fait, le compostage est fréquemment utilisé pour le recyclage des déchets organiques. Néanmoins, une façon de limiter le risque potentiel de maladies d'origine bactérienne est de s'assurer que l'amendement des sols est effectué par des engrais organiques préalablement désinfectés pour atténuer tout risque de contamination. En outre, les microorganismes du compost comme les microorganismes des autres écosystèmes naturels, se sont actuellement considérés comme source d'espoir pour résoudre plusieurs problèmes de lutte biologique contre les phytopathogènes.

Effectivement, au cours du compostage, différentes communautés de microorganismes, constituées majoritairement de bactéries, de champignons et de protozoaires se succèdent (Jouraiphy, 2007). Ces micro-organismes exercent un effet supprimeur vis-à-vis des agents pathogènes (provoquant plusieurs maladies graves et qui sont à l'origine de plusieurs dégâts en agriculture) cohabitant dans le sol avec celles qui sont très bénéfiques et inoffensifs pour l'Homme, les animaux et légèrement pour les plantes. Ainsi que les écologistes exhortent et encouragent l'utilisation des composts dans le domaine de l'agriculture vu leurs énormes avantages pour le maintien de l'équilibre des écosystèmes naturels.

En effet, nombreux travaux ont démontré que l'amendement des sols par le compost supprime des maladies causées par des pathogènes du sol de différents types des cultures (Noble et Coventry, 2005). Il y a presque un siècle, Sanford (1926) a commencé une enquête sur les maladies provoquées par les pathogènes du sol, et lors de son étude, il a suggéré que le pathogène du sol *Streptomyces scabies* qui cause la gale commune, pourrait être contrôlé par des amendements biologiques tels que le compost. Dans le même contexte, nombreuses sont les études qui ont démontré les effets positifs après l'application du compost sur l'atténuation des maladies des plantes. En outre, Lewis *et al.*, (1992) ont constaté que 3 à 4 ans de traitement des cultures du coton par le compost permet de réduire considérablement la densité de l'inoculum de *Rhizoctonia solani* dans le sol.

D'un autre côté, l'effet suppressif du compost contre les maladies telluriques est le plus souvent régi par des mécanismes de nature microbienne, en relation avec les populations microbiennes apportées par le compost (Hoitink, 1991 ; Fuchs et Larbi, 2004).

En fait, l'ajout de matière organique au sol augmente et stimule la biomasse et l'activité microbienne, de sorte que les populations bénéfiques de bactéries et de champignons entrent en compétition (espace, éléments nutritifs) avec les espèces pathogènes. Alors que, les composts contiennent certains composés humiques hydrosolubles. Le rôle de ces composés sur la santé des plantes et leur interaction avec les agents pathogènes est cependant encore méconnu. Concernant l'effet phytosanitaire des extraits de composts contre les maladies foliaires, les mécanismes de protection décrits sont contradictoires. Il existe différentes observations qui favorisent la voie de la nature microbienne (Stindt, 1990 ; Weltzien, 1992 ; Mc Quilken *et al.*, 1994), le mécanisme d'induction de résistance (Zhang *et al.*, 1998 ; Samerski et Weltzien, 1988) et l'effet antibiotique (Yohalem *et al.*, 1994 ; Elad et Shtienberg, 1994 ; Cronin *et al.*, 1996).

Ainsi, vu la richesse microbiologique des composts en microorganismes bénéfiques pour lutter contre les agents pathogènes, nous avons criblé, isolé et purifié tout microorganisme à effet inhibiteur contre trois principales bactéries pathogènes (*Escherichia coli* CCMM/B4, *Streptococcus* sp. CCMM/B24 et *Salmonella* sp. CCMMB17), et deux champignons phytopathogènes tels que *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*. Par la suite, les isolats à effet inhibiteur ont été caractérisés macroscopiquement et microscopiquement.

II. Matériel et méthodes

II.1. Effet antibactérien contre les microorganismes pathogènes

II.1.1. Echantillonnage

Pour isoler des microorganismes à effet antimicrobien des composts fabriqués au sein de l'université sultan moulay Slimane de Beni Mellal, nous avons pris des échantillons représentatifs des composts durant la succession des trois phases distinctes (La phase (1) mésophile, la phase (2) thermophile, et la phase (3) de maturité.

Dans le but d'obtenir des échantillons homogènes, les prélèvements sont effectués à différents niveaux du tas et sont mélangés et homogénéisés et un échantillon pour analyse est prélevé selon le principe du quartage. Les échantillons sont analysés soit immédiatement, soit stockés à 4 ° C jusqu'à l'analyse.

Les sept composts sont les mêmes utilisé dans le chapitre II, ils ont été élaborés à partir de divers déchets organiques (Déchets ménagères, déchets verts, Déchets des olives) qui sont enrichis en résidus de phosphate à l'exception des deux composts 6 (CGW) et 7 (CFW) (tableau 7).

II.1.2. Souches microbiennes utilisées pour tester l'effet antibactérien et les milieux de culture :

Escherichia coli CCMM/B4, *Streptococcus* sp. CCMM/B24 et *Salmonella* sp. CCMMB17 sont les trois souches bactériennes pour tester l'effet antibactérien.

- *E. coli* : c'est un bacille à Gram négatif, fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, avec un taux de génération de 20 minutes.
- *Salmonella* sp : c'est un bacille à Gram négatif, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae.
- *Streptococcus* sp : Cocci à Gram négatif fait partie de la famille des Streptococcaceae.

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* A 27 et *Aspergillus niger* CCMM-M100 ont été cultivés respectivement dans la gélose glucosée à l'extrait du Pomme de Terre (PDA). Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 28°C pendant sept jours, puis elles ont été conservées à 4°C.

Les milieux de culture utilisés au cours de ce présent travail, sont adéquats pour le développement des souches pathogènes cibles, et pour la majorité des microorganismes cultivables de compost (microorganismes à croissance rapide et lente). Nous avons utilisé le

milieu Luria-Bertani (LB) pour les cultures en suspension, des bactéries pathogènes, et pour l'inoculation des isolats d'intérêts afin de produire des substances bioactives. Ces bactéries ont été entretenues dans le milieu Luria-Bertani Liquide LBL (10g de peptone, 5g d'extrait de levure, 10g de NaCl par un litre d'eau distillée), et le Milieu Luria Bertoni solide LBS (10g de peptone, 5g d'extrait de levure, 10g de NaCl et 15g d'agar par un litre d'eau distillée).

Durant toute la période de ce travail, les bactéries ont été ensemencées chaque semaine sur des milieux solides puis elles ont été conservées à 4°C.

II.1.3. Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances antibactériennes

L'échantillon de compost (10 g) a été dilué dans 90 ml d'une solution tampon (Na_2HPO_4 0,06 M / NaH_2PO_4) (1/9v/v), pH 7,6. Des dilutions de séries décimales (10^{-1} à 10^{-7}) de chaque échantillon des composts ont été réalisées, puis un aliquote de 100µl de chaque dilution a été étalé sur une boîte de pétri préalablement ensemencée par *E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptococcus* sp. Après l'incubation à 28°C pendant 48 heures, les colonies entourées d'une auréole d'inhibition ont été repiquées et purifiées (Hassi *et al.*, 2007 ; Zahir, 2018).

II.1.3.1. Test de l'activité antibactérienne des isolats sur un support solide

Ce test consiste à confirmer l'effet antibactérien des isolats sur *E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptococcus* sp directement sur un milieu solide. Ainsi, une colonie de chaque isolat a été prélevée de culture jeune puis déposée au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu LBS et préalablement ensemencée par une des bactéries indicatrices. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 48 heures (Zahir, 2018), puis l'auréole d'inhibition a été mesurée.

Les résultats sont exprimés en (mm), par mesure de la distance entre la limite de la colonie bactérienne et le début de la zone d'inhibition de la souche pathogène. L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 1 mm (Schillinger et Lucke, 1989).

II.1.4. Effet antifongique des isolats *in vitro*

L'antagonisme de quelques isolats tels, 2BFE13, CFSL32, BISP32, ATSL3 contre deux phytopathogènes (*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*) a été étudié par co-culture côte à côte sur des plaques PDA. Ainsi, chacune des boîtes de Pétri a été striée par l'un des isolats (2BFE13, CFSL32, BISP32 ou ATSL3). Après 48 h d'incubation, deux disques de 5 mm de *Fusarium oxysporum* ont été déposés perpendiculairement à 2,5 cm de part et de l'autre de la strie de l'antagoniste. La même démarche a été suivie pour tester l'effet antagoniste des isolats contre *Aspergillus niger*.

Pour la validation du protocole expérimentale utilisé, 3 répétitions ont été effectuées pour chacune des agents pathogènes (*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*). Les boîtes ont ensuite été incubées à 25 ± 2 ° C.

Le pourcentage d'inhibition a été évalué en mesurant le rayon de la colonie de *Fusarium oxysporum* et d'*Aspergillus niger* cultivée avec les isolats 2BFE13, CFSL32, BISP32 et ATSL3. Pour se rassurer de cet effet antagoniste, nous avons cultivé chacune des deux champignons seuls en absence de l'isolat et des mesures du rayon de la colonie ont été prises après 2 à 6 jours de l'incubation.

II.2. Caractérisation microscopiques et macroscopiques des microorganismes

II.2.1. Sélection des microorganismes d'intérêt

Les bactéries qu'ayant un effet inhibiteur vis-à-vis de *E. coli*, *Salmonella* spp. et *Streptococcus* spp. ont été purifiées, examinées macroscopiquement puis microscopiquement en utilisant la coloration de Gram.

II.2.2. Milieu de culture utilisé pour les cultures jeunes

Le milieu de culture utilisé au cours de ce présent travail est le milieu Luria Bertoni solide (LBS). Les microorganismes ont été entretenus dans le Milieu Luria Bertoni solide LBS. Après stérilisation à 121 °C pendant 15 minutes, Le milieu LBS a été refroidi à 45 °C et coulé dans des boîtes de Pétri stériles (Djabali et Barkat, 2013).

II.2.3. Caractères microscopiques des isolats

Les bactéries peuvent être groupées en 2 catégories selon la méthode de coloration de Gram. Cette technique a été trouvée en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste danois. Après coloration, les bactéries à Gram positif deviennent violettes alors que les bactéries à Gram négatif apparaissent en rose.

La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. En outre, la coloration de Gram permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles. (Annexe 3)

II.2.4. Caractères macroscopiques des isolats

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé ainsi que de la durée et de la température de l'incubation.

Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées : les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées. La colonie peut apparaître à la surface du milieu de culture pour les germes aérobies, ou être en profondeur pour les germes anaérobies.

II.2.4.1. Aspect de colonies en surface sur milieu solide

II.2.4.1.1. La taille

Elle peut être mesurée à l'aide d'une règle graduée pour les grandes colonies. Il est possible aussi d'utiliser le microscope au grossissement le plus faible pour mesurer la taille des petites colonies en utilisant de micromètres oculaires.

II.2.4.1.2. La forme

La forme de colonies en surface sur le milieu solide peut s'identifier par plusieurs critères, à savoir :

- **L'Allure** de contours : lisse, dentelés, déchiquetés, irréguliers

- **Le Relief** : surface bombée, demi-bombée, plate (figure 28).
- **Le Centre** : parfois surélève, parfois ombiliquée (en creux).

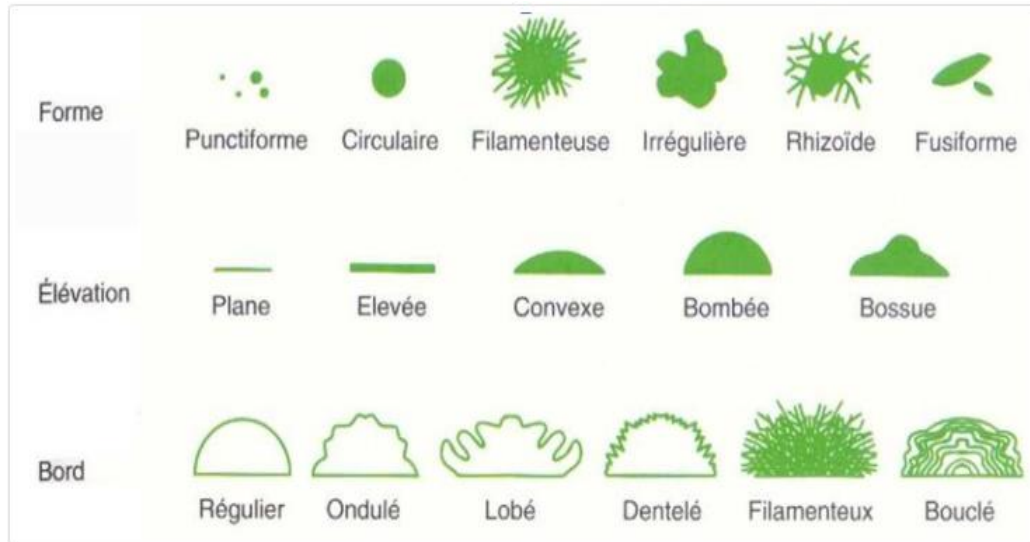


Figure 27. Présentation de la forme de colonie (L.M. Prescott, J.P. Harley, D. A. Klein)

II.2.4.1.3. L'aspect de la surface

La surface d'une colonie bactérienne peut être lisse, rugueuse. Elle peut aussi renvoyer la lumière de façon à leur donner un reflet métallique ou un aspect irisé.

II.2.4.1.4. L'opacité

Les colonies sont décrites comme :

- Opaques (ne laissent pas passer la lumière)
- Translucides (laissent passer la lumière mais on ne voit pas les formes au travers, comme le verre dépoli)
- Transparentes (laissent passer la lumière et voir les formes au travers, comme le verre, on parle de gouttes de rosée).

II.2.4.1.5. La consistance

Au moment du prélèvement il est possible d'apprécier si les colonies sont grasses, crémeuses (on obtient facilement des suspensions homogènes), sèches ou encore muqueuses (on obtient difficilement des suspensions homogènes).

II.2.4.1.6. La couleur et/ou pigment

Plusieurs colonies n'ont pas une couleur bien définie (blanc, gris). Par contre, certaines bactéries produisent un pigment insoluble qui donnent un aspect bien caractéristique à la colonie (rose, jaune, rouge ...), tandis que d'autres produisent un pigment soluble qui diffuse et colore le milieu.

III. Résultats et discussions

III.1. Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances antibactériennes

Le compost mûr de différents déchets organiques renferme une communauté importante et diversifiée des microorganismes, ils sont soit cultivables sur un milieu de culture ou non. Ainsi, nous avons pu isoler et purifier des microorganismes à effet surpresseur contre 3 principales bactéries pathogènes (*Escherichia coli* CCMM/B4, *Streptococcus* sp. CCMM/B24 et *Salmonella* sp. CCMMB17). Les isolats issus des 7 composts précités au matériel et méthodes sont au total 178 isolats divisés comme suit :

- 26 isolats de bactéries du compost 1 (CFS) (Tableau 9, Figure 26) dont 5 isolats issus de la phase mésophile, 5 isolats issus de la phase thermophile, et 16 isolats issus de phase de maturation.
- 18 isolats du compost 2 (CF) (tableau 10, Figure 27) dont 1 isolat a pour origine la phase mésophile, 5 et 12 isolats sont issus de la phase thermophile et la phase de maturation, respectivement.
- 15 isolats du compost 3 (CG) (tableau 11, Figure 28) dont 4 isolats de la phase mésophile, 5 isolats de la phase thermophile, et 6 isolats de la phase de maturation.
- 31 isolats du compost 4 (CFG) (tableau12, Figure 29) dont 6 isolats de la phase mésophile, 23 isolats de la phase thermophile, et 2 isolats de la phase de maturation.

- 17 isolats du compost 5 (CFO) (tableau 13, Figure 30) issus tous de la phase thermophile,
- 57 isolats du compost 6 (CGW) (tableau 14, Figure 31) dont 3 isolats de la phase mésophile, 21 isolats de la phase thermophile, et 33 isolats de la phase de maturation.
- 12 isolats du compost 7 (CFW) (tableau 15, Figure 32) dont 9 isolats de la phase thermophile et 3 isolats de la phase de maturation.

Certains de ces microorganismes ont un large spectre d'inhibition en agissant sur *Streptococcus* sp, *Salmonella* sp et *E. coli*. Tandis que d'autres ont un spectre d'inhibition étroit en agissant seulement sur une seule bactérie cible.

D'après les résultats, nous avons constaté que les isolats de la phase de maturation sont les isolats qui présentent un effet inhibiteur vis-à-vis des agents pathogènes cibles pour les composts 1 (CFS), compost 2 (CF), compost 3 (CG) et compost 6 (CGW). Par exemple pour le compost 1 (CFS), nous avons remarqué que 16 isolats parmi les 26 isolats testés sont issus de la phase de maturation ont un bon effet inhibiteurs contre les agents pathogènes cibles alors que 5 isolats sont issus de la phase thermophile. Pour le compost 6 (CGW) 33 isolats de la phase de maturation parmi les 57 isolats testés ont un effet inhibiteurs vis-à-vis les agents pathogènes cibles alors que 21 isolats sont issus de la phase thermophile. Même résultats pour le compost 2 (CF) 12 isolats sont issus de la phase de maturation et qui présente un bon effet inhibiteur parmi les 18 isolats testés, alors que 5 isolats sont issus de la phase thermophile. Pour le compost 3 (CG) 6 isolats de la phase de maturation ont un effet inhibiteur contre les agents pathogènes parmi les 15 isolats testés et 5 isolats issu de la phase thermophile.

Par contre, pour les composts 4 (CFG), 5 (CFO), et 7 (CFW), sont plus les isolats de la phase thermophile qui présentent un effet inhibiteur vis-à-vis des agents pathogènes cibles. Pour le compost 4 (CFG) nous avons remarqué que 23 des isolats sont issus de la phase thermophile parmi les 31 isolats testés ont un bon effet inhibiteurs contre les agents pathogènes cibles alors que 2 isolats sont issus de la phase de maturation. Pour le compost 5 (CFO) 17 isolats sont tous issus de la phase thermophile et présente un effet supprimeur contre les agents pathogènes cibles. En fin pour le compost 7 (CFW) 9 isolats de la phase thermophiles parmi les 12 isolats testés sont des isolats qui présente un effet inhibiteur vis-à-vis des agents pathogènes cibles et 3 de la phase de maturation.

III.2. Le diamètre des aurioles d'inhibition des isolats par rapport aux trois agents pathogènes (*E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptococcus* sp)

Les isolats démontrant une activité antibactérienne contre (*E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptococcus* sp) ont été identifiés par la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition. Ces isolats appartiennent aux extraits prélevés de différentes phases du compostage. Des tests de confirmation de l'effet recherché ont été réalisés ensuite sur des supports solides (LBS). Les résultats obtenus montrent une grande diversité microbienne des isolats avec un potentiel inhibiteur différent contre les trois agents pathogènes précités. Cet effet antibactérien a été mis en évidence par l'apparition des auréoles d'inhibition dont les diamètres ont été calculés (en mm) (Figure 26, 27, 28, 29, 30, 31 et 32), (Tableau 9, 10, 11, 12, 13, 14 et 15).

Ces données confirment que ces microorganismes produisent certaines molécules bioactives. Effectivement, certains microorganismes sont dotés des capacités à produire des métabolites secondaires importants qui engendrent des antibiotiques (Raaijmakers *et al.*, 2002). En fait, l'effet suppresseur des isolats des composts vis-à-vis des agents phyto-pathogènes a été déjà démontré par d'autres chercheurs (Craft et Nelson, 1996 ; Boulter *et al.*, 2002). Les microorganismes du compost ont été rapportés aboutissant à une réduction significative de certaines espèces comme *Salmonella*. Une autre étude a démontré que 15 espèces bactériennes, sept appartenant à trois genres à savoir, *Bacillus*, *Micrococcus* et *Pseudomonas* ont été prouvés pour leur efficacité *in vitro* contre les agents pathogènes (Ramzan *et al.*, 2014).

Par ailleurs, l'activité microbiologique d'un compost, sa population microbienne ainsi que sa capacité à inhiber les maladies dépendent de l'état physico-chimique, de stabilité et de maturité du compost. Dans certains cas, les composts agissent directement contre les pathogènes, en empêchant leur développement ou en les détruisant (Hoitink *et al.*, 1977 ; Theodore et Toribio, 1995). La faible disponibilité en éléments nutritifs et une population mésophile avec micro-organismes antagonistes présentent les principaux agents suppresseurs (Chen *et al.*, 1988b).

Tableau 9. Activité antibactérienne des isolats du compost 1 (CFS)

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus</i> sp	<i>Salmonella</i> sp	<i>E.coli</i>

AFE32	Phase de maturation	6	7	-
AFSP11	Phase de maturation	7	6	-
AFSP1L1	Phase de maturation	10	-	-
AFSP1LC1	Phase de maturation	28	7	28
AFSP1LC2	Phase de maturation	30	8	-
AIE11	Phase mésophile	9	-	-
AIE12	Phase mésophile	17	2	1
AIE71	Phase mésophile	6	25	-
AIE72	Phase mésophile	-	7	6
AIS11	Phase mésophile	-	4	-
AFSPL33	Phase thermophile	9	6	8
ATE11	Phase thermophile	22	21	-
ATE12	Phase thermophile	-	60	-
ATE13	Phase thermophile	6	20	-
ATE14	Phase thermophile	-	20	-
ATE15	Phase thermophile	-	60	-
ATE31	Phase thermophile	8	8	20
ATE51	Phase thermophile	6	-	6
ATE54	Phase thermophile	6	6	16
ATS51	Phase thermophile	39	45	
ATSL31	Phase thermophile	17	21	11
ATSL32	Phase thermophile	9	-	11
ATSP31	Phase thermophile	5	10	8
ATSP32	Phase thermophile	-	6	6
ATSP33	Phase thermophile	6	6	7
ATSPL33	Phase thermophile	15	10	8

- = absence d'inhibition

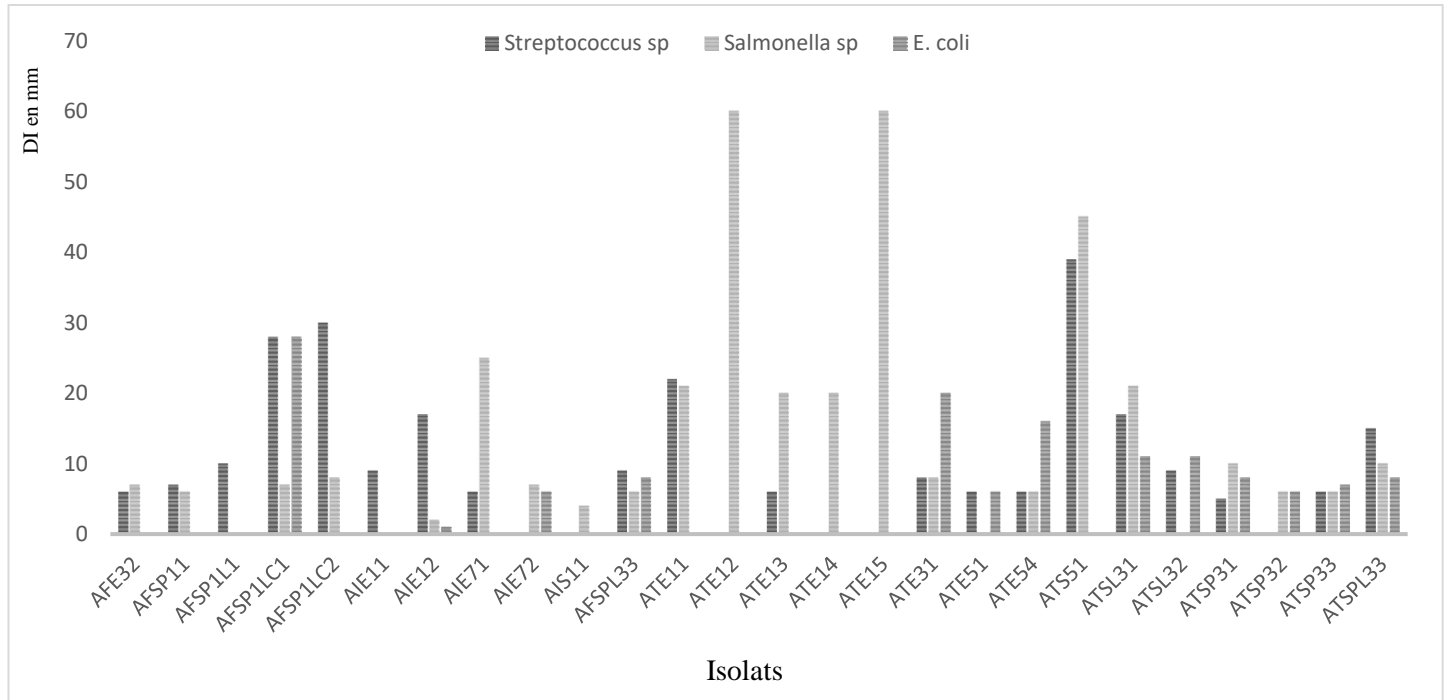


Figure 28. Diamètres des zones d'inhibition révélant l'activité antibactérienne des différents isolats du compost 1 (CFS)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 10), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 10. Activité antibactérienne des isolats du compost 2 (CF)

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus sp</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E.coli</i>
2BFE11	Phase de maturation	6	56	10
2BFE12	Phase de maturation	6	17	8
2BFE13	Phase de maturation	10	64	16
2BFE14	Phase de maturation	45	60	64
2BFE15	Phase de maturation	18	26	-
2BFE32	Phase de maturation	1	14	10
2BFE33	Phase de maturation	57	9	6
2BFEL31	Phase de maturation	6	5	6
2BTE11	Phase thermophile	-	-	50
BFS31	Phase de maturation	-	50	36
BFSP31	Phase de maturation	6	7	-
BFSPL51	Phase de maturation	23	-	7
BFSPL52	Phase de maturation	45	8	12
BISP71	Phase mésophile	-	-	-

BTE51	Phase thermophile	6	6	18
BTSP34	Phase thermophile	7	16	8
BTSP35	Phase thermophile	13	15	9
BTSP52	Phase thermophile	-	7	16

- = absence d'inhibition

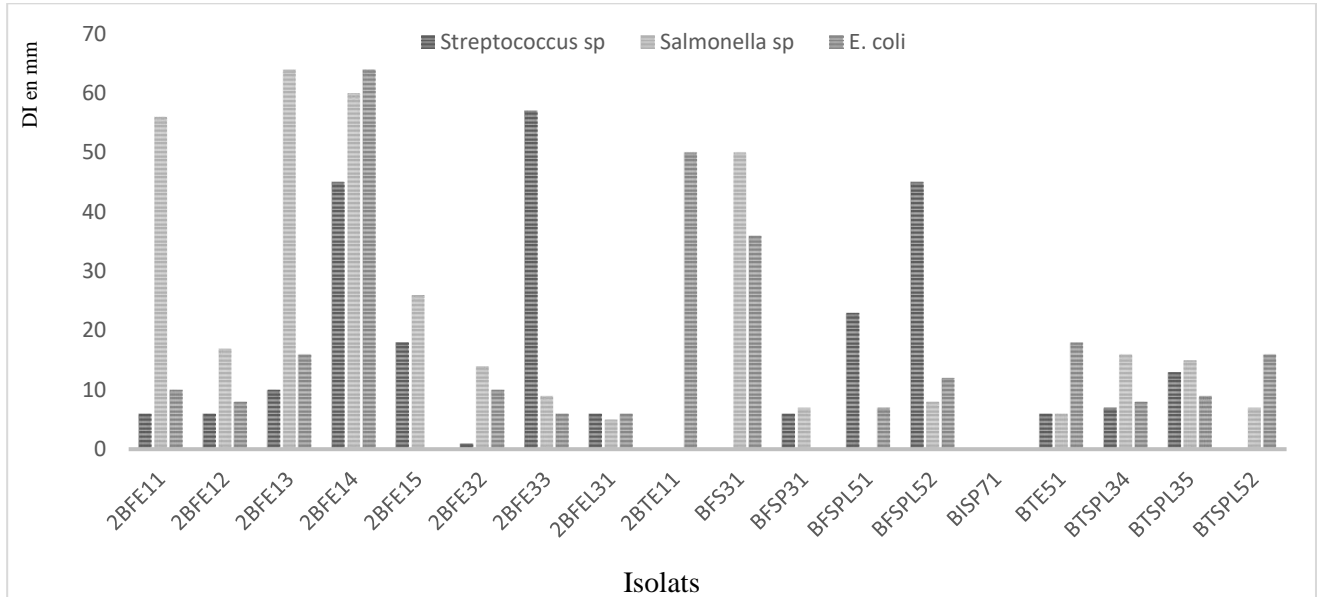


Figure 29. Diamètres des zones d'inhibitions révélant l'activité antibactérienne des différents isolats du compost 2 (CF)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 11), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 11. Activité antibactérienne des isolats du compost 3(CG)

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus sp</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E.coli</i>
2CFE51	Phase de maturation	-	6	-
2CIE11	Phase mésophile	25	13	55
2CTE51	Phase thermophile	5	8	-
CAFE32	Phase de maturation	8	22	19
CFS3L2	Phase de maturation	21	20	18
CFSL32	Phase de maturation	20	7	13
CFSP1L1	Phase de maturation	15	16	18
CFSP12	Phase de maturation	6	-	7
CIca71	Phase mésophile	7	5	-

CIE71	Phase mésophile	8	69	12
CISP31	Phase mésophile	6	7	9
CTSL31	Phase thermophile	40	-	-
CTSL32	Phase thermophile	20	60	-
CTSP51	Phase thermophile	39	68	40
CTSP32	Phase thermophile	10	19	11

- = absence d'inhibition

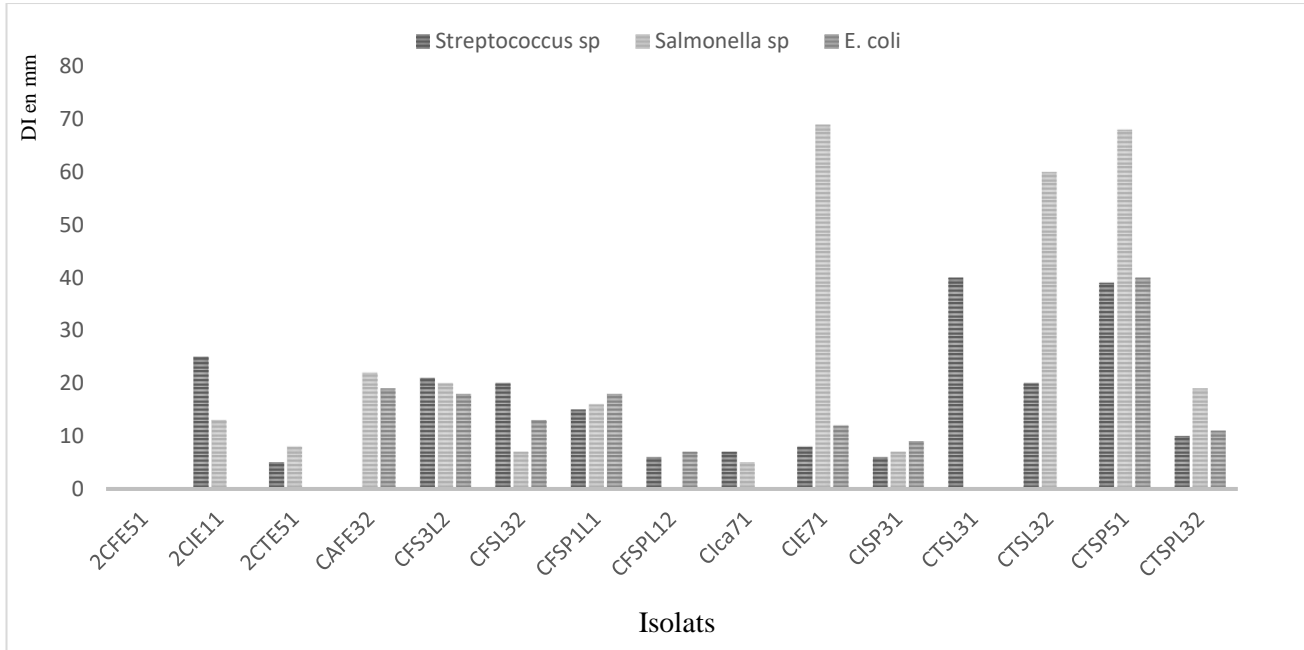


Figure 30. Diamètres des zones d'inhibitions révélant l'activité antibactérienne des différents isolats du compost 3 (CG)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 12), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 12. Activité antibactérienne des isolats du compost 4(CFG)

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus</i> sp	<i>Salmonella</i> sp	<i>E.coli</i>
VMFE31	Phase de maturation	13	07	-
VMFE33	Phase de maturation	30	15	-
VMIE31	Phase mésophile	25	-	-
VMIEcoli51	Phase mésophile	60	15	06
VMILSAL51	Phase mésophile	-	45	-
VMILSTP71	Phase mésophile	12	-	10
VMISal33	Phase mésophile	18	10	-
VMISTP51	Phase mésophile	12	-	25
VMTE11	Phase thermophile	17	-	10
VMTE31	Phase thermophile	18	-	-
VMTE34	Phase thermophile	20	05	06
VMTEcoli11	Phase thermophile	40	53	14
VMTLEcoli54	Phase thermophile	50	55	06
VMTLSAL55	Phase thermophile	-	15	-
VMTLSAL58	Phase thermophile	10	06	10
VMTLSAL71	Phase thermophile	05	60	04
VMTLSTP11	Phase thermophile	30	30	20
VMTSAL11	Phase thermophile	22	30	-
VMTSAL12	Phase thermophile	26	22	28
VMTSAL13	Phase thermophile	55	12	05
VMTSAL14	Phase thermophile	-	13	-
VMTSAL33	Phase thermophile	10	10	17
VMTSAL34	Phase thermophile	10	-	-
VMTSal35	Phase thermophile	-	10	12
VMTSTP31	Phase thermophile	-	-	15
VMTSTP32	Phase thermophile	70	75	30
VMTSTP33	Phase thermophile	-	-	17
VMTSTP34	Phase thermophile	20	-	-
VMTSTP37	Phase thermophile	40	30	38
VMTSTP51	Phase thermophile	-	-	05
VMTSTP52	Phase thermophile	-	10	30

- = absence d'inhibition

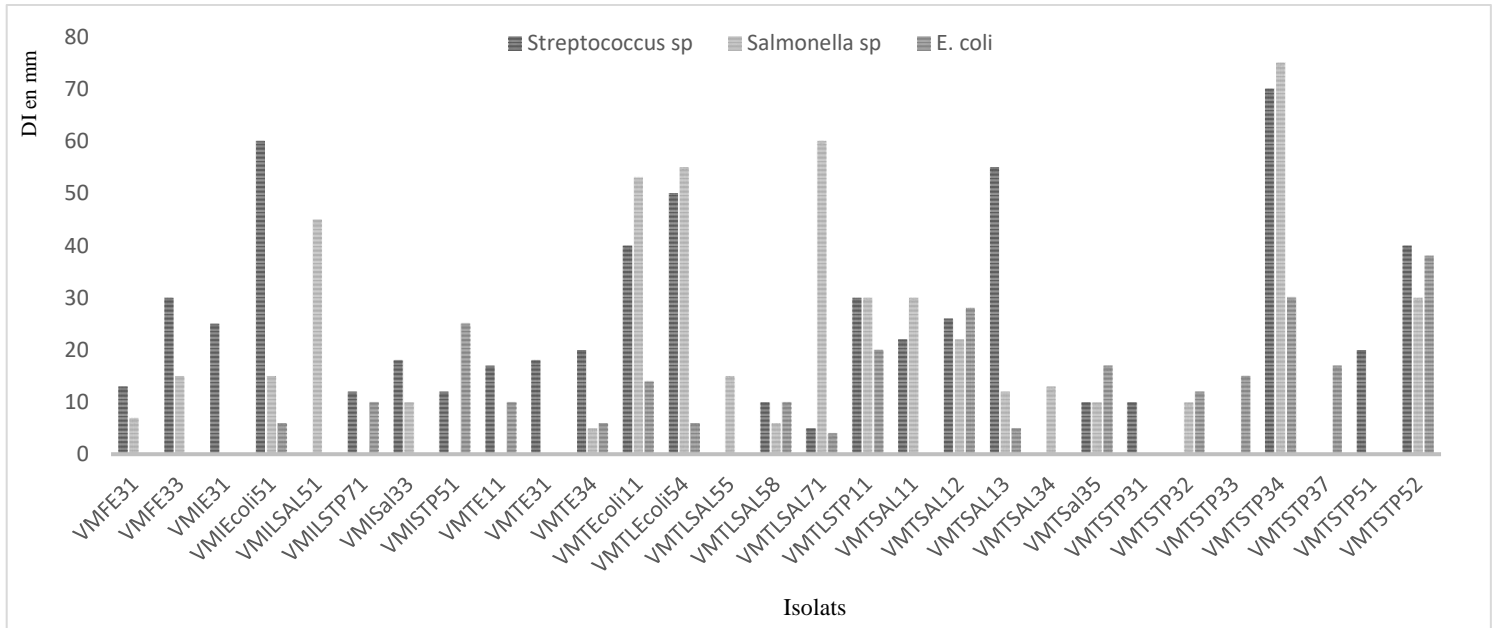


Figure 31. Diamètres des zones d'inhibitions révélant l'activité antibactérienne des différents isolats du compost 4 (CFG)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 13), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 13. Activité antibactérienne des isolats du compost 5 (CFO)

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus sp</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E.coli</i>
GTE14	Phase thermophile	12	42	22
GTE15	Phase thermophile	12	35	14
GTE51	Phase thermophile	20	20	28
GTE52	Phase thermophile	20	18	15
GTE53	Phase thermophile	20	15	18
GTE54	Phase thermophile	15	25	05
GTE55	Phase thermophile	20	15	-
GTE56	Phase thermophile	20	25	05
GTE57	Phase thermophile	20	18	13
GTE58	Phase thermophile	20	12	25
GTE59	Phase thermophile	15	20	-
GTE60	Phase thermophile	15	16	10
GTE61	Phase thermophile	20	17	-
GTE62	Phase thermophile	20	16	-
GTE63	Phase thermophile	15	18	10

GTE65	Phase thermophile	25	15	10
GTE66	Phase thermophile	25	21	-

- = absence d'inhibition

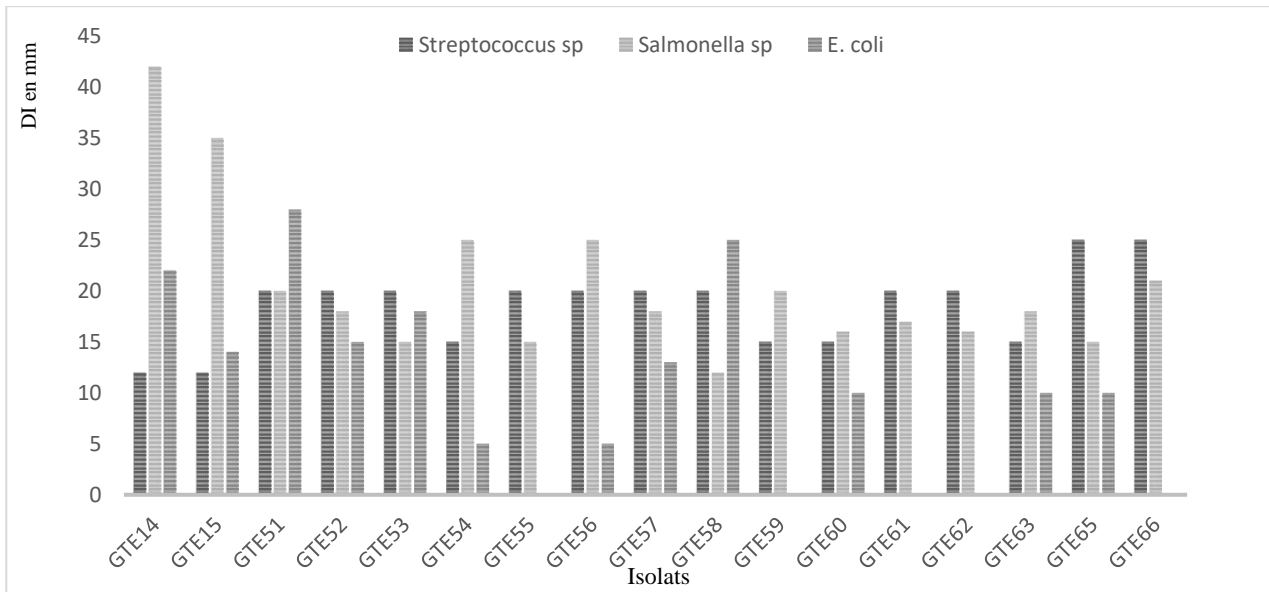


Figure 32. Diamètres des zones d'inhibitions révélant l'activité antibactérienne des différents isolats du compost 5 (CFO)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 14), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 14. Activité antibactérienne des isolats du compost 6 (CGW)

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus sp</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E.coli</i>
VFE11	Phase de maturation	15	24	28
VFE12	Phase de maturation	25	30	20
VFE13	Phase de maturation	18	15	-
VFE34	Phase de maturation	15	-	-
VFE51	Phase de maturation	30	-	40
VFE52	Phase de maturation	10	-	-
VFE53	Phase de maturation	-	-	20
VFE54	Phase de maturation	18	20	30
VFE55	Phase de maturation	14	-	25
VFE56	Phase de maturation	16	-	-

VFE57	Phase de maturation	07	42	25
VFE58	Phase de maturation	06	40	20
VFE59	Phase de maturation	07	-	28
VFE60	Phase de maturation	05	-	20
VFE71	Phase de maturation	06	40	-
VFE72	Phase de maturation	05	15	-
VFE73	Phase de maturation	07	30	10
VFE74	Phase de maturation	06	25	10
VFE75	Phase de maturation	30	-	-
VFE79	Phase de maturation	20	-	-
VFE80	Phase de maturation	25	-	-
VFE81	Phase de maturation	05	30	05
VFE82	Phase de maturation	-	-	05
VFE83	Phase de maturation	06	15	-
VFE84	Phase de maturation	-	24	-
VFSAL11	Phase de maturation	05	45	15
VFSAL31	Phase de maturation	-	20	-
VFSAL32	Phase de maturation	27	20	-
VFSAL33	Phase de maturation	-	10	30
VFSTP11	Phase de maturation	-	20	05
VFSTP12	Phase de maturation	-	15	-
VFSTP13	Phase de maturation	-	20	15
VFSTP14	Phase de maturation	30	40	20
VIE12	Phase mésophile	38	-	-
VIEcoli31	Phase mésophile	30	23	10
VISAL52	Phase mésophile	50	75	05
VTE51	Phase thermophile	15	25	12
VTE52	Phase thermophile	16	12	20
VTE53	Phase thermophile	15	10	10
VTE54	Phase thermophile	10	10	-
VTEcoli51	Phase thermophile	35	13	04
VTEcoli52	Phase thermophile	80	32	05
VTEcoli53	Phase thermophile	80	42	20
VTEcoli54	Phase thermophile	25	10	06
VTEL64	Phase thermophile	-	08	-
VTEL65	Phase thermophile	-	-	05
VTEL66	Phase thermophile	15	10	20
VTLE11	Phase thermophile	10	14	12
VTLEcoli12	Phase thermophile	20	15	06
VTLEcoli31	Phase thermophile	80	10	04
VTLEcoli51	Phase thermophile	70	06	05
VTLEcoli67	Phase thermophile	-	-	10

VTLSAL31	Phase thermophile	-	15	-
VTLSAL33	Phase thermophile	12	15	14
VTLSal34	Phase thermophile	-	10	15
VTSAL13	Phase thermophile	-	15	-
VTSAL14	Phase thermophile	-	10	-

- = absence d'inhibition

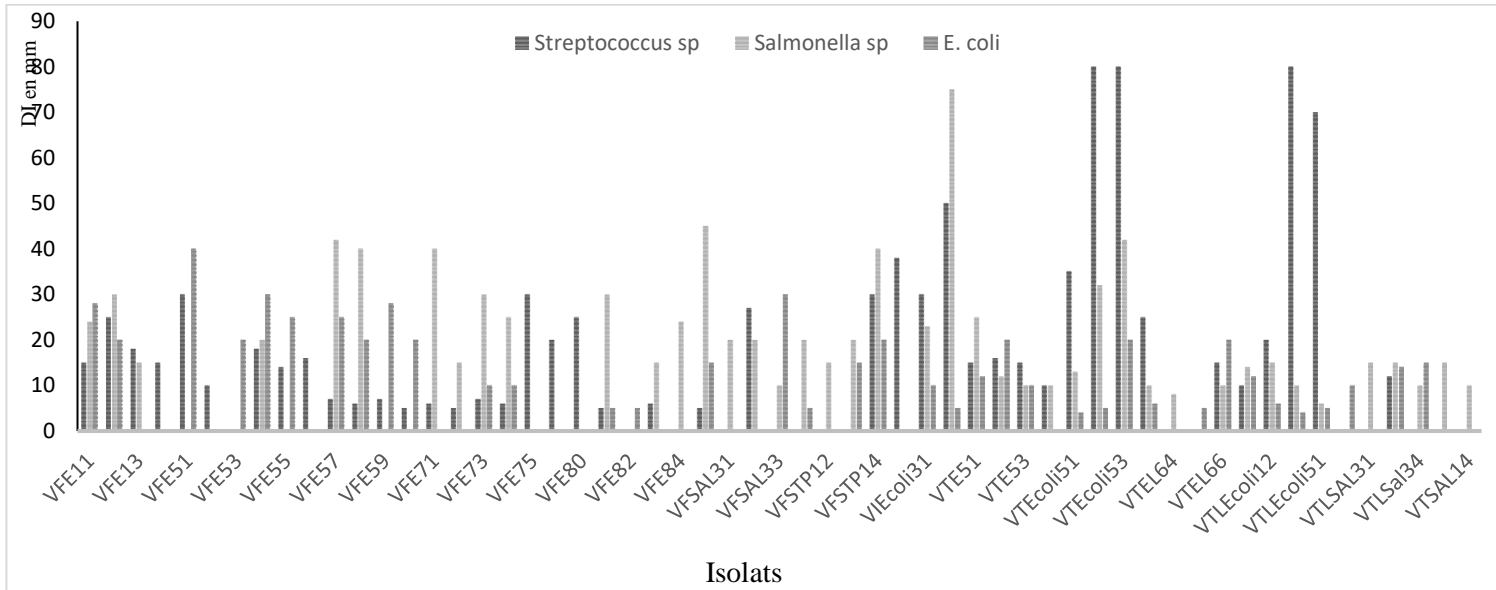


Figure 33. Diamètres des zones d'inhibitions révélant l'activité antibactérienne des différents isolats du compost 6 (CGW)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 15), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 15. Activité antibactérienne des isolats du compost 7 (CFW)

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus</i> sp	<i>Salmonella</i> sp	<i>E.coli</i>
MFSAL12	Phase de maturation	25	25	27
MFSTP31	Phase de maturation	10	10	13
MFSTP36	Phase de maturation	10	15	-
MTLE51	Phase thermophile	20	-	-
MTLEcoli11	Phase thermophile	25	-	06
MTLEcoli12	Phase thermophile	20	-	05
MTLSAL11	Phase thermophile	-	45	-
MTLSTP51	Phase thermophile	70	50	30
MTSTP32	Phase thermophile	-	-	32

MTSTP34	Phase thermophile	05	20	52
MTSTP35	Phase thermophile	06	-	45
MTTLE51	Phase thermophile	15	-	20

- = absence d'inhibition

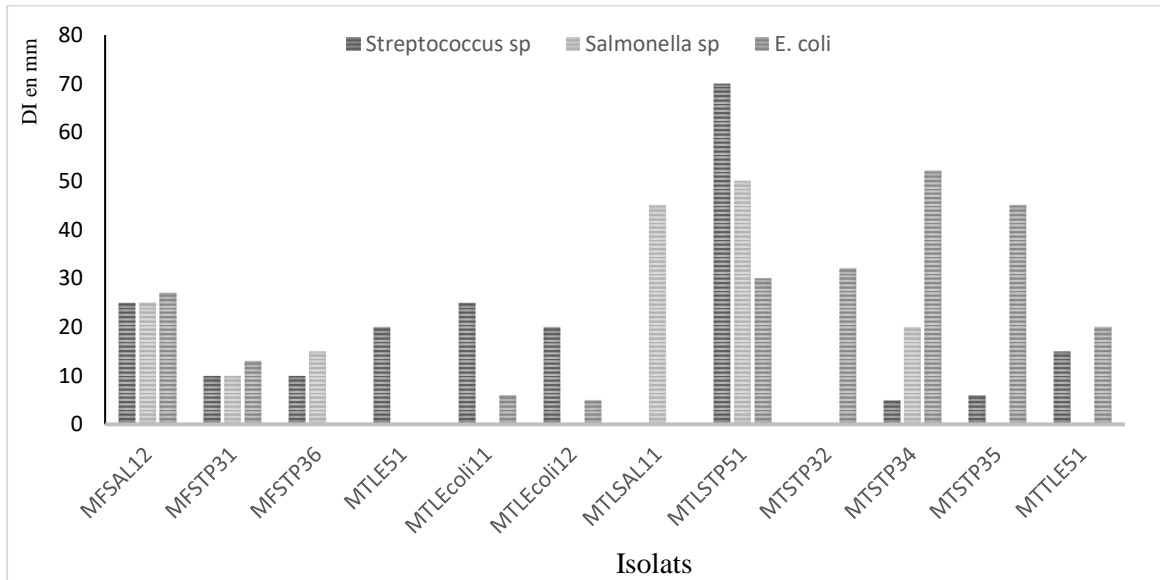
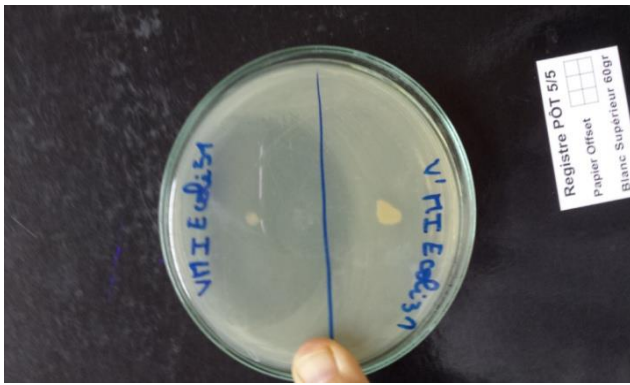
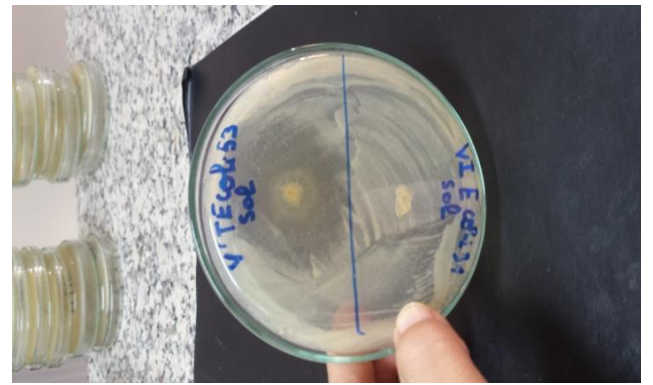
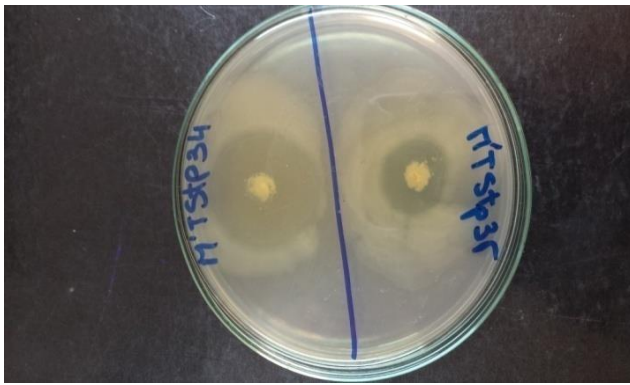
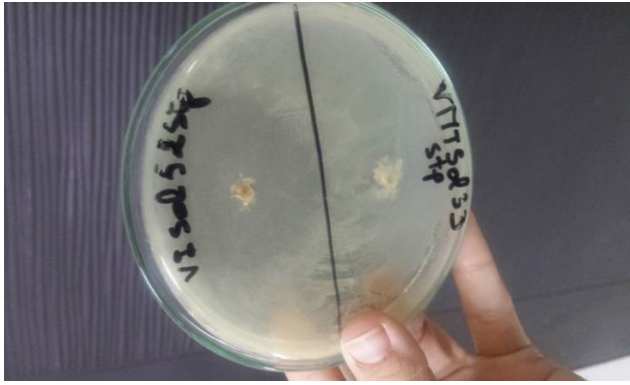


Figure 34. Zones d'inhibition révélant l'activité antibactérienne des différents isolats du compost 7 (CFW)





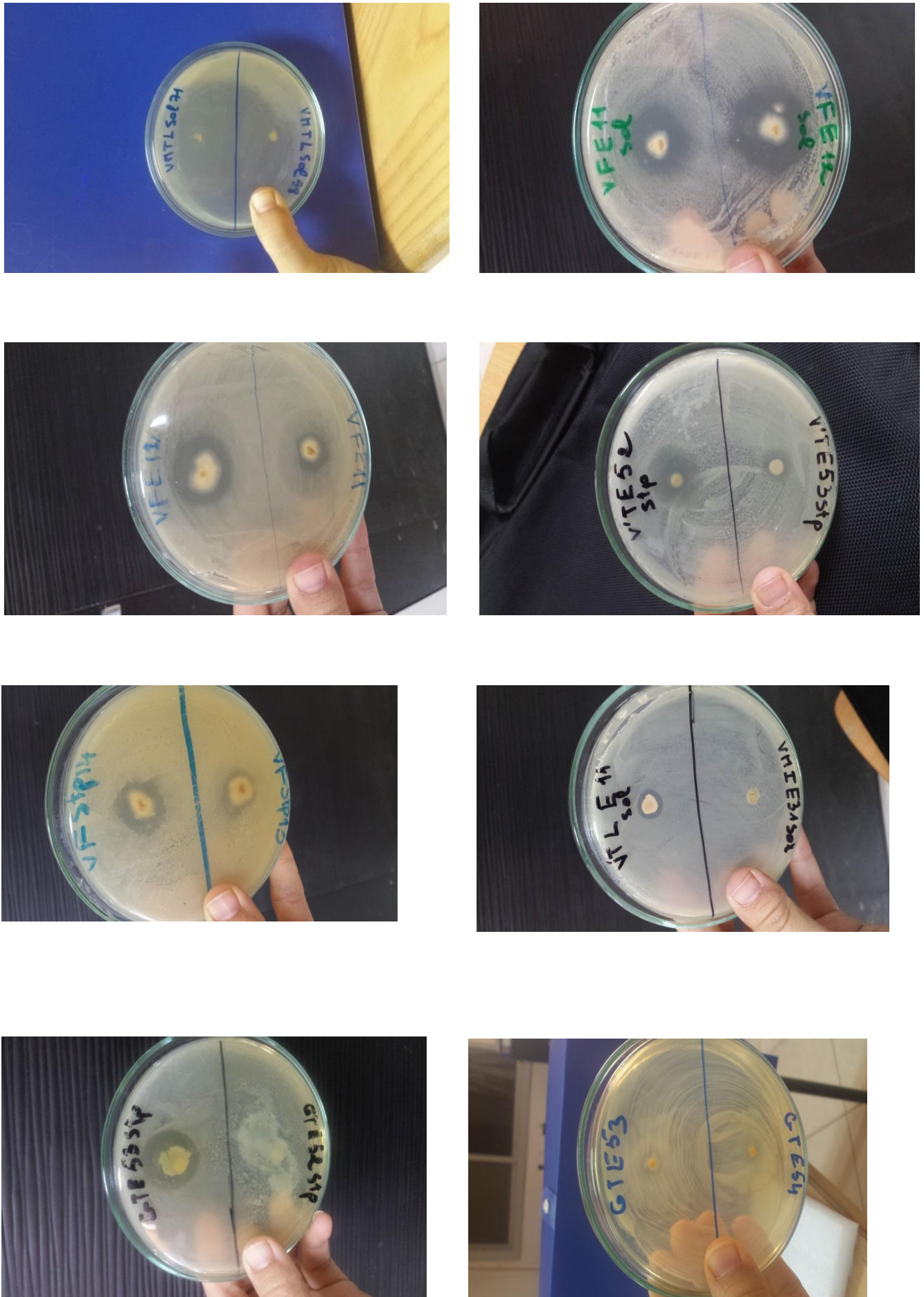


Figure 35. Auréoles d'inhibition dues aux dépôts de quelques isolats bactériens sur des boîtes préalablementensemencées par les agents pathogènes (*E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptococcus* sp)

III.3. L'effet suppresseur de quelques isolats vis-à-vis *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*

III.3. 1. Cas de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*

Sur la base des expériences *in vitro*, les pourcentages d'inhibition de sporulation de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* par les isolats CFSL32, 2BFE13 et BISP32 sont de l'ordre 43,5% ; 47,5% et 50%, respectivement.

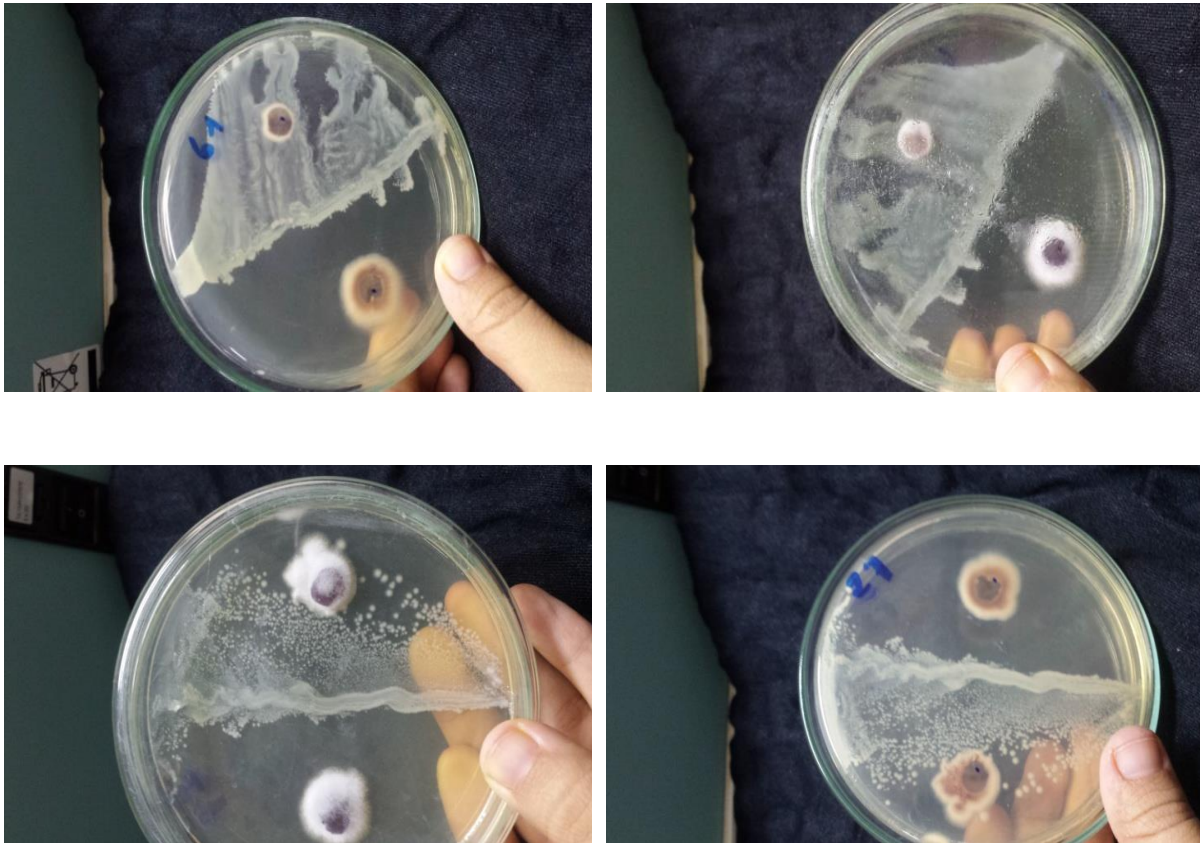




Figure 36. L'effet antagoniste des isolats contre *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*

En fait, Serra *et al.*, (1996) ont démontré que les apports en compost augmentent l'effet suppressif existant contre *Fusarium oxysporum f. sp.*, cet effet est proportionnel à la quantité de compost administrée. Le compost agit vraisemblablement autant à travers son activité microbienne intrinsèque que par la stimulation des activités microbiennes du sol (Nelson et Boehm, 2002).

Il a été rapporté que les agents de lutte biologique permettent un meilleur contrôle des microorganismes phytopathogènes, en interagissant directement avec les agents générant des maladies et/ou indirectement avec leur hôte (Thomashow, 1996 ; Benhamou *et al.*, 2002). L'effet direct est généralement le résultat d'une interaction antagoniste entre l'agent de lutte biologique et l'agent pathogène dû à une antibiose ou à un conflit de nutriment et / ou le parasitisme. Alors que l'interaction indirecte résulte de l'amélioration des mécanismes de défense des plantes contre l'agent pathogène envahissant (Glick et Bashan, 1997; VanLoon *et al.*, 1998; Larkin et Fravel, 1999; Getha et Vikineswary, 2002). L'omniprésence des deux effets peut être possible dans le cas de certains agents de lutte biologique (Thomashow, 1996 ; Van Loon *et al.*, 1998 ; Benhamou *et al.*, 2002). Pour le palmier dattier, plusieurs antagonistes tels,

Bacillus spp., *Rhizobium* spp., *Ulocladiumatrum*, *Candida guilliermondii*, *Pseudomona* ssp., *Rahnella aquatili* sont utilisés comme agents de lutte biologique contre *Fusarium oxysporum* f.sp. pour protéger les plantes du palmier dattier (El Hassni *et al.*, 2007). Ainsi, les actinobactéries rhizosphériques du Maroc (Errakhi *et al.*, 2009), de Thaïlande (Khamna *et al.*, 2009), du Royaume-Uni (Crawford *et al.*, 1993), d'Égypte (El-Mehalawy *et al.*, 2004), de Turquie (Orakci *et al.*, 2010), du Canada (Valois *et al.*, 1996) et des États-Unis (Jiménez-Esquilin et Roane, 2005) ont été identifiés comme de potentiels agents de lutte biologique contre les agents phytopathogènes des plantes. Le genre *Streptomyces* a été largement exploré pour le criblage des agents de lutte biologique contre des maladies de plantes (El-Tarabily et Sivasithamparam, 2006b).

Par ailleurs, les modes d'action de ces agents de lutte biologique sont divers et comprennent l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale, l'hyper-parasitisme et la lyse des agents pathogènes (Doubou *et al.*, 2001 ; Rugthaworn *et al.*, 2007). Donc, la lutte biologique est peut-être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agro-écosystèmes par l'addition et le rééquilibrage des antagonistes naturels (parasite ou prédateur) (Altieri 1999 ; Nautiyal *et al.*, 2000). A travers ces mécanismes, elle joue un rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes (Emmert et Handelsman, 1999)

En effet, le microorganisme antagoniste peut consister en une souche avirulente occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène. Ainsi, l'induction des systèmes de résistance se manifeste par des modifications au niveau de la composition des parois cellulaires ou la libération des éliciteurs. Ces derniers sont des substances mettant en branle les mécanismes de défense de la plante. Celle-ci produira alors des phytoalexines et des protéines PR qui lui confèrent une résistance systémique (Agrios, 1988 ; Toussaint, 1996). Par exemple, *Trichoderma harzianum* T-203 induit des changements structuraux et chimiques des parois cellulaires des plantes ce qui augmente leur résistance aux infections par les phytopathogènes (Brimner et Boland, 2003).

Prenant exemple, le premier produit de lutte biologique commercialisé à base d'actinomycètes a été fabriqué à partir de *Streptomyces griseoviridis* pour contrôler les agents phytopathogènes comme le *Botrytis* et le *Fusarium* (Copping et Mens, 2000 ; Errakhi, 2008).

III.4. Les caractéristiques microscopiques et macroscopiques

Dans cette partie du travail, nous nous intéressons à l'étude des propriétés microscopiques et macroscopiques des souches isolées des composts de différents déchets organiques, et qui ont un effet antibactérien.

III.4.1. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 1

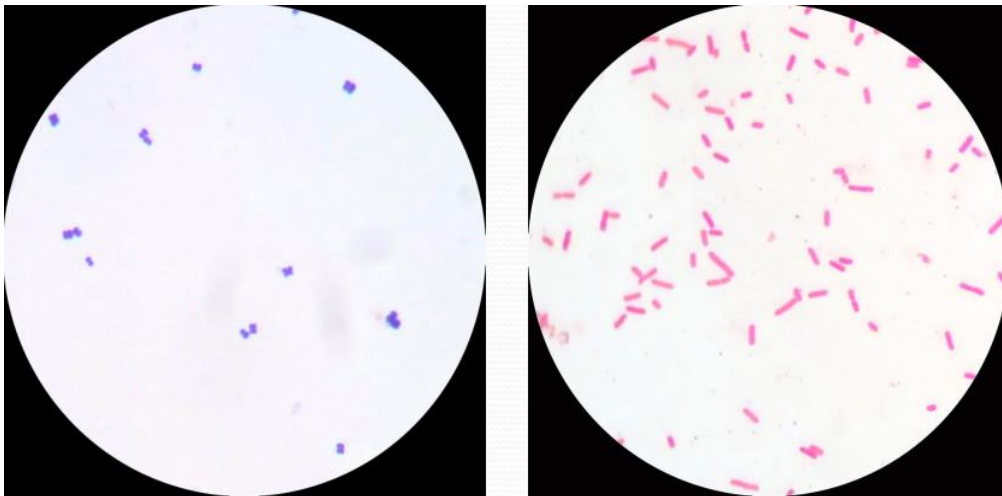


Figure 37. Photos des bactéries à Gram positif (violet) et des bactéries à Gram négatif (rose).

D'après les résultats obtenus du compost 1 (Tableau 16, Figure 39), nous avons remarqué qu'au début du compostage, le pourcentage des bactéries Gram négatif est 80%, alors que les Gram positif est 20%. Durant la phase thermophile, le pourcentage des bactéries à Gram négatif et Gram positif passe à 53,33% et 46,66%, respectivement. Alors qu'à la phase de maturation et la fin du processus du compostage, les bactéries à Gram positif deviennent prédominantes 83,33% à l'opposé des bactéries à Gram- dont le pourcentage a chuté à 16,66%.

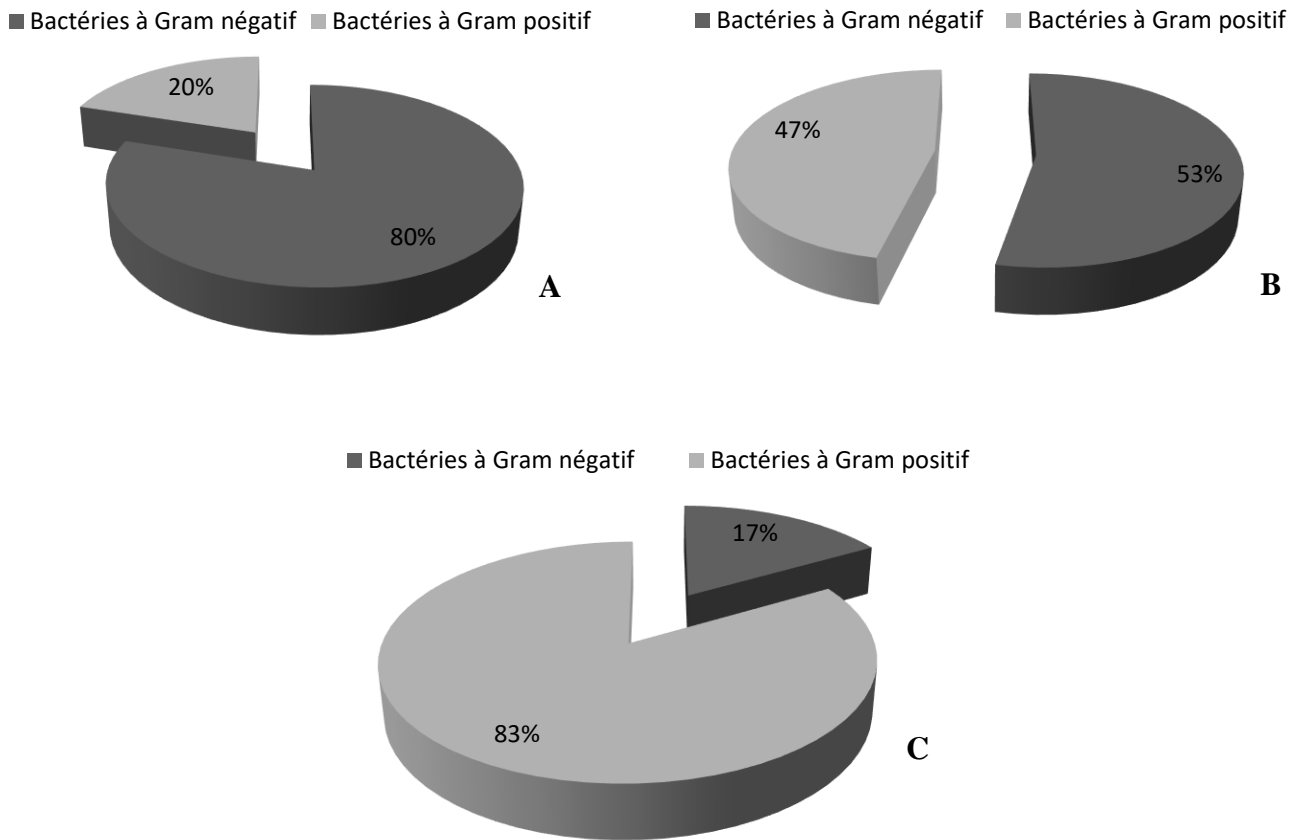


Figure 38. Coloration de Gram des bactéries au début de compostage du CFS (A), durant la phase thermophile (B), et durant la phase finale (C)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 16), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 17. Caractéristiques microscopique et macroscopique des isolats purifiés du compost 1 (CFS)

Isolats	Gram	Association	Forme	Taille	Relief	Couleur	Surface	Contour	Opacité	Brillance
AFE32	+	Chaînette	Cocci	G	Omb	Jaune	Lisse	Echanc	Trap	P
AFSP11	-	Amas	Cocci	M	Bomb	Jaune	Muq	Dent	Opq	P
AFSP1L1	+	Chaînette	Bâtonnet	M	Bomb	Blanche	Lisse	Net	Opq	p
AFSP1LC1	+	Chaînette	Cocci	pe	Omb	Jaune	Lisse	Asym	Trap	p
AFSP1LC2	+	Chaînette	Cocci	G	Bomb	Blanc	Muq	Lob	Opq	A
AIE11	+	Chaînette	Bâtonnet	G	Bomb	Blanche	Muq	Asym	Trap	P

AIE12	-	Amas	Cocci	G	Duv	Jaune	Lisse	Asym	Trap	p
AIE71	-	Chaînette	Bâtonnet	pe	Plate	Blanche	Muq	Asym	Trap	p
AIE72	-	Isolé	Cocci	G	Bom	Incolore	Lisse	Asym	Trap	P
AIS11	-	Chaînette	Cocci	G	Plate	Jaune	Rig	Echanc	Opq	P
AFSPL33	+	Chaînette	Bâtonnet	M	Omb	Blanche	Lisse	Lobulée	Trap	P
ATE11	-	Chaînette	Cocci	G	Bom	Blanche	Muq	Asym	Trap	P
ATE12	-	Isolé	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	p
ATE13	+	Amas	Cocci	pe	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	p
ATE14	+	Isolé	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	P
ATE15	-	Amas	Cocci	Pe	Plate	Incolore	Lisse	Fil	Trap	P
ATE31	+	Isolé	Cocci	G	Duv	Jaunâtre	Lisse	Asym	Trap	p
ATE51	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Omb	Jaune	Rig	Dent	Opq	p
ATE54	-	Chaînette	Cocci	M	Plate	Jaune	Rig	Net	Trap	A
ATS51	+	Chaînette	Cocci	Pe	Bom	Blanche	Lisse	Net	Trap	P
ATSL31	-	Amas	Bâtonnet	G	Bom	Crème	Rig	Dent	Trap	P
ATSL32	+	Amas	Cocci	G	Omb	Jaune	Lisse	Echan	Trap	P
ATSP31	+	Amas	Cocci	G	Omb	Incolore	Rig	Echan	Trap	P
ATSP32	+	Amas	Cocci	G	Plate	Incolore	Rig	Echan	Trap	p
ATSP33	-	Chaînette	Bâtonnet	G	Omb	Incolore	Rig	Echan	Trap	p
ATSPL33	-	Chaînette	Bâtonnet	G	Omb	Jaune	Rig	Dent	Trap	P

Pe : Petite, M : Moyenne, G : Grande, Omb : Ombiliquée, Bom : Bombée, Pla : Plate, Duv : Duveteux, P : Présence, A : Absence, Trap : Transparent, Opq : Opaque, Rig : Rigoureuses, Blanc : Blanche, Asym : Asymétrique, Echanc : Echanquée, Dent : Dentelée, Fil : Filamenteux

III.4.2. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 2

Pour le compost 2 (Tableau 17, Figure 40) nous avons pu isoler 75% des bactéries à Gram négatif et 25% des bactéries à Gram positif pour la phase initiale (mésophile). À la phase thermophile nous avons trouvé que le pourcentage des bactéries à Gram négatif est de 40 % et

60 % à Gram positif, à la fin du processus du compostage (la phase de maturation) nous avons remarqué que le pourcentage des bactéries à Gram positif est de 66.66% et 33.33% à Gram négatif.

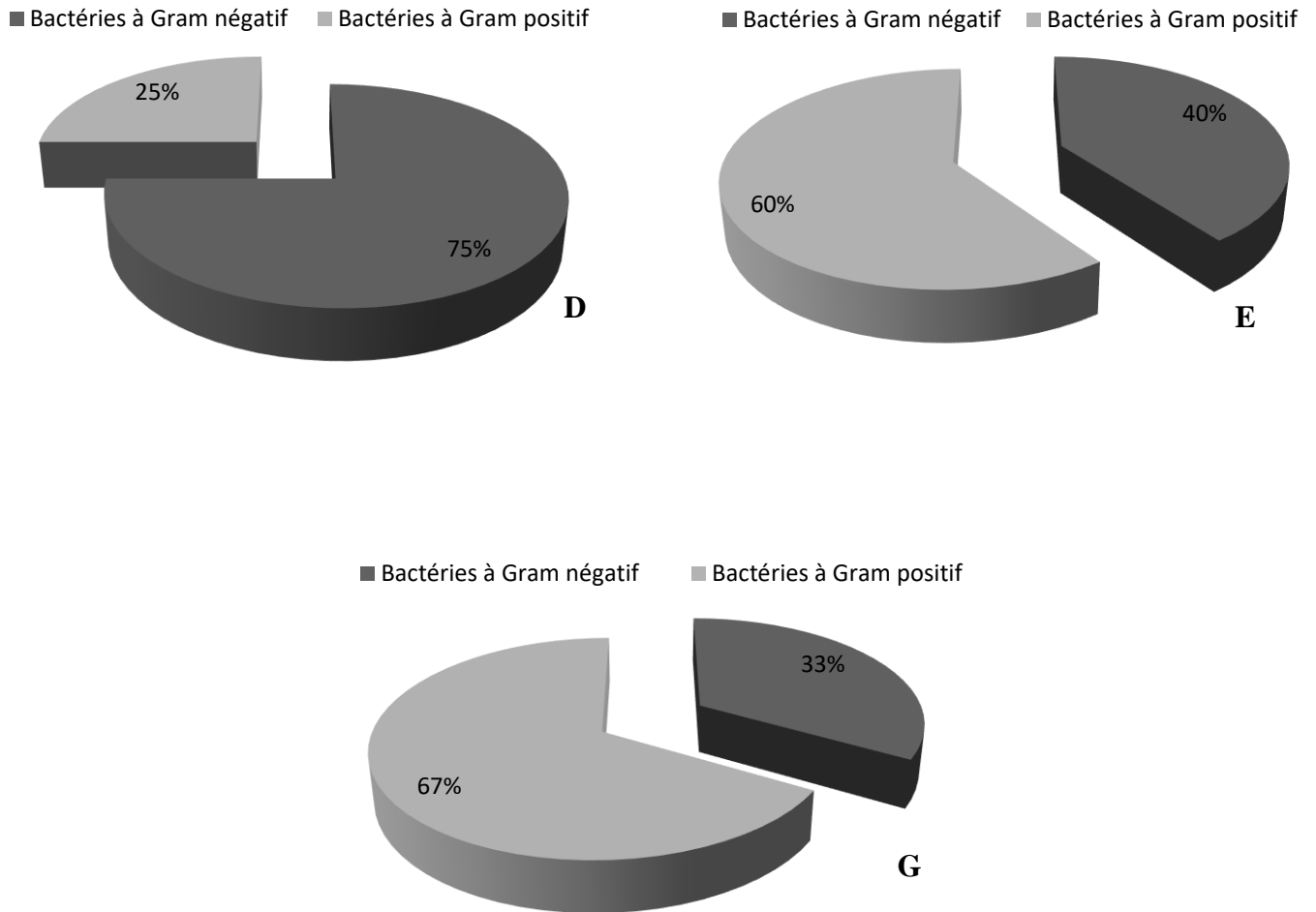


Figure 40. Coloration de Gram des bactéries du compostage de **CF** durant la phase initiale (D), durant la phase thermophile (E), et à la phase de maturation (G)

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 18), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 19. Caractéristiques microscopique et macroscopique des isolats purifiés du Compost 2 (CF)

isolats	Gram	Association	Forme	Taille	Relief	Couleur	Surface	Contour	Opacité	Brillance
2BFE11	+	Chaînette	Cocci	G	Omb	Jaune	Rig	Filame	Opq	P
2BFE12	+	Isolé	Cocci	G	Plate	Blanc	Rig	Lob	Trap	P
2BFE13	-	Chaînette	Cocci	M	Bom	Crème	Rig	Dentelé	Trap	p
2BFE14	+	Isolé	Bâtonnet	pe	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	p
2BFE15	+	Amas	Cocci	G	Omb	Blanc	Lisse	Lob	Opq	A
2BFE32	+	Chaînette	Cocci	Pe	Bom	Crème	Lisse	Net	Trap	P
2BFE33	+	Amas	Bâtonnet	G	Duv	Jaune	Muq	Asym	Opq	p
2BFEL31	+	Amas	Cocci	pe	Bom	Blanc	Lisse	Net	Trap	p
2BTE11	+	Isolé	Cocci	M	Omb	Blanc	Rig	Lob	Opq	P
BFS31	-	Isolé	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	P
BFSP31	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Orang	Lisse	Net	Trap	P
BFSP51	+	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Muq	Echan	Trap	P
BFSP52	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Duv	Blanc	Cérébr	Dentelé	Opq	p
BISP71	-	Amas	Cocci	pe	Omb	Blanc	Rig	Lobulée	Trap	p
BTE51	+	Isolé	Cocci	G	Plate	Blanc	Rig	Lob	Trap	P
BTSPL34	-	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Bom	Blanc	Lisse	Net	Trap	P
BTSPL35	-	Chaînette	Bâtonnet	G	Plate	Crème	Rig	Echan	Trap	p
BTSPL52	-	Isolé	Cocci	M	Omb	Blanc	Cérébr	Dentelé	Opq	p
BIEL32	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Jaune	Lisse	Net	Trap	A
BISTP52	+	Amas	Cocci	G	Plate	Blanc	Rig	Asym	Trap	P
BISAL82	-	Chaînette	Bâtonnet	G	Bom	Crème	Rig	Dentelé	Trap	P

Pe : Petite, M : Moyenne, G : Grande, Omb : Ombrée, Bom : Bombée, Pla : Plate, Duv : Duveteux, P : Présence, A : Absence, Trap : Transparent, Opq : Opaque, Rig : Rigoureuses, Blanc : Blanche, Asym : Asymétrique, Echan : Echanquée, Dent : Dentelée, Fil : Filamenteux

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 18), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

III.4.3. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 3

De même, le compost 3 (tableau 18, Figure 41) contient aussi une diversité microbienne dont 25% des bactéries à Gram positif et 75% à Gram négative pendant la phase initiale, et pour la phase thermophile les bactéries à Gram positif est de 20%, et les bactéries à Gram négatif atteignent 80%, à la fin du processus du compostage (la phase de maturation) nous avons trouvé un pourcentage des bactéries à Gram positif de 83.33% et 16.66% à Gram négatif.

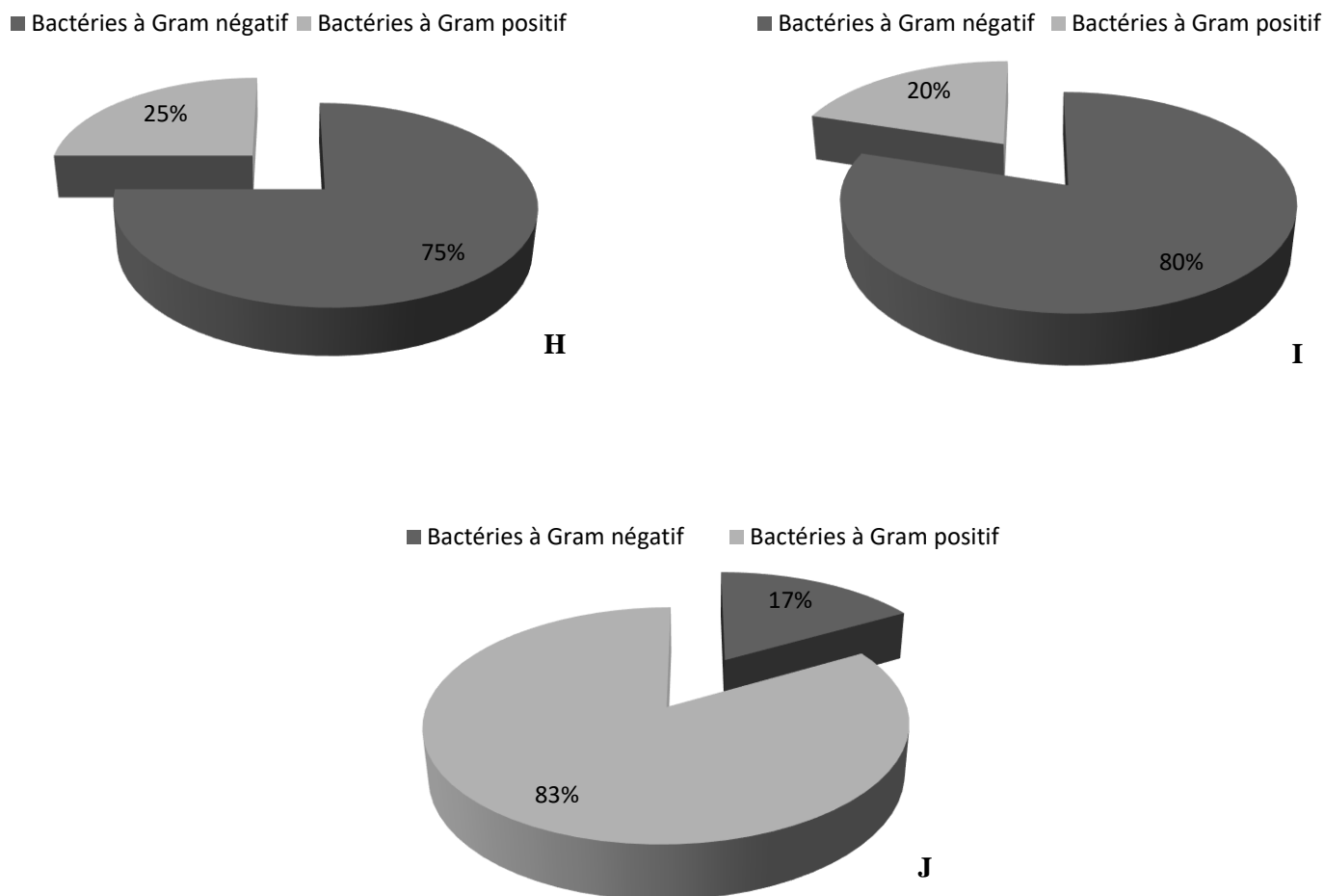


Figure 41. Coloration de Gram des bactéries du compostage du (CG), pendant la phase initiale (H), durant la phase thermophile (I), et à la phase finale (J).

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 18), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 20. Caractéristiques microscopique et macroscopique des isolats purifiés du compost 3 (CG)

isolats	Gram	Association	Forme	Taille	Relief	Couleur	Surface	Contour	Opacité	Brillan ce
2CFE51	+	Isolé	Bâtonnet	G	Omb	Blanche	Muq	Lobulée	Trap	P
2CIE11	-	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Bom	Orang	Lisse	Net	Opq	P
2CTE51	-	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Jaune	Rig	Asym	Opq	p
CAFE32	+	Amas	Cocci	pe	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	p
CFS3L2	-	Isolé	Bâtonnet	G	Plate	Blanc	Lisse	Lob	Opq	A
CFSL32	+	Amas	Cocci	Pe	Bom	Crème	Lisse	Net	Trap	P
CFSP1L1	-	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Marron	Lisse	Lobulée	Opq	p
CFSP1L2	+	Isolé	Bâtonnet i	pe	Bom	Blanc	Rig	Net	Trap	p
CIca71	-	Isolé	Cocci	M	Duv	Blanc	Rig	Lob	Opq	P
CIE71	+	Isolé	Bâtonnet	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	P
CISP31	-	Chaînette	Cocci	M	Bom	Orang	Lisse	Net	Trap	P
CTSL31	-	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Muq	Echan	Trap	P
CTSL32	-	Amas	Cocci	M	Plate	Blanc	Cérébr	Dentelé	Opq	p
CTSP51	+	Chaînette	Bâtonnet	pe	Omb	Blanc	Rig	Lobulée	Trap	p
CTSPL32	-	Amas	Cocci	G	Omb	Blanc	Rig	Lob	Trap	P

Pe : Petite, M : Moyenne, G : Grande, Omb : Ombiliquée, Bom : Bombée, Pla : Plate, Duv : Duveteux, P : Présence, A : Absence, Trap : Transparent, Opq : Opaque, Rig : Rigoureuses, Blanc : Blanche, Asym : Asymétrique, Echan : Echanquée, Dent : Dentelée, Fil : Filamenteux

III.4.4. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 4

Pour le compost 4 (Tableau 19, Figure 42) nous avons remarqué que le pourcentage des bactéries à Gram négatif est de 66.66% et 33.33 % sont à Gram positif au début du processus de compostage. Nous avons trouvé durant la phase thermophile que le pourcentage des bactéries à Gram négatif est de 65.5% et 34.48 % à Gram positif. À la fin du processus du compostage (la phase de maturation) nous avons trouvée 75% des bactéries à Gram positif et 25% à Gram négatif.

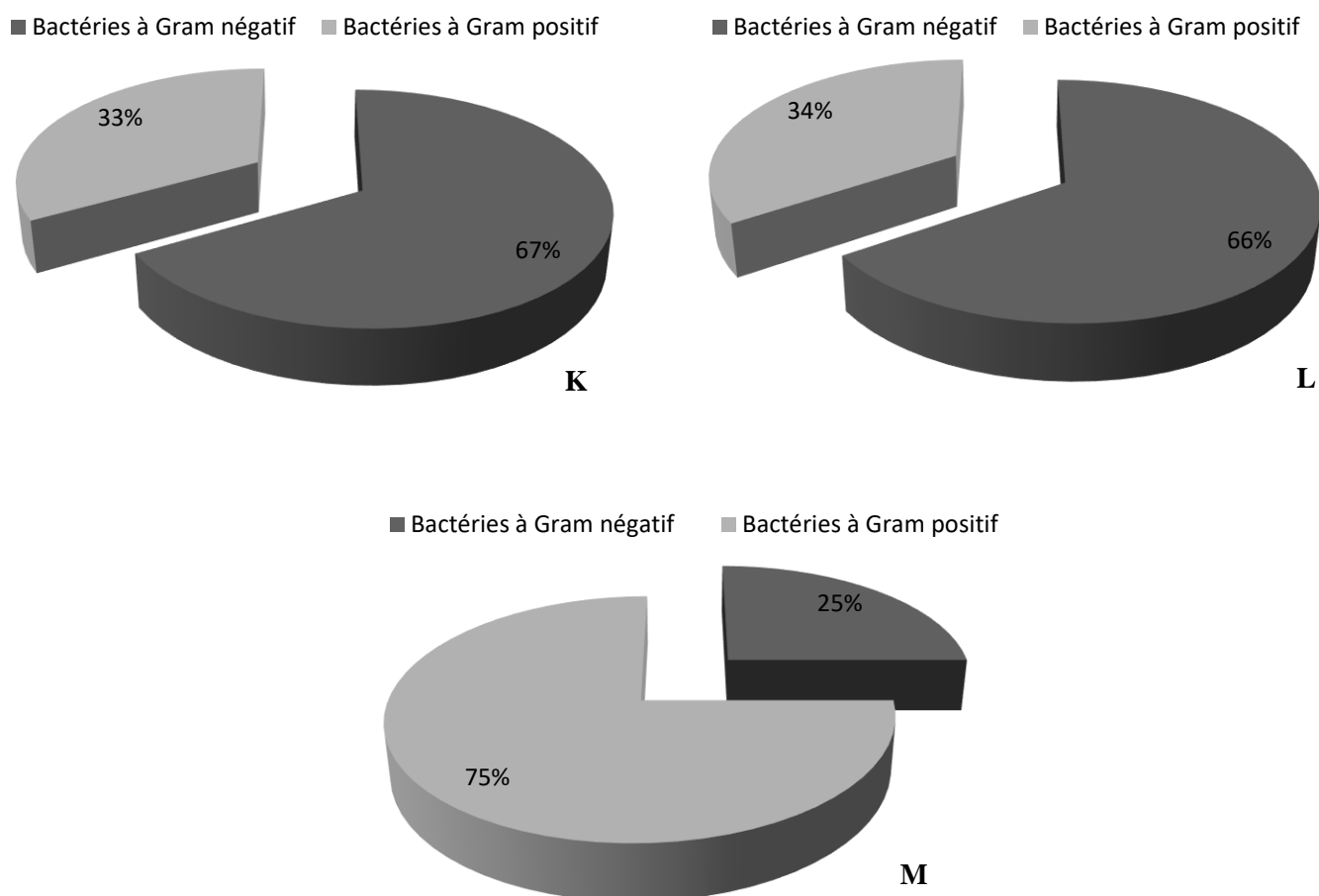


Figure 42. Coloration de Gram des bactéries du compostage du (CFG), pendant la phase initiale (K), durant la phase thermophile (L), et à la phase finale (M).

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 21), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 22. Caractéristiques microscopique et macroscopique des isolats purifiés du Compost 4 (CFG)

Isolats	Coloration	Association	Forme	Taille	Relief	Couleur	Surface	Contour	Opacité	Brillance
VMFE31	+	Amas	Cocci	M	Omb	Blanc	Rig	Echan	Opq	P
VMFE31	+	Amas	Cocci	Pe	Bom	Orange	Lisse	Net	Opq	P
VMFE33	+	Isolé	Cocci	M	Plate	Blanc	Rig	Dentelé	Opq	P
VMFE33	-	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	P
VMIE31	+	Amas	Cocci	G	Omb	Blanc	Lisse	Lob	Opq	A
VMIEcoli51	-	Isolé	Cocci	Pe	Bom	Crème	Lisse	Net	Trap	P
VMILSAL51	-	Amas	Cocci	M	Bom	Orang	Lisse	Lobulée	Opq	P
VMILSTP71	-	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Bom	Blanc	Rig	Net	Trap	P
VMISal33	-	Isolé	Cocci	M	Plate	Blanc	Rig	Lob	Opq	P
VMISTP51	+	Isolé	Bâtonnet	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	P
VMTE11	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Orange	Lisse	Net	Trap	P
VMTE11	+	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Muq	Echan	Trap	P
VMTE31	-	Amas	Cocci	M	Omb	Blanc	Cérébr	Dentelé	Opq	P
VMTE34	+	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Plate	Blanc	Rig	Lobulée	Trap	P
VMTEcoli11	-	Amas	Cocci	G	Duv	Blanc	Rig	Lob	Trap	P
VMTLEcoli54	-	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Trap	P
VMTLSAL55	-	Chaînette	Cocci	M	Omb	Jaune	Lisse	asym	Opq	P
VMTLSAL58	-	Amas	Cocci	Pe	Bom	Orange	Lisse	Net	Opq	P
VMTLSAL71	-	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	P

VMTLSTP11	+	Chaînette	Cocci	M	Omb	Blanc	Rig	Lob	Opq	P
VMTSAL11	-	Isolé	Bâtonnet	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	P
VMTSAL11	+	Amas	Cocci	G	Omb	Blanc	Rig	Lob	Trap	P
VMTSAL11	-	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Orange	Lisse	Net	Trap	P
VMTSAL12	+	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Trap	p
VMTSAL12	-	Isolé	Cocci	G	Omb	Jaune	Rig	Dentelé	Opq	p
VMTSAL13	-	Isolé	Bâtonnet	M	Omb	Blanc	Rig	Lob	Trap	P
VMTSAL13	+	Amas	Cocci	M	Omb	Blanc	Lisse	Net	Trap	P
VMTSAL14	-	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisee	Net	Trap	P
VMTSAL33	-	Amas	Bâtonnet	M	Plate	Orange	Cérébr	Asym	Opq	p
VMTSAL34	-	Isolé	Cocci	G	Omb	Blanc	Lisse	Dentelé	Trap	P
VMTSa135	+	Chaînette	Cocci	M	Bom	Blanc	Rig	Lobulée	Opq	A
VMTSTP31	+	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Jaune	Muq	Echan	Opq	P
VMTSTP32	+	Chaînette	Bâtonnet	M	Duv	Jaune	Lisse	Net	Trap	P
VMTSTP33	-	Amas	Cocci	Pe	Bom	Blanc	Rig	Lobulée	Opq	P
VMTSTP34	+	Amas	Cocci	M	Bom	Blanc	Rig	Dentelé	Opq	P
VMTSTP34	-	Isolé	Cocci	G	Plate	Jaune	Muq	Net	Opq	P
VMTSTP37	+	Amas	Cocci	M	Bom	Blanc	Lisse	Lobulée	Trap	P
VMTSTP51	+	Amas	Cocci	Pe	Bom	Blanc	Rig	Echan	Opq	P
VMTSTP52	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	A

Pe : Petite, M : Moyenne, G : Grande, Omb : Ombiliquée, Bom : Bombée, Pla : Plate, Duv : Duveteux, P : Présence, A : Absence, Trap : Transparent, Opq : Opaque, Rig : Rigoureuses, Blanc : Blanche, Asym : Asymétrique, Echan : Echanquée, Dent : Dentelée, Fil : Filamenteux

III.4.5. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 5

D'après nos résultats du compost 5 (CFO) (Tableau 20, Figure 43), nous avons remarqué que le pourcentage des bactéries à Gram négatif est de 75% et 25% à Gram positif au début du

processus de compostage. Alors que, nous avons pu isoler des bactéries durant la phase thermophile avec 55.55% des bactéries à Gram négatif et 44.44% des bactéries à Gram positif. Alors qu'à la fin du processus du compostage (la phase de maturation) nous avons remarqué que le pourcentage des bactéries à Gram positif est de 66.66%, al., ors qu'il est de à 33.33% pour les Gram négatif.

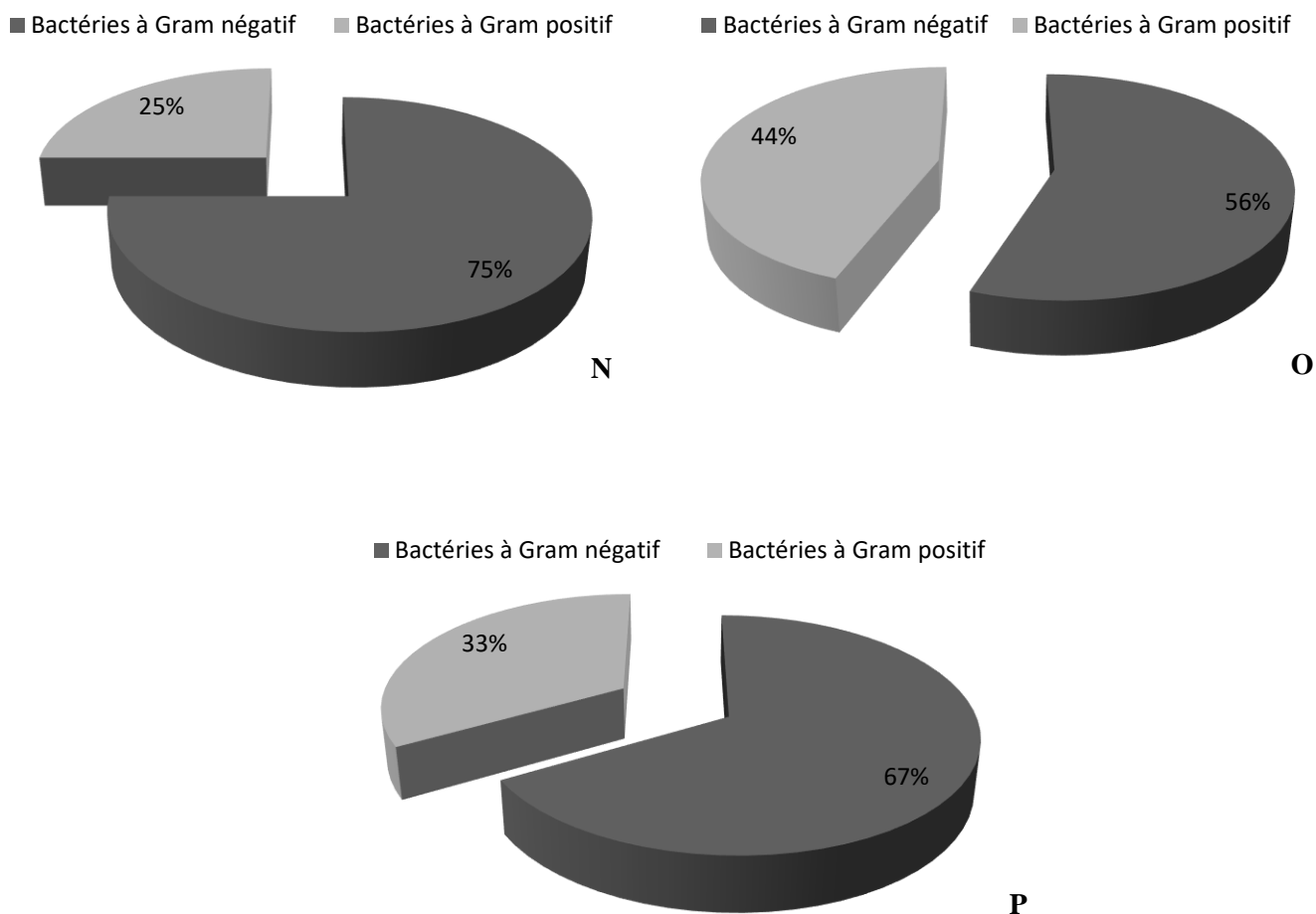


Figure 43. Coloration de Gram des bactéries du compostage du (CFO), pendant la phase initiale (N), durant la phase thermophile (O), et à la phase finale (P).

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 20), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 23. Caractéristiques microscopique et macroscopique des isolats purifiés du Compost 5 (CFO)

isolats	Coloration	Association	Forme	Taille	Relief	Couleur	Surface	Contour	Opacité	Brillance
GTE14	+	Chaînette	Cocci	G	Bom	Blccass	Lisse	asym	Opq	P
GTE15	-	Amas	Bâtonnet	M	Plate	Blanc	Lisse	Net	Trap	P
GTE51	-	Chaînette	Cocci	M	Bom	Crème	Cérébr	Dentelé	Opq	P
GTE52	+	Chaînette	Cocci	G	Bom	Jaune	Muq	Asym	Trap	P
GTE53	-	Amas	Cocci	Pe	Plate	Blanc	Lisse	Echan	Opq	p
GTE54	-	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Crème	Rig	Net	Trap	P
GTE55	-	Chaînette	Bâtonnet	G	Bom	Orang	Lisse	Lobulée	Opq	P
GTE56	+	Amas	Bâtonnet	G	Bom	Blanc	Rig	Net	Trap	A
GTE57	+	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Omb	Jaune	Rig	Lob	Opq	P
GTE58	-	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Crème	Lisse	Net	Opq	A
GTE59	+	Amas	Cocci	M	Duv	Orange	Lisse	Net	Trap	P
GTE60	+	Isolé	Cocci	G	Bom	Blanc	Muq	Echan	Trap	P
GTE61	-	Chaînette	Cocci	M	Omb	Blanc	Cérébr	Dentelé	Opq	P
GTE62	-	Amas	Cocci	M	Omb	Crème	Rig	Lobulée	Trap	P
GTE63	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Blanc	Rig	Lob	Trap	P
GTE65	-	Amas	Bâtonnet	G	Bom	Blanc	Lisse	Net	Trap	P
GTE66	+	Amas	Cocci	Pe	Plate	Jaune	Lisse	asym	Opq	P
GTE14	+	Amas	Cocci	M	Bom	Crème	Lisse	Net	Opq	P
GFL SA 51	+	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Jaune	Lisse	Dentelé	Trap	P
GFL SA 52	-	Chaînette	Cocci	M	Omb	Crème	Rig	Lob	Opq	P
GFLE 71	+	Amas	Cocci	Pe	Duv	Jaune	Lisse	Net	Opq	P

GFLE 72	+	Amas	Bâtonnet	G	Omb	Blanc	Lisse	Dentelé	Trap	P
GFLSA 53	+	Chaînette	Bâtonnet	M	Omb	Crème	Lisse	Net	Trap	P
GFLSA 54	+	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Jaune	Lisse	Net	Trap	p
GFSTPL 32	+	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Jaune	Rig	Dentelé	Opq	p
GFSTPL 33	-	Amas	Bâtonnet	G	Plate	Blanc	Rig	Lobulée	Trap	P
GIE12	+	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Bom	Crème	Lisse	Net	Trap	P
GIE 23	-	Amas	Bâtonnet	Pe	Bom	Jaune	Lisee	Lobulée	Trap	P
GIE25	-	Amas	Cocci	M	Plate	Orange	Lisse	Asym	Opq	p
GIE34	-	Amas	Cocci	Pe	Bom	Crème	Rig	Lobulée	Trap	P

Pe : Petite, M : Moyenne, G : Grande, Omb : Ombiliquée, Bom : Bombée, Pla : Plate, Duv : Duveteux, P : Présence, A : Absence, Trap : Transparent, Opq : Opaque, Rig : Rigoureuses, Blanc : Blanche, Asym : Asymétrique, Echanc : Echancrée, Dent : Dentelée, Fil : Filamenteux

III.4.6. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 6

Le compost 6 (Tableau 21, Figure 44), a démontré un pourcentage de 50% des bactéries à Gram négatif et 50% des bactéries à Gram positif pour la phase initiale, Durant la phase thermophile le pourcentage des bactéries à Gram négatif est de 58.33% et 41.66% pour celle à Gram positif. Alors qu'à la fin du processus du compostage (la phase de maturation) nous avons remarqué que le pourcentage des bactéries à Gram positif passe à 60.6% et celui des isolats à Gram négatif passe à 39.4%.

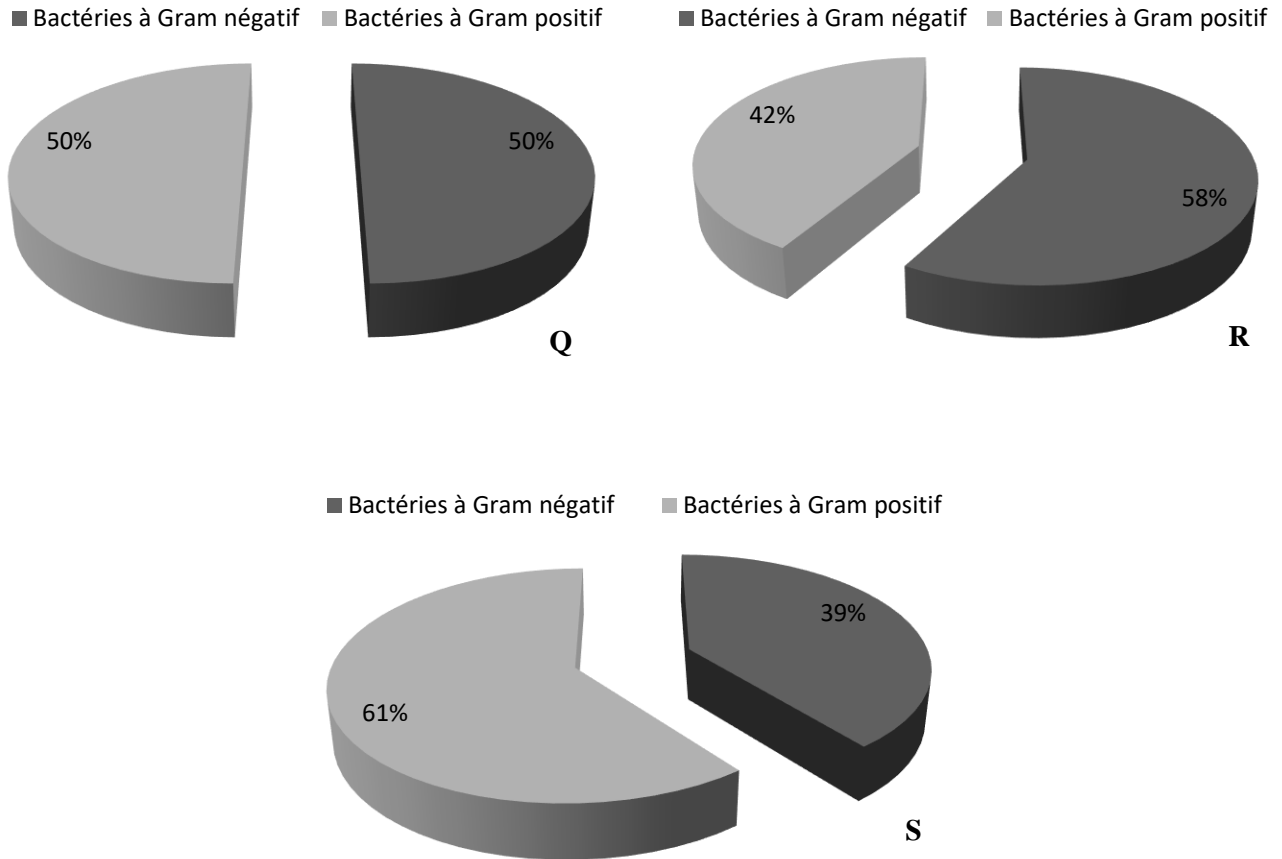


Figure 44. Coloration de Gram des bactéries du compostage du (CFO), pendant la phase initiale (Q), durant la phase thermophile (R), et à la phase finale (S).

D'après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 21), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d'association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 24. Caractéristiques microscopique et macroscopique des isolats purifiés du Compost 6 (CGW)

Isolats	Coloration	Association	Forme	Taille	Relief	Couleur	Surface	Contour	Opacité	Brillance
VFE11	+	Amas	Cocci	M	Bom	Crème	Lisse	Net	Opq	P
VFE12	-	Amas	Cocci	M	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Opq	P
VFE13	-	Amas	Cocci	M	Omb	Blanc	Rig	Dentelé	Opq	P

VFE34	+	Amas	Cocci	Pe	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	P
VFE51	-	Isolé	Bâtonnet	G	Plate	Blanc	Lisse	Lob	Opq	A
VFE52	+	Amas	Cocci	M	Bom	crème	Cérébr	Net	Trap	P
VFE53	+	Amas	Cocci	M	Bom	Blccass	Lisse	Lobulée	Opq	P
VFE54	+	Isolé	Bâtonnet	Pe	Bom	Blanc	Lisse	Net	Trap	P
VFE55	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Plate	Blanc	Cérébr	Lob	Opq	P
VFE56	+	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	P
VFE57	-	Amas	Cocci	M	Bom	Blccass	Lisse	Asym	Trap	P
VFE58	+	Chaînette	Bâtonnet	G	Bom	Jaune	Muq	Echan	Trap	P
VFE59	-	Amas	Cocci	M	Omb	Crème	Cérébr	Dentelé	Opq	P
VFE60	+	Amas	Cocci	Pe	Plate	Blccass	Lisse	Lobulée	Trap	P
VFE71	+	Chaînette	Cocci	G	Omb	Crème	Rig	Lob	Trap	P
VFE72	-	Amas	Cocci	G	Bom	Crème	Lisse	Net	Trap	P
VFE73	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Plate	Jaune	Rig	asym	Opq	P
VFE74	+	Chaînette	Cocci	Pe	Bom	Orange	Lisse	Net	Opq	P
VFE75	+	Isolé	Bâtonnet	Pe	Bom	Jaune	Lisse	Asym	Trap	P
VFE79	+	Amas	Cocci	M	Plate	Blanc	Rig	Asym	Opq	P
VFE80	+	Amas	Bâtonnet	G	Bom	crème	Lisse	Net	Opq	P
VFE81	+	Amas	Cocci	G	Omb	Blanc	Lisse	Net	Trap	P
VFE82	-	Isolé	Cocci	M	Bom	Orange	Lisse	Net	Trap	P
VFE83	-	Isolé	Bâtonnet	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Trap	p
VFE84	+	Amas	Cocci	G	Plate	Jaune	Rig	Dentelé	Opq	p
VFSAL11	+	Amas	Bâtonnet	M	Plate	Blanc	Rig	Asym	Trap	P
VFSAL31	-	Isolé	Cocci	M	Omb	Blanc	Lisse	Net	Trap	P
VFSAL32	+	Amas	Cocci	G	Duv	Jaune	Lisee	Net	Trap	P
VFSAL33	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Orange	Cérébr	Asym	Opq	p

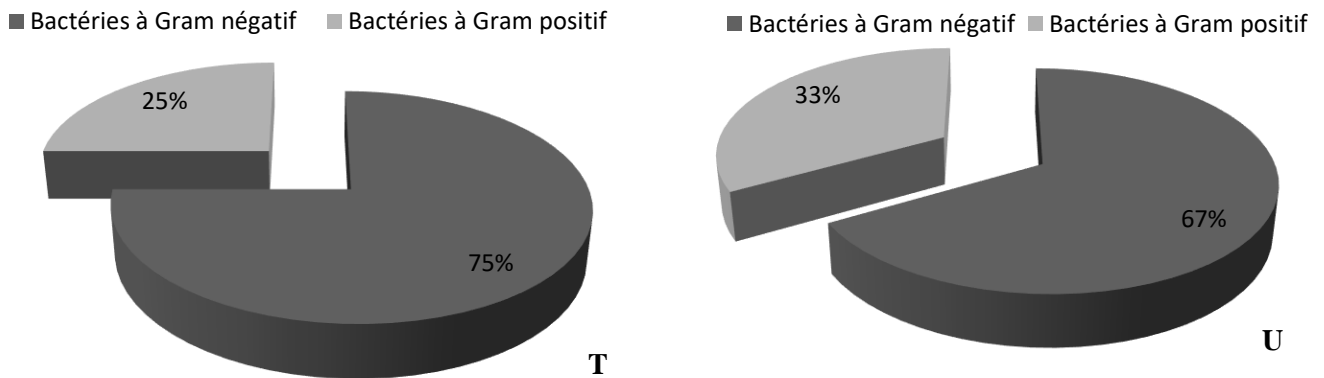
VFSTP11	+	Chaînette	Cocci	G	Omb	Blanc	Lisse	Dentelé	Trap	P
VFSTP12	-	Isolé	Bâtonnet	M	Bom	Blanc	Rig	Lobulée	Opq	A
VFSTP13	+	Amas	Cocci	M	Bom	Jaune	Muq	Echan	Opq	P
VFSTP14	+	Amas	Cocci	M	Omb	Blccass	Lisse	Net	Trap	P
VIE12	+	Amas	Cocci	Pe	Bom	Blanc	Rig	Lobulée	Opq	P
VIEcoli31	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Blanc	Rig	Dentelé	Opq	P
VISAL52	+	Amas	Cocci	G	Omb	Blccass	Muq	Net	Opq	P
VISAL52	-	Isolé	Cocci	M	Bom	Blanc	Lisse	Lobulée	Trap	P
VTE51	-	Isolé	Bâtonnet	Pe	Bom	Blanc	Rig	Echan	Opq	P
VTE52	+	Amas	Cocci	M	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	A
VTE53	+	Amas	Cocci	G	Plate	Jaune	Lisse	Echan	Trap	P
VTE54	-	Amas	Cocci	Pe	Bom	Blccass	Rig	Net	Opq	P
VTEcoli51	-	Amas	Bâtonnet	M	Bom	Blanc	Muq	Lobulée	Opq	P
VTEcoli52	+	Amas	Cocci	M	Bom	Orange	Lisse	Net	Opq	P
VTEcoli53	+	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Blanc	Lisse	Net	Opq	P
VTEcoli54	+	Chaînette	Bâtonnet	G	Bom	Crème	Rig	Echan	Opq	P
VTLE64	-	Amas	Cocci	M	Omb	Blccass	Lisse	Net	Opq	P
VTLE64	-	Amas	Cocci	Pe	Bom	Jaune	Rig	Net	Opq	P
VTLE65	-	Isolé	Cocci	Pe	Bom	Blccass	Muq	Lobulée	Opq	P
VTLE66	+	Amas	Cocci	M	Bom	Orange	Lisse	Net	Opq	P
VTLE11	-	Amas	Cocci	M	Omb	Blanc	Lisse	Echan	Trap	P
VTLE11	-	Chaînette	Bâtonnet	G	Bom	Blccass	Lisse	Net	Opq	P
VTLEcoli12	-	Isolé	Cocci	M	Bom	Jaune	Rig	Lobulée	Opq	P
VTLEcoli31	+	Chaînette	Cocci	M	Plate	Crème	Lisse	Net	Opq	P
VTLEcoli51	+	Chaînette	Bâtonnet	Pe	Duv	Blanc	Lisse	Net	Opq	P
VTLEcoli67	+	Chaînette	Cocci	M	Bom	Jaune	Rig	Echan	Trap	P

VTLSAL31	-	Amas	Cocci	G	Bom	Blccass	Rig	Net	Opq	P
VTLSAL33	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Omb	Crème	Rig	Net	Opq	P
VTLSal34	-	Chaînette	Cocci	M	Bom	Blccass	Lisse	Echan	Trap	P
VTLSAL34	-	Isolé	Bâtonnet	G	Bom	Jaune	Lisse	Net	Opq	A
VTSAL13	+	Amas	Cocci	M	Plate	Jaune	Lisse	Net	Opq	P
VTSAL14	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	crème	Lisse	Echan	Opq	P

Pe : Petite, M : Moyenne, G : Grande, Omb : Ombrée, Bom : Bombée, Pla : Plate, Duv : Duveteux, P : Présence, A : Absence, Trap : Transparent, Opq : Opaque, Rig : Rigoureuses, Blanc : Blanche, Asym : Asymétrique, Echan : Echanquée, Dent : Dentelée, Fil : Filamenteux

III.4.7. Caractérisation microscopique et macroscopique du compost 7

On ce qui concerne le compost 7 (CFW) (Tableau 22, Figure 45), nous avons constaté que le pourcentage des bactéries à Gram négatif est 75% par rapport à 25% pour les Gram positif pendant la phase initiale. Durant la phase thermophile le pourcentage des bactéries à Gram négatif est 66.9% et 33.33% pour celle à Gram positif. Alors que pendant la phase de maturation nous avons trouvé que les bactéries à Gram positif est 66.66% est celle des bactéries à Gram négatif 33.33%.



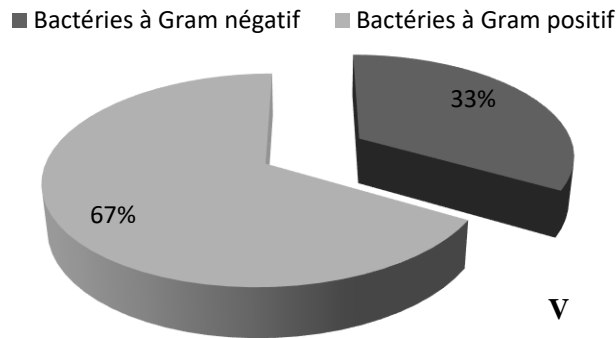


Figure 45. Coloration de Gram des bactéries du compostage du (CFW), pendant la phase initiale (T), durant la phase thermophile (V), et à la phase finale (U).

D’après les résultats microscopiques et macroscopique (Tableau 25), nous avons remarqué une grande diversité bactérienne avec une différence d’association, forme, taille, relief, couleur, surface, contour, opacité et brillance.

Tableau 26. Caractéristiques microscopique et macroscopique des isolats purifiés du Compost 7 (CFW)

isolats	Coloration	Association	Forme	Taille	Relief	Couleur	Surface	Contour	Opacité	Brillance
MFSAL12	+	Chaînette	Cocci	G	Bom	Blanc	Lisse	asym	Opq	P
MFSTP31	+	Amas	Bâtonnet	M	Omb	Blanc	Lisse	Net	Opq	P
MFSTP36	-	Chaînette	Cocci	M	Bom	Crème	Cérébr	Asym	Opq	P
MTLE51	+	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Muq	Dentelé	Trap	P
MTLEcoli11	-	Isolé	Bâtonnet	Pe	Plate	Blanc	Rig	Echan	Opq	p
MTLEcoli12	-	Amas	Cocci	M	Bom	Crème	Rig	Echan	Trap	P
MTLSAL11	+	Amas	Cocci	G	Bom	Jaune	Lisse	Lobulée	Opq	P
MTLSTP51	-	Isolé	Bâtonnet	G	Bom	Blanc	Rig	Net	Opq	A
MTSTP32	-	Isolé	Cocci	Pe	Omb	Jaune	Rig	Net	Opq	P
MTSTP34	+	Isolé	Bâtonnet	M	Duv	Crème	Rig	Net	Opq	A
MTSTP35	-	Chaînette	Bâtonnet	M	Bom	Orange	Lisse	Net	Opq	P

MTTLE51	-	Amas	Cocci	G	Bom	Blanc	Lisse	Echan	Trap	P
MISAL16	-	Chaînette	Cocci	M	Omb	Blanc	Muq	Dentelé	Opq	P
MISTP25	+	Amas	Bâtonnet	M	Plate	Crème	Rig	Net	Trap	P
MISAL11	-	Chaînette	Cocci	Pe	Bom	Jaune	Rig	Lobulée	Opq	P
MILE32	-	Amas	Cocci	G	Omb	Blanc	Lisse	Net	Opq	P

Pe : Petite, M : Moyenne, G : Grande, Omb : Ombiliquée, Bom : Bombée, Pla : Plate, Duv : Duveteux, P : Présence, A : Absence, Trap : Transparent, Opq : Opaque, Rig : Rigoureuses, Blanc : Blanche, Asym : Asymétrique, Echan : Echancée, Dent : Dentelée, Fil : Filamenteux

Dans les composts, au total, on constate que les teneurs des bactéries gram- sont prédominantes au début du compostage. Selon l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie Française ADEME, les concentrations de bactéries Gram-négatives étaient significativement plus abondantes dans le site de compostage et le tri des déchets. Les espèces de bactéries identifiées par l'ADEME au phases initiales du compostage des biodéchets ou des ordures ménagères sont de nombreux types différents de bactéries Gram-négatives. Ce sont principalement des entérobactéries (Rheinthal, 1997) et en particulier le genre *Enterobacter*.

Une liste indicative des entérobactéries les plus souvent citées par les auteurs (Lacey, 1991 ; Clark, 1983 ; Rheinthal, 1997 ; Delaunay, 1997) est présentée ci-dessous :

- *Enterobacter cloacae* et *E. agglomerans* ;
- *Klebsiella oxytoca* ;
- *Proteus mirabilis* ;
- *Xanthomonas maltophilia* ;
- *Serratia rubidea* .

Ils ont aussi signalé la présence de *Pseudomonas fluorescens* et *aeruginosa* qui représentent 22% des bactéries Gram-négatives dans une aire de compostage frais.

Les concentrations en bactéries Gram négatives peuvent atteindre 10^4 UFC/m³ dans les sites de compostage. Selon les auteurs, pour les systèmes ouverts, les concentrations sont les plus élevées, sont :

- Dans la zone de retournement pour un compostage de feuilles (Van der Werf, 1996)
- Au cours du démantèlement des andains (Lacey, 1991, 1992).
- Dans les zones de réception des déchets (Lavoie, 1997)

Malgré, qu'au début du compostage, les champignons et quelques Gram-négatif (*Pseudomonas*, *Serratia*, *Xanthomonas* et *Klebsiella*) sont moins abondants (Steger, 2003).

Après tout au long du compostage, on constate une tendance générale de diminution des teneurs des gram- et une augmentation importante des teneurs des gram+, malgré des profils différents en fonction du compost en question. En effet, les Gram-négatif sont thermotolérants et les Gram-positif sont strictement des thermophiles (Rhee, 2000). Les mêmes constatations ont été rapportées dans des travaux précédentes en suivant les profils des phospholipides et en considérant l'augmentation du Gram + et la diminution du gram- comme indice de maturité du compost (Amir *et al.*, 2008 ; Amir *et al.*, 2010).

Dans les composts matures les concentrations en bactéries Gram-négatives sont généralement proches du niveau de sécurité proposé par certains c'est-à-dire 10^3 UFC/m³ (Lacey, 1992). Cet auteur déclare que les variétés de germes le plus souvent retrouvées appartiennent à la famille des entérobactéries. On ne retrouve pas de bactéries entéropathogènes ou indicatrices de contamination fécale comme *E. coli*, les salmonelles ou les shigelles.

Conclusion

L'agriculture au Maroc est considérée comme étant un secteur économique important du pays, ainsi que le compostage joue un grand rôle pour le développement de l'agriculture, actuellement il est considéré comme une des composantes du développement durable.

L'introduction du compost mur dans le sol est une solution permettant le maintien de la matière organique dans le sol. Le compost est en effet un produit riche en matières organiques et en composés minéraux, capables d'améliorer la fertilité du sol. Il est défini, comme étant une option d'auto-stérilisation en termes de désinfection et d'inactivation des agents pathogènes.

Ainsi dans le présent travail, nous avons pu isoler et purifier 178 isolats des 7 composts, qui ont des effets antibactériens très significatifs vis-à-vis des souches pathogènes étudiées. La grande variabilité des résultats des caractères microscopiques et des caractères macroscopiques d'une bactérie à l'autre et d'un compost à l'autre ce qui rend difficile la comparaison et l'interprétation des résultats. Cependant, on note une tendance générale de diminution des bactéries gram- et une augmentation des teneurs de ceux Gram+, témoignant de la bonne

conduite du processus du compostage. En fait, on peut utiliser le rapport gram+ sur gram- comme indic de maturité du compost.

Cependant, prenant l'exemple de l'isolat CFSP1L1, c'est une bactérie gram- et correspond au *Pseudomonas aeruginosa* qu' a résisté tout au long du compostage. Les résultats antérieurs de dénombrements des microorganismes caractéristiques des composts issus de différents déchets organiques montrent une nette augmentation du nombre de *Pseudomonas aeruginosa*, surtout lors de la phase de maturation du compost. Il s'est avéré que cette augmentation est strictement liée à son pouvoir métabolique de production des substances à effet supprimeur contre les agents pathogènes présents dans les composts. Dans l'objectif de l'exploitation et de la compréhension de son pouvoir antibiotiques contre les agents pathogènes, nous avons consacré le chapitre 4, à la mise en évidence de l'efficacité de *Pseudomonas aeruginosa* comme étant un agent de lutte biologique contre les agents phytopathogènes.

Chapitre IV

Effet antimicrobien de *Pseudomonas aeruginosa* isolée à partir du compost issu des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés et caractérisation de ses principes actifs

Antimicrobial effect of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from compost of green waste mixed with phosphate residues and characterization of its active ingredients

Abstract

In Morocco, the agricultural sector is one of the main pillars of the national economy. However, it is exposed to several anthropogenic and / or natural constraints and in particular those caused by pathogens, thus leading to great economic losses. To cope with this, farmers and to have a good harvest, prefer to use conventional methods based on the use of pesticides. However, this technique presents a real danger both for the environment and for human health.

Faced this situation, the search for other non-harmful alternatives capable of eliminating phytopathogens has become a necessity, including biological control through the use of microorganisms, considered to be a very interesting source of active ingredients with antimicrobial effect.

Thus, the objective of this work is to isolate microorganisms with an antimicrobial effect from the compost obtained from the composting of green waste mixed with phosphate residues and straws. In this sense, a very promising bacterium has been isolated and then identified on the basis of PCR and 16S rRNA gene sequencing. It is *Pseudomonas aeruginosa*. It has been shown to have an antibacterial effect against *Salmonella spp*; *Streptococcus spp* and *E. coli* and antifungal activity against *Fusarium oxysporum f. sp. al., bedinis* and *Aspergillus niger*. The antimicrobial activity was not abolished after heat and enzymatic treatments thus showing that *P. aeruginosa* acts by active ingredients of a non-protein, non-lipid and non-sachharidic nature. In vivo, the treatment of apples with a suspension of the antagonist (10^8 CFU / ml) for 24 h and then inoculated with a suspension of *Aspergillus niger* (10^7 CFU / ml) shows that *Pseudomonas aeruginosa* completely inhibits the phytopathogenic effect. In contrast apples treated by only *Aspergillus niger* (10^7 CFU / ml) lead to damage of fruits. As well as, the treatment of mandarin by suspension of the antagonist *Pseudomonas aeruginosa* (10^8 CFU / ml) and then inoculated with a suspension of *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* shows that *Pseudomonas aeruginosa* completely inhibits the phytopathogenic effect. While, mandarin treated by only *Fusarium oxysporum f. sp. al., bedinis* lead to damage of fruit.

Keywords: Compost; biological control; phytopathogens; antimicrobial activity; *Pseudomonas aeruginosa*; phosphate residues.

Résumé

Au Maroc, le secteur d'agriculture est l'un des principaux piliers de l'économie nationale. Cependant, il est exposé à plusieurs contraintes anthropiques et /ou naturelles et notamment celles causées par les agents pathogènes menant ainsi à des grandes pertes économiques. Pour en faire face, les agriculteurs et pour avoir une bonne récolte, préfèrent utiliser des méthodes classiques basées sur l'utilisation des pesticides. Or cette technique présente un vrai danger aussi bien pour l'environnement que pour la santé humaine.

Devant cette situation, la recherche d'autres alternatives non nuisibles et capables d'éliminer les phytopathogènes est devenue une nécessité parmi lesquelles figurent la lutte biologique par l'usage des microorganismes, considérés comme une source très intéressante des principes actifs à effet antimicrobien.

Ainsi l'objectif du présent travail est d'isoler des microorganismes à effet antimicrobien à partir du compost issu du compostage des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés et des pailles. Dans ce sens, une bactérie très prometteuse a été isolée puis identifiée à la base de la PCR et du séquençage de gène *ARNr 16S*. Il s'agit de *Pseudomonas aeruginosa*. Il a été démontré qu'elle possède un effet antibactérien contre *Salmonella* sp; *Streptococcus* spp et *E. coli* et une activité antifongique vis-à-vis *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Aspergillus niger*. L'activité antimicrobienne n'a pas été abolie après traitements thermique et enzymatique montrant ainsi que *P. aeruginosa* agit par des principes actifs de nature non protéique, non lipidique et non saccharidique. *In vivo*, le traitement des pommes lésées par une suspension de l'antagoniste (10^8 UFC/ml) pendant 24 h puis inoculées par une suspension d'*Aspergillus niger* (10^7 UFC/ml) montre que *Pseudomonas aeruginosa* inhibe complètement l'effet phytopathogène. De plus, le traitement de la mandarine par suspension de l'antagoniste *Pseudomonas aeruginosa* (10^8 CFU / ml puis inoculé avec une suspension de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* montre que *Pseudomonas aeruginosa* inhibe complètement l'effet phytopathogène. Alors que la mandarine traitée uniquement par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* endommage les fruits.

Mots clés : Compost ; control biologique ; phytopathogènes ; activité antimicrobienne ; *Pseudomonas aeruginosa* ; résidus phosphatés.

I.Introduction

L'agriculture joue un rôle socioéconomique très important dans différents pays. Au Maroc, par exemple, elle contribue à hauteur de 14 à 15% du produit intérieur brut national. Cependant, ce secteur est confronté aux plusieurs problématiques telles que l'attaque des cultures par les phytopathogènes menant ainsi à des pertes économiques très lourdes (Zahir *et al.*, 2018a). Parmi ces agents figure *Fusarium* qui provoque la fusariose, une maladie touchant les céréales (le blé, l'orge et d'autres céréales à petits grains) (Nitschke *et al.*, 2009). Des espèces appartenant à ce genre attaquent également des légumes et d'autres plantes. Prenons par exemple, le cas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* dévastant le concombre (Islam *et al.*, 2018) et *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* qui causant la fusariose vasculaire communément appelée « bayoud ». Celle-ci est la maladie fongique la plus destructive du palmier dattier (El Hassni *et al.*, 2007). Un autre exemple à citer est celui d'*Apergillus niger* responsable de l'apparition de la moisissure noire de plusieurs substances organiques incluant les fruits, les légumes, les céréales, les graines, les épices, l'herbe et le bois. En outre, cette espèce fongique est capable de produire des mycotoxines qui présentent plusieurs effets néfastes sur le foie, les reins, le système nerveux, les muscles, le tractus digestif, les organes respiratoires et génitaux (Gautam *et al.*, 2011).

En plus des champignons, certaines bactéries peuvent également infecter les plantes. Mentionnons les cas d'*Erwinia amylovora* qui cause le feu bactérien (Zahir *et al.*, 2018a), *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* provoquant la tuberculose de l'olivier (Barguigua *et al.*, 2020) et *Salmonella* qui infecte *Arabidopsis* en se multipliant dans le tissu végétal et menant ainsi à divers symptômes tels que le flétrissement et le jaunissement des feuilles (Seo et Matthews, 2012).

Actuellement, le control de ces phytopathogènes se base sur l'utilisation des pesticides. Néanmoins, ce traitement chimique présente un effet toxique sur la santé humaine ainsi qu'il provoque des dégâts environnementaux parfois irréversibles, à savoir la contamination de l'eau de surface ou souterraine, l'appauvrissement des sols et la réduction de la biodiversité. Devant cette situation, les agriculteurs doivent adopter d'autres alternatives sans conséquences environnementale ou sanitaire. Dans ce sens, de nombreuses bactéries issues des composts de différents déchets organiques sont utilisées en agriculture comme agents de lutte biologique. Ces biopesticides pouvant ainsi remplacer les produits chimiques nocifs en améliorant la santé des plantes et en limitant la croissance saprophyte des microorganismes phytopathogènes. Effectivement, les investigations sur le bio-control par utilisation des micro-organismes

connaissent un essor remarquable. Elles reposent sur les mécanismes d'antagonisme microbien qui interviennent dans la protection des plantes contre leurs ennemis (Emmert et Handelsman, 1999).

Parmi ces microorganismes figure *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) une bactérie à Gram négatif capable de coloniser de nombreuses niches écologiques dont le sol, les composts, les plantes et les surfaces aquatiques (Magin, 2019). La prolifération de la population du *P. aeruginosa* renseigne sur le bon déroulement du compostage et la métabolisation de la matière organique des déchets surtout à la phase finale du compostage (Amir *et al.*, 2008 ; Barje *et al.*, 2012). En fait, *P. aeruginosa* est considéré comme thermo tolérant au cours du compostage (Lemanceau *et al.*, 2009) et sa prolifération à la phase finale du compostage est signalée par plusieurs auteurs (Dieng *et al.*, 2019).

Par ailleurs, *P. aeruginosa* sécrète divers métabolites dont la pyocyanine, un pigment bleu-vert. Son effet antimicrobien contre les microorganismes pathogènes a été démontré (Barakat.2012). En outre, les *Pseudomonas*, en général, produisent de nombreux métabolites antifongiques tels que les phénazines, la pyolutéorine et le DAPG (2,4-diacetylphloroglucinol) qui sont les antifongiques les plus fréquemment détectés (Haas et Défago, 2005 ; Weller *et al.*, 2002, 2007). Ces bactéries sont également capables de synthétiser des sidérophores appelés pyoverdines ou pseudobactines. Ces molécules sont impliquées dans l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes (Lemanceau *et al.*, 2009) et contribuent à l'acquisition du fer par les végétaux (Vansuyt *et al.*, 2003).

C'est dans ce contexte que s'inscrit la thématique de ce présent travail qui consiste à isoler des bactéries sécrétrices des composés à effet antibactérien et antifongique à partir d'un compost des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés. Par conséquent, les objectifs de cette étude incluent : (a) l'isolement des bactéries productrices des métabolites bioactives à partir de divers stades du compost (b) l'évaluation de l'activité antimicrobienne des isolats, (c) leur identification sur la base de la coloration de Gram et les méthodes moléculaires, (d) la caractérisation partielle des substances sécrétées, et (e) le test *in vivo* de l'effet antagoniste de l'isolat le plus performant contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Aspergillus niger*.

II. Matériel et méthodes

II.1. Souches utilisées et milieux de culture

Escherichia coli CCMM/B4, *Streptococcus* sp. CCMM/B24 et *Salmonella* sp. CCMMB17 et *Aspergillus niger* CCMM-M100, ont été aimablement fournies par la professeure affiliée Hanane Hamdali au Laboratoire de biotechnologie microbienne de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal, Maroc.

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* A27 a été fourni par le Laboratoire de Biotechnologie et Prestations de Services (LBPS) – Meknès.

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* et *Aspergillus niger* CCMM-M100 ont été cultivés respectivement dans la gélose glucosée à l'extrait du Pomme de Terre (PDA). Les boîtes ont été mises à l'étuve à 28°C pendant sept jours, puis elles ont été conservées à 4°C.

Les milieux de culture utilisés sont adéquats pour le développement des souches bactériennes cibles, et pour la majorité des microorganismes isolés de compost (microorganismes à croissance rapide et lente). Le milieu Luria-Bertani (LB) est utilisé pour les cultures en suspension, des bactéries pathogènes, et pour l'inoculation des isolats d'intérêts afin de produire des substances bioactives. Ces bactéries ont été entretenues dans le milieu Luria-Bertani Liquide LBL (10 g de peptone, 5 g d'extrait de levure, 10 g de NaCl par un litre d'eau distillée), et le Milieu Luria Bertoni solide LBS (10 g de peptone, 5 g d'extrait de levure, 10 g de NaCl et 15 g d'agar par un litre d'eau distillée).

Durant toute la période de ce travail, les bactéries ont étéensemencées chaque semaine sur des milieux solides puis elles ont été conservées à 4°C.

II.2. Effet antimicrobien contre les microorganismes pathogènes

II.2.1. Echantillonnage

Pour isoler des microorganismes à effet antimicrobien du compost de déchets verts mélangés par des résidus phosphatés produit au sein de l'Université Sultan Moulay Slimane de Béni Mellal, nous avons pris trois échantillons représentatifs des composts durant la succession des trois phases distinctes : la phase (1) mésophile, la phase (2) thermophile, et la phase (3) de maturation.

II.2.2. Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances à effet antibactérien

L'échantillon du compost (10 g) a été dilué dans 90 ml d'une solution tampon (Na_2HPO_4 0,06 M / NaH_2PO_4) (1/9 v&/v), pH 7,6. Des dilutions de séries décimales (10^{-1} à 10^{-7}) de chaque échantillon des composts ont été réalisées, puis un aliquote de 100 μ l de chaque dilution a été étalé sur une boîte de pétri préalablementensemencée par *E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptocoques* sp. Après l'incubation à 37°C pendant 48 heures, les colonies entourées d'une auréole d'inhibition ont été repiquées et purifiées (Hassi *et al.*, 2007 ; Zahir *et al.*, 2018 b).

II.2.3. Test de l'activité antibactérienne des isolats sur le support solide

Ce test consiste à confirmer l'effet antibactérien des isolats directement sur un milieu solide. Ainsi, une colonie de chaque isolat a été prélevée de culture jeune puis déposée au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu LBS et préalablementensemencée par *E. coli* ; *Salmonella* sp. et *Streptocoques* sp. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 48 heures. Les diamètres des auréoles d'inhibition ont été mesurés (Zahir *et al.*, 2018b). Les résultats sont exprimés en (mm), par mesure de la distance entre la limite de la colonie bactérienne et le début de la zone d'inhibition de la souche pathogène.

II.2.4. Effet antifongique de l'isolat d'intérêt contre *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*

L'antagonisme de l'isolat d'intérêt contre les deux phytopathogènes (*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Aspergillus niger*) a été étudié par coculture côte à côte sur le milieu solide PDA en suivant le protocole exécuté par El Hassni *et al.*, 2007. Ainsi, une boîte de Pétri a été striée par l'isolat. Après 48 h d'incubation, deux disques de 5 mm d'une culture âgée de 2 jours de *Fusarium oxysporum* ont été déposés à 2,5 cm de la strie de l'isolat l'un contre l'autre perpendiculairement par rapport à la strie d'ensemencement. La boîte de Pétri a ensuite été incubée à 25 ± 2 ° C. Le pourcentage d'inhibition a été évalué en mesurant le rayon de la colonie de *Fusarium oxysporum* cultivée avec l'isolat antagoniste. Le rayon de la

colonie d'un témoin cultivé en l'absence de tout autre micro-organisme a également été évalué. Les mesures ont été prises après 2 à 6 jours d'incubation.

La même démarche a été suivie pour tester l'effet antagoniste de l'isolat contre *Aspergillus niger*. Pour la validation du protocole expérimentale effectué, 3 répétitions ont été effectuées pour chacun des deux agents pathogènes (*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Aspergillus niger*).

II.2.5. Identification de l'isolat d'intérêt producteur de substances à effet antimicrobien

Les isolats ont été examinés macroscopiquement sur leurs milieux de culture puis une coloration de Gram a été effectuée.

II.2.5.1 Caractérisation moléculaire de l'isolat producteur de substances à effet antibactérien par l'ARNr 16S

II.2.5.1.1 Extraction de l'ADN total

L'ADN total de l'isolat bactérien a été obtenu par extraction au phénol- chloroforme, à partir de cultures bactériennes en phase de croissance exponentielle (Sbabou *et al.*, 2015). Les cellules ont été centrifugées par centrifugation à 13 000 tr/min pendant 5min, puis remises en suspension dans du tampon de lyse (acétate de Tris 40 mM, pH 7.8, acétate de sodium 20 mM, EDTA 1 mM, SDS 1%, 20 µg mL⁻¹ ARNase). Ensuite, 100µl du NaCl 5M a été ajouté à la solution, les tubes ont été centrifugés à 13000tr/ min pendant 10min à 4°C. Les surnageants ont été transférés dans de nouveaux micro-tubes et des volumes égaux de phénol-chloroforme : alcool isoamylique (25 : 24 : 1, v/v) ont été ajoutés. L'ADN a été précipité dans de l'éthanol absolu et lavé deux fois avec de l'éthanol à 70%, puis séché et redissous dans l'eau pure stérile. La concentration et la pureté de l'ADN ont été évaluées à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop™ et a été stocké à -20°C pour une utilisation ultérieure.

II.2.5.1.2 Amplification de l'ADN codant pour l'ARNr 16S

L'ADN codant pour l'ARNr 16S de l'isolat d'intérêt a été amplifié à l'aide des deux amorces rD1 (5'AAGGAGGTGATCCAGCCGCA3') et fD1 (5'GGAGAGTTAGATCTTGGCTC3') (Weisburg *et al.*, 1991), dans un volume réactionnel de 25 µl, le mélange contenant : 1 µl d'ADN d'une concentration de 100ng/µl, 1µl de chaque amorce à 10 µM, 9.5µl de l'eau pure stérile et 12.5 µl de MytTaq™ Mix, 2x (BIOLINE) prêt à l'emploi, contenant l'enzyme Taq polymérase, le tampon de réaction, MgCl₂ et les dNTPs. Les cycles ont été utilisés selon les conditions optimales fournies avec le MytTaq™ Mix : dénaturation initiale (95 ° C pendant 60 secondes), suivie de 35 cycles (95°C pendant 15 secondes, température de l'hybridation 60°C pendant 15 secondes, 72 ° C pendant 10 secondes), suivis par 1 min d'extension finale à 72°C.

II.2.5.1.3 Séquençage et analyse bio-informatique du gène de l'ARNr 16S :

Les produits d'amplification de l'ARNr 16S ont été purifiés en utilisant le système purification des produits de PCR Quiagen, puis soumis à un séquençage de cycle en utilisant les mêmes amorces que pour l'amplification par PCR, avec ABI PrismDye Chemistry, et analysés avec un séquenceur automatique 3130xl (Sanger *et al.*, 1977), dans les installations de séquençage de la Cité de l'Innovation de Fès (Maroc). Les séquences nucléotidiques obtenues ont été comparées avec celles des souches de référence disponibles dans la base de données Gen-Bank (NCBI : National Center for Biotechnology Information), à l'aide du logiciel Blast (Basic Local alignment Search Tool (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Altschul *et al.*, 1990). Les séquences nucléotidiques ont été alignées, ignorées, vérifiées et corrigées manuellement à l'aide du logiciel Chromas 2 (Version 2.6.5) et MEGA 7 (Version 7.0.26). Les séquences obtenues ont été déposées et identifiées dans la banque de données Genbank, (le numéro d'accèsion de l'isolat est présenté dans le tableau 24).

II.2.5. Caractérisation préliminaire des substances à activité antibactérienne produites par l'isolat d'intérêt

II.2.5.1. Extraction des principes actifs par l'acétate d'éthyle

La précipitation des substances bio actives de l'isolat a été réalisée selon le protocole décrit par Naclerio et ses collaborateurs (1993). Un volume de 100 ml de LBL stérile a été inoculé par la suspension bactérienne, puis incubé sous agitation à 37°C pendant deux jours. Après centrifugation de cette culture à 5000 rpm pendant 15 mn à 4 °C, le surnageant a été récupéré puis additionné au 100 ml du solvant organique (acétate d'éthyle à 95% de pureté). Le mélange a été agité pendant deux heures pour faciliter l'extraction des principes actifs sécrétés, le produit a été mis à décanter dans l'ampoule de décantation pendant 1 heure suivie par l'élimination de la phase aqueuse et récupération de la phase organique, l'évaporation de l'acétate d'éthyle a été réalisée via la rota vapeur. Les principes actifs précipités ont été solubilisés dans 1 ml de l'eau distillée stérile (Zahir *et al.*, 2014a).

II.2.5.2. Test de l'activité antibactérienne des principes actifs par la méthode des puits

La technique des puits consiste à répartir le milieu LB-Agar dans des boîtes de Pétri. Après solidification, des puits de volume identique ont été réalisés à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Ensuite, un volume de 100µl de l'extrait d'isolat d'intérêt a été incubé à 37°C pendant 3 heures, puis testé selon la méthode des puits sur des boîtes préalablementensemencées par *E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptocoques* sp. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 48 heures puis les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (El Guendouzi *et al.*, 2014 ; Zahir *et al.*, 2018 b).

II.2.5.3. Nature des principes actifs sécrétés par l'isolat d'intérêt

II.2.5.3.1. Sensibilité des principes actifs à la protéinase K

Afin de déterminer si les principes actifs sont de nature protéique, les différents extraits précipités par l'acétate d'éthyle ont été soumis à l'action de la protéinase K (PK) à une concentration de 1 mg/ml à pH 7. Le mélange a été bien homogénéisé et incubé à 37°C pendant 3 heures. L'effet antibactérien du principe actif traité par la PK a été étudié vis à vis *E. coli* en

utilisant la méthode des puits. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 48 heures (Zahir *et al.*, 2014 a). Les extraits non traités par PK ont été utilisés comme des témoins.

II.2.5.3.2. Sensibilité des principes actifs à la lipase

Pour mettre en évidence si les principes actifs sont de nature lipidique, les différents précipités ont été soumis à l'action de lipase à une concentration de 1mg/ml à pH 7. Le mélange a été bien homogénéisé et incubé à 37°C pendant 3 heures. L'effet antibactérien du principe actif traité par la lipase a été étudié vis à vis *E. coli* en utilisant la méthode des puits. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 48 heures. Les extraits non traités par la lipase ont été utilisés comme des témoins (Zahir *et al.*, 2014b).

II.2.5.3.3. Sensibilité des principes actifs à l'amylase

Afin de déterminer si les principes actifs sont de nature glucidique, les différents précipités ont été soumis à l'action de l'amylase à une concentration de 1mg/ml à pH 7. Le mélange a été bien homogénéisé et incubé à 28°C pendant 3 heures. L'effet antibactérien du principe actif traité par l'amylase a été étudié vis à vis *E. coli* en utilisant la méthode des puits. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 48 heures. Les extraits non traités par l'amylase ont été utilisés comme des témoins (Zahir *et al.*, 2014b).

II.2.5.3.4. Sensibilité des principes actifs au traitement thermique

Pour tester la sensibilité des principes actifs au traitement thermique, nous avons adopté le protocole de Naclerio (1993). Les différents extraits précipités par l'acétate d'éthyle ont été exposés à 100°C (15 min), 80°C (15 min), 60°C (20 min) et 37°C (3h). Les précipités traités ont été testés contre *E. coli* en employant la méthode des puits. Les boîtes obtenues ont été incubées à 37°C pendant 48 heures.

II.2.6. Effet antagoniste de l'isolat d'intérêt contre *Aspergillus niger* in vivo

Des pommes ont été soigneusement lavées avec de l'eau distillée stérile avant l'utilisation pour l'inoculation avec l'isolat d'intérêt en adoptant le protocole d'Ait Bahadou *et al.*, (2018). Brièvement, une suspension bactérienne de l'antagoniste a été préparée dans de l'eau distillée stérile et a été ajustés à 10^8 UFC / ml. Des pommes lésées sont injectées par une suspension de l'isolat d'intérêt (10^8 UFC/ml) pendant 24 h puis inoculés par une suspension d'*Aspergillus niger* (10^7 UFC/ml). Les résultats ont été récupérés après 15 j post inoculation. Des pommes injectées seulement par l'antagoniste ont été employées pour évaluer la cytotoxicité de l'isolat d'intérêt. Tandis que des fruits traités par l'eau distillée ou par le phytopathogène ont été utilisés comme témoins.

II.2.7. Effet antagoniste de l'isolat d'intérêt contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*

Des mandarines *Citrus reticulata* Blanco ont été soigneusement lavées avec de l'eau distillée stérile avant l'utilisation pour l'inoculation avec l'isolat d'intérêt en adoptant le protocole d'Ait Bahadou *et al.*, (2018). Brièvement, une suspension bactérienne de l'antagoniste a été préparée dans de l'eau distillée stérile et a été ajustés à 10^8 UFC / ml. Des mandarines lésées ont été injectées par une suspension de l'isolat d'intérêt (10^8 UFC/ml) pendant 24 h puis inoculés par une suspension de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (10^7 UFC/ml). Les résultats ont été récupérés après 5 j post inoculation. Des mandarines injectées seulement par l'antagoniste ont été employées pour évaluer la cytotoxicité de l'isolat d'intérêt. Tandis que des fruits traités par l'eau distillée ou par le phytopathogène ont été utilisés comme témoins.

III. Résultats et discussion

III.1. Isolement et criblage des microorganismes producteurs des substances à effet antibactérien

Le compostage est défini comme un processus engendrant une activité microbienne intense aboutissant la décomposition de la plupart des matériaux biodégradables. Ce processus biologique implique une dégradation partielle ou complète d'une variété des composés organiques par un ensemble des microorganismes. Durant les phases du compostage, la communauté microbienne suit un modèle de succession prévisible qui entraîne la recolonisation du compost avec des populations microbiennes métaboliquement actives qui peuvent être suppressives vis-à-vis des phytopathogènes. Effectivement, la suppression de plusieurs maladies de plantes par l'activité des microorganismes issus du compost a été rapportée (Boulter *et al.*, 2002). En fait, la production de substances antimicrobiens, la concurrence pour les éléments nutritifs, l'oxygène ou l'espace sont les mécanismes permettant à la population microbienne d'un compost de contrôler ou d'inhiber l'effet des pathogènes responsables des maladies des cultures (Boulter *et al.*, 2002 ; Mehta *et al.*, 2013b). C'est dans ce sens, que des échantillons du compost des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés durant les phases mésophile, thermophile, et de maturation ont été prélevés pour isoler des microorganismes éventuels producteurs des substances inhibitrices contre *E. coli* ; *Salmonella* sp et *Streptocoques* sp.

Ainsi, 10 bactéries à potentiel inhibiteur ont été isolées. En effet, ces isolats ont montré des auréoles d'inhibition de différents diamètres autour les colonies des trois agents pathogènes précités (tableau 1).

Certains de ces microorganismes ont un large spectre. Tandis que d'autres ont un spectre étroit en agissant seulement sur une seule bactérie cible. L'ensemble de ces isolats agissent par un ou des principes actifs qui inhibent la prolifération bactérienne. La suite de travail est focalisée sur l'isolat CFSP1L1 issu de la phase de maturation du compost puisqu'il possède un effet antibactérien intéressant en montrant des auréoles d'inhibition d'ordre 15, 16 et 18 mm vis-à-vis *Streptococcus* sp, *Salmonella* sp et *E. coli*, respectivement.

Tableau 27. Activité antibactérienne des isolats du compost des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés

Isolats	Phase du compost à partir laquelle est issu l'isolat	Diamètres d'inhibition en (mm) contre		
		<i>Streptococcus</i> sp	<i>Salmonella</i> sp	<i>E.coli</i>
2CFE51	Phase de maturation	-	6	-
2CTE51	Phase thermophile	5	8	-
CAFE32	Phase de maturation	8	22	19
CFSL32	Phase de maturation	20	7	13
CFSP1L1	Phase de maturation	15	16	18
CFSP12	Phase de maturation	6	-	7
CIca71	Phase mésophile	7	5	-
CISP31	Phase mésophile	6	7	9
CTSL31	Phase thermophile	40	-	-
CTSP132	Phase thermophile	10	19	11

- = absence d'inhibition

L'effet supprimeur des isolats de composts contre les agents pathogènes a été déjà démontré par d'autres chercheurs (Craft et Nelson, 1996 ; Boulter *et al.*, 2002). En fait, l'activité antimicrobienne de *Pseudomonas*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* a été mise en évidence contre certains agents pathogènes du gazon à savoir *Sclerotinia homoeocarpa*, *Pythium graminicola*, *Typhula sp. kariensis*, et *Microdochium nivale* (Boulter *et al.*, 2002). Dans une autre étude réalisée *in vitro* par Ramzan *et al.*, (2014), ont identifié dans un compost 44 espèces des champignons et 15 espèces bactériennes, dont sept appartiennent à trois genres à savoir *Bacillus*, *Micrococcus* et *Pseudomonas*. Il a été révélé que ces bactéries ont un pouvoir inhibiteur contre les agents pathogènes (Ramzan *et al.*, 2014). Ces auteurs ont rapporté que les microorganismes à effet inhibiteur produisent des molécules bioactives supprimeurs contre les germes pathogènes soit par les voies secondaires de leurs métabolismes soit par l'expression spontanée des gènes ou ceux induite par les agents pathogènes (Ramzan *et al.*, 2014).

III.2. Effet antifongique de l'isolat CFSP1L1 contre *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*

Les tests *in vitro* montrent que l'isolat CFSP1L1 présente un effet important d'inhibition de la sporulation d'*Aspergillus niger* et de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* de l'ordre de 99% et 90%, respectivement (figure 1).

L'effet suppresseur du compost sur les agents pathogènes dont *Fusarium oxysporum* f. sp. a été déjà démontré par Larbi (2006). En fait, le compost agit vraisemblablement autant à travers son activité microbienne intrinsèque que par la stimulation des activités microbiennes du sol (Nelson et Boehm, 2002). En outre, les apports en compost augmentent l'effet suppressif existant contre *Fusarium oxysporum* f. sp. Cet effet est proportionnel à la quantité de compost administrée (Serra-Wittling *et al.*, 1996).

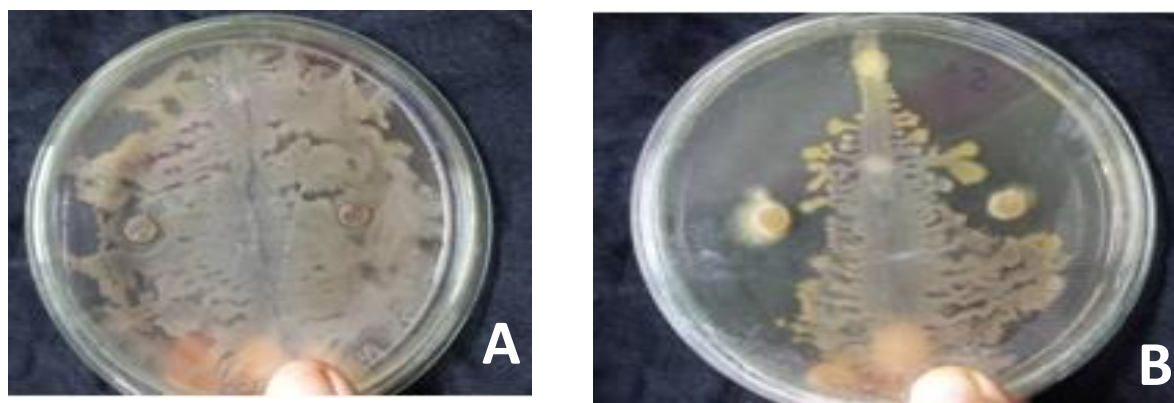


Figure 46. Effet antagoniste de l'isolat CFSP1L1 contre la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger* (A) et de *Fusarium oxysporum* (B) après 6 jours de la co-culture côte à côte sur le milieu PDA

III.3. Identification de l'isolat CFSP1L1

L'isolat CFSP1L1 se caractérise par des colonies en couleur marron, à relief bombé, à aspect lisse et brillant ainsi qu'une odeur aromatique bien spécifique. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agit d'un bacille à Gram négatif mobile, disposé seule ou par paire. Ce résultat est compatible avec celui de l'identification moléculaire de l'isolat. En effet, après purification des produits de la PCR, l'ADN codant pour ARNr 16S a été séquencé en utilisant les amorces rD1 et fD1.

Le séquençage de l'ADNr 16S a conduit à l'obtention d'une séquence ayant 1439 nucléotides. Dans la littérature, des identifications ont été réalisées en employant des séquences

de 500 pb (Hall *et al.*, 2003 ; Patel *et al.*, 2000) et d'autres ont été basées sur le séquençage d'environ 400 bp (Bosshard *et al.*, 2003).

Après l'analyse bio-informatique, l'espèce bactérienne dont le gène de l'ARNr 16S montre une forte identité d'ordre de 99.79% avec celui de l'isolat est *P. aeruginosa* (tableau 2). Selon les critères définis par Drancourt *et al.*, (2000), ce pourcentage permet l'identification de l'isolat. En outre, un numéro d'accèsion a été fourni à la séquence obtenue après avoir été déposée dans la banque de données Genbank (MT415324). Ainsi, selon la coloration de Gram et l'identification moléculaire, l'isolat CFSP1L1 a été assigné à *P.aeruginosa*.

Tableau 28. Résultats de l'identification moléculaire de l'isolat CFSP1L1 après séquençage du gène de l'ARNr 16S

Isolat (Numéro d'accèsion)	Taille de la séquence l'ARNr 16S	Pourcentage d'identité	Souche typemontrant une forte similarité avec l'isolat
CFSP1L1 (MT415324)	1439 n	99,79%	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145 ^T (NR_114471)

^T: souche type ; n: nucléotides

P. aeruginosa est une bactérie ubiquitaire qui colonise le sol, les plantes, les surfaces aquatiques ainsi que les composts (Rane *et al.*, 2007 ; Magin, 2019). Effectivement, elle est considérée comme thermotolérante au cours du compostage (Lemanceau *et al.*, 2009) et sa prolifération à la phase finale du compostage a été signalée par plusieurs auteurs (Boulter *et al.*, 2002 ; Dieng *et al.*, 2019). Ceci permet d'expliquer son isolement à partir la phase de maturation du compost au cours de ce présent travail.

Néanmoins, à ce jour, aucune bactérie provenant d'un compost décrite à effet antimicrobien n'a été assignée à *P. aeruginosa*.

Par ailleurs, diverses études ont mis en évidence que la bactérie en question a un large spectre d'action vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif ainsi contre les champignons. Incontestablement, il a été démontré que *P. aeruginosa* est l'un des microorganismes du compost responsable d'une réduction significative de la population

microbienne dont le genre *Salmonella* (Rodriguez, 1996). En outre, il a été signalé par l'investigation menée par Zahir *et al.*, (2014 a) que ladite bactérie inhibe la croissance d'*E. coli*.

De même, dans l'étude réalisée par Scott *et al.*, (2019), il a été rapporté que *P. aeruginosa* peut limiter la croissance de *Streptococcus. spp* à travers plusieurs mécanismes y compris la synthèse de surfactant et d'alginate ainsi que la production de sidérophores via la séquestration du fer.

D'un autre côté, il a été mis en évidence que *P. aeruginosa* est efficace dans la lutte contre la maladie de la pourriture du collet de l'arachide provoquée par *Aspergillus niger* en induisant des déformations hyphales dans le pathogène fongique (Kishore *et al.*, 2005). De plus, la protection contre *Fusarium oxysporum* f. sp par des *Pseudomonas* fluorescents a été également révélée par plusieurs auteurs (Weller et Cook, 1986 ; Lemanceau *et al.*, 1991 ; Saber *et al.*, 2015 ; Islam *et al.*, 2018), ce qui confirme les résultats de la présente investigation. Cependant, c'est la première étude qui a mis en évidence que *P. aeruginosa* possède un effet antifongique vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*. Ce qui rend par conséquent de *P. aeruginosa* un bon candidat à exploiter afin de lutter contre les phytopathogènes.

III.4. Activité antibactérienne des principes actifs de *P. aeruginosa*

L'extraction des principes actifs de *P. aeruginosa* a été effectuée en utilisant l'acétate d'éthyle comme solvant organique. Un tel solvant est largement employé pour extraire les métabolites des bactéries (Zahir *et al.*, 2011 ; 2014a). Après extraction, l'effet antibactérien des métabolites de *P. aeruginosa* a été évalué par la méthode de puits. Ainsi, les résultats montrent que l'extrait possède une activité antibactérienne mise en évidence par l'apparition des auréoles d'inhibition dont les diamètres sont d'ordre 17 mm, 18 mm et 20 mm vis-à-vis *Streptococcus* sp., *Salmonella* sp. et *E. coli*, respectivement. Ce résultat indique que *P. aeruginosa* agit par des métabolites antibactériens sécrétés dans le milieu de culture LB et met aussi en exergue que ces substances sont solubles dans l'acétate d'éthyle.

III.5. Stabilité et nature des principes actifs de *P. aeruginosa*

Afin de mieux élucider la stabilité et la nature chimique des molécules bioactives sécrétées par *P. aeruginosa*, l'extrait a été soumis à plusieurs traitements. Son activité antibactérienne a été ensuite évaluée vis-à-vis *E. coli* par la technique des puits. Ainsi, l'effet

antagoniste de *P. aeruginosa* n'a pas été affecté par les traitements thermiques ni enzymatique à la PK, la lipase et l'amylase. Ceci implique que le ou les principe(s) actif(s) responsable(s) de l'activité recherchée ne sont pas de nature protéique, lipidique ou saccharidique (tableau 25).

Antérieurement, il a été rapporté que *P. aeruginosa* produit une panoplie des métabolites dont font partie les phénazines. Ces molécules représentent une vaste famille de molécules hétérocycliques azotées fortement pigmentées synthétisées à partir de l'acide shikimique (Saha *et al.*, 2008 ; Dwivedi et Johri, 2003). A titre d'exemple nous citons, l'acide carboxylique 1 phénazine, phénazine 1 carboxamide et la pyocyanine (Rane *et al.*, 2007 ; Zahir *et al.*, 2018 b). Ce dernier métabolite est un pigment bleu très distinctif produit uniquement par *P. aeruginosa* et il est soluble dans les solvants organiques (Zahir *et al.*, 2018 b). Il a été mis en évidence que la pyocyanine purifiée possède une activité antimicrobienne importante contre les agents pathogènes testés tels que *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Candida albicans*, *Bacillus cereus* et *Salmonella* sp (Barakat, 2012). En outre, des études ont révélé que ce principe actif est stable à haute température et il montre une résistance à l'ébullition sans perdre son effet antibactérien (Denning *et al.*, 2003 ; Saha *et al.*, 2008 ; Zahir *et al.*, 2014 a ; Zahir *et al.*, 2018 b).

Par ailleurs, les phénazines sont biologiquement actives, ayant un rôle dans la compétitivité microbienne et la suppression des pathogènes des plantes (Zahir *et al.*, 2018 b). En fait, il a été démontré que les phénazines inhibent la croissance des champignons phytopathogènes tels que *Gaeumannomyces graminis*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* et *Gibberella avenacea* (Cohain *et al.*, 2006). Par conséquent, le(s) principe (s) actif(s) sécrété(s) par *P. aeruginosa* pourrai(en)t être des composés organiques sous forme de phénazines. Ainsi, des travaux supplémentaires doivent être effectués afin de purifier et élucider davantage la structure chimique des substances bioactives de l'isolat.

Tableau 29. Effet des différents traitements sur l'effet antibactérien de l'extrait de *P. aeruginosa*. L'activité relative a été mesurée par la méthode des puits contre *E. coli*.

Traitement	Activité relative
Traitement enzymatique	
Protéinase K	+
Lipase	+
Amylase	+
Témoin (extrait à l'acétate d'éthyle non traité)	+

Traitement thermique	
37°C	+
60°C	+
80°C	+
100°C	+
Témoin (extrait à l'acétate d'éthyle non traité)	+

+ : présence d'inhibition.

III.6. Effet antagoniste de *P. aeruginosa* contre *Aspergillus niger* in vivo

In vivo, l'inoculation des pommes avec l'antagoniste *P. aeruginosa* à raison de 10^8 UFC/ml ne révèle pas des symptômes de pathogénicité vis-à-vis du tissu végétal testé (figure 61 A). Le même résultat a été constaté pour le témoin à l'eau distillée (figure 61 B). En revanche, les pommes ont été totalement pourries après leur inoculation individuelle par une suspension de l'espèce fongique à raison de 10^7 UFC/ml après 15 j post inoculation (figure 62 A'). Tandis que le traitement des pommes lésées par une suspension de l'antagoniste (10^8 UFC/ml) pendant 24 h puis inoculées par une suspension du pathogène (10^7 UFC/ml) montre que *P. aeruginosa* inhibe complètement l'apparition de la moisissure noire due à *Aspergillus niger* après 15 j post inoculation (figure 62 B'). Par conséquent, on pourrait dire que *P. aeruginosa* confère une protection aux pommes blessées après la récolte contre *Aspergillus niger*. Ce constat peut être expliqué par le fait que la bactérie sécrète des métabolites inhibant la croissance fongique.

En effet, il a été rapporté que le filtrat de culture acellulaire de *P. aeruginosa* GSE 18 a inhibé, *in vitro*, la production de polygalacturonase et de cellulase par *Aspergillus niger* jusqu'à 77% et 68%, respectivement, 6 jours après l'inoculation. De telles enzymes décomposent la pectine et la cellulose, les deux principaux polymères qui maintiennent la fermeté et la structure des parois cellulaires végétales. Par la suite, la dégradation des molécules structurales de la paroi permet au phytopathogène de pénétrer et de coloniser le tissu végétal. Consécutivement, l'inhibition de la production de ces enzymes représente un mécanisme qui peut avoir un rôle important dans le contrôle de la pourriture en réduisant la virulence d'*Aspergillus niger* (Kishore *et al.*, 2006).



Figure 47. Absence des symptômes de pathogénicité sur une pomme injectée uniquement avec l'antagoniste *P. aeruginosa*

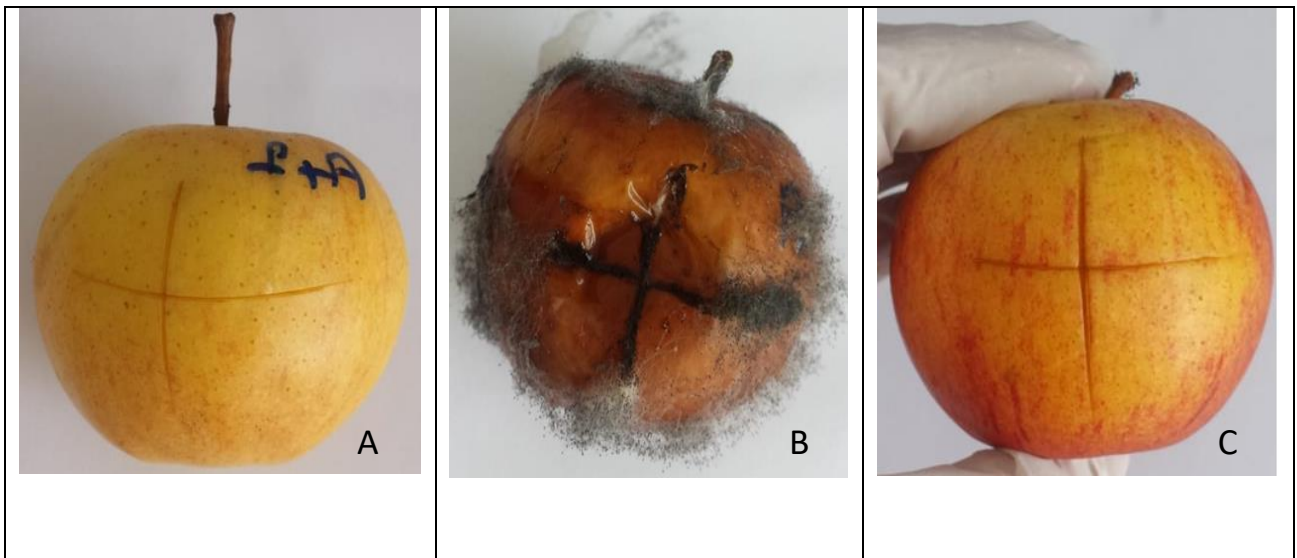


Figure 48. Effet de *P. aeruginosa* sur le développement de la moisissure noire causée par *Aspergillus niger* sur des pommes *in vivo*.
P. aeruginosa inhibe complètement l'effet pathogène sur une pomme injectée par l'antagoniste puis inoculée par le phytopathogène (A) ; apparition de la moisissure noire sur des pommes inoculée seulement par *Aspergillus niger* (B) ; absence des symptômes de pathogénicité sur une pomme injectée uniquement avec l'eau distillée stérile (C)

III.7. Effet antagoniste de *P. aeruginosa* contre *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*

In vivo, l'inoculation des mandarines de l'espèce *Citrus reticulata* Blanco avec l'antagoniste *P. aeruginosa* à raison de 10^8 UFC/ml ne révèle pas des symptômes de pathogénicité vis-à-vis du tissu végétal testé (figure 63 A). Le même résultat a été constaté pour le témoin à l'eau distillée (figure 63 B). En revanche, les mandarines ont été totalement pourries « moisissure blanche » après leur inoculation individuelle par une suspension de l'espèce fongique à raison de 10^7 UFC/ml après 5 j post inoculation (figure 64 A'). Tandis que le traitement des mandarines lésées par une suspension de l'antagoniste (10^8 UFC/ml) 24 h avant d'être inoculées par une suspension du pathogène (10^7 UFC/ml) montre que *P. aeruginosa* inhibe complètement l'apparition de la croissance mycélienne après 5 j post inoculation (figure 64 B').

Par conséquent, on pourrait dire que *P. aeruginosa* confère une protection aux mandarines blessées après la récolte contre *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*. Ce constat peut être expliqué par le fait que la bactérie sécrète des métabolites inhibant la croissance fongique.

En effet, selon Anjaiah *et al.*, (2003), *P. aeruginosa* PNA1 a inhibé, *in vitro*, la croissance mycélienne, elle a pu éliminer la flétrissure fusarienne du pois chiche, causée par *Fusarium oxysporum f. sp.* Le PNA1 a produit des antibiotiques tels que la phénazine, l'acide phénazine-1-carboxylique et l'oxychloraphine, en inhibant la croissance mycélienne de *F. oxysporum f. sp.* et certains autres champignons phytopathogènes. Ainsi, cette bactérie isolée d'un biotope comme le compost pourrait agir par un mécanisme similaire pour inhiber la croissance des phytopathogènes sur les cultures des sols amendés par les composts. Cependant, pour valider cette hypothèse, des investigations doivent être effectuées pour révéler et comprendre amplement le mécanisme d'action de l'effet antibactérien et antifongique de *P. aeruginosa*. Principalement, on devrait comprendre son comportement et définir son rôle lors du compostage, sans négliger son caractère opportuniste et aussi pathogène pour l'homme. Ainsi, des investigations doivent réaliser pour tirer d'intérêt surtout de l'activité antibactérienne et antifongique principalement de ses substances bioactives.



Figure 49. Absence des symptômes de pathogénicité sur une mandarine injectée uniquement avec l'eau distillée stérile

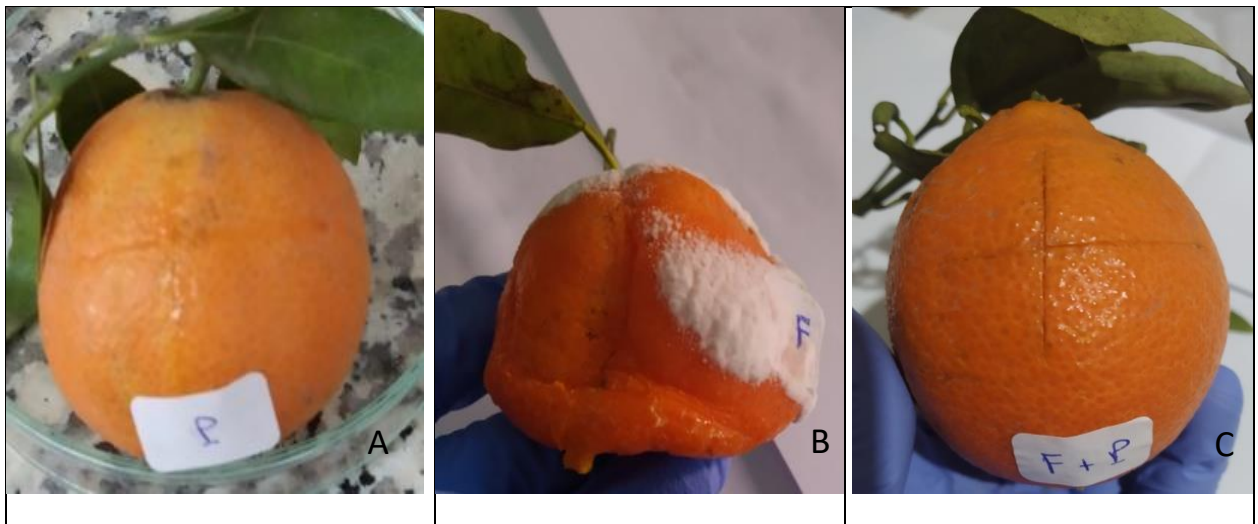


Figure 50. Absence des symptômes de pathogénicité sur mandarine injectée uniquement avec l'antagoniste *P. aeruginosa* (A), *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* sur des mandarines in vivo « moisissure blanche » (B), Effet de *P. aeruginosa* injectée 24h avant d'être inoculé par *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* sur mandarine in vivo (C).

Conclusion

Les maladies post récolte des végétaux et des produits agricoles provoquées par les microorganismes entraînent des pertes économiques graves à l'échelle internationale. Ainsi, le contrôle biologique connaît un essor remarquable comme une alternative du traitement classique basé essentiellement sur l'emploi des pesticides. L'utilisation excessive de ses produits chimiques a engendré l'émergence des pathogènes résistants aux molécules chimiques et a montré également des effets néfastes sur l'environnement, la santé humaine et animale. Nombreux agents de la lutte biologique sont proposés actuellement pour la lutte contre des agents phytopathogènes, parmi eux *Pseudomonas aeruginosa*. Cette bactérie est proposée comme Agent de biocontrôle contre *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizoctonia bataticola*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* et *Puccinia arachidis*. C'est dans ce contexte que *P. aeruginosa* a été isolée, au cours ce présent travail, à partir d'un compost des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés. Elle possède un effet antibactérien intéressant contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif et une activité antifongique vis-à-vis *Fusarium oxysporum* f. *Sp albedinis* et *Aspergillus niger*.

Des investigations ont été réalisées pour déterminer la stabilité et la nature chimique des molécules bioactives sécrétées par *P. aeruginosa* et qui sont impliqués dans son activité antibactérienne. Les résultats démontrent que l'effet antagoniste de ses substances n'a pas été affecté par les traitements thermiques ni enzymatique à la PK, la lipase et l'amylase. Ceci implique que le ou les principe(s) actif(s) responsable(s) de l'activité recherchée ne sont pas de nature protéique, lipidique ou saccharidique.

Par ailleurs, des tests in vivo ont démontré que ladite bactérie inhibe complètement l'apparition de la moisissure noire due à *Aspergillus niger* après 15 j post inoculation des pommes, et inhibe complètement l'apparition de la sporulation due à *Fusarium oxysporum* f. *Sp albedinis* 5j post inoculation des mandarines. Plus intéressant encore, elle ne manifeste pas des symptômes de pathogénicité vis-à-vis du tissu végétal testé. Par conséquent, on peut confirmer que *P. aeruginosa* est une souche prometteuse qui mérite d'être exploitée, comme un potentiel agent antagoniste afin de conférer aux plantes après la récolte une protection contre les menaces biotiques. Pour atteindre cet objectif, autres investigations supplémentaires semblent nécessaires à exécuter telles que la purification de ses substances bioactives et des tests in vivo de la souche et de ses substances bioactives au champ.

Synthèse générale et Perspectives

La présente étude constitue l'un des travaux visant la promotion de l'utilisation de la lutte biologique contre les agents phytopathogènes dans le domaine de l'agriculture. Les résultats obtenus et l'état actuel des connaissances acquises constituent une avancée importante dans le domaine de lutte biologique par l'emploi des composts de qualité.

La première partie du travail a été réservée à une étude bibliographique pour déterminer les différents critères de qualité et de maturité des composts et leurs liens avec les processus biologiques impliqués. La deuxième partie s'intéresse au suivi de l'évolution des agents pathogènes dans des composts issus de différents types de matières organiques mélangés par des résidus phosphatés. La troisième section est consacrée à l'isolement et au criblage des microorganismes à partir des composts de différents déchets organiques et leurs pouvoirs suppressif vis-à-vis des agents pathogènes. Parmi ces micro-organismes, l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* isolée à partir du compost issu des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés et son effet sur les phytopathogènes et la caractérisation de ses principes actifs, a porté l'objectif de la quatrième section.

Le compostage est le résultat de l'action combinée de nombreux mécanismes physico-chimiques et biologiques conduisant à des modifications de la composition et des structures chimiques des substrats compostés. Ces transformations permettent l'obtention d'une matière organique mature, stable et hygiénisée pouvant être utilisée comme amendement agricole. Notre étude s'est focalisée sur un procédé de compostage des déchets ménagers, déchets verts mélangés par résidus phosphatés. En effet, l'augmentation de la production de déchets ménagers constitue une menace sérieuse pour l'environnement dans la mesure où les conditions de collecte de ces déchets sont pénibles vu la grande quantité et la nature complexe de ces déchets. L'utilisation de la fraction organique réduit la quantité des déchets stockés et permet un recyclage de cette matière comme biofertilisant aux sols agricoles. Néanmoins, un point qui préoccupe beaucoup les chercheurs est la caractérisation de la maturité et de la stabilité des composts. Plusieurs paramètres physiques et chimiques de composts ont été largement décrits pour atteindre cet objectif. Parmi ces paramètres souvent cités figurent le rapport C/N, humidité, température, pH, stabilité de matière organique, etc. En effet, les résultats des analyses physico-chimiques préliminaires témoignent d'une bonne réussite du compostage des mélanges utilisés. La température atteinte pendant la phase thermophile (60°C) a permis d'hygiéniser les produits finaux. Le maintien de la température entre 55°C et 65°C pendant les deux premiers mois du compostage a induit une élimination très significative des agents pathogènes tels que les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli*, Streptocoques fécaux, et spore de *Clostridium*. Cependant, durant la phase de maturation qui succède la phase thermophile, la température du tas enregistre dans quelques composts une phase mésophile avant sa baisse pour atteindre des températures ambiantes de 23°C.

Cette baisse de température est due à l'épuisement du milieu en composés organiques facilement métabolisables ; et seules les composées résistantes à la dégradation (lignine, cellulose...) persistent. Ces conditions entraînent en quelques sortes l'élimination des microorganismes saprophytes. Par ailleurs, cette phase est caractérisée par la prolifération de la population de *Pseudomonas aeruginosa*, des actinomycètes et celle des champignons. Ces micro-organismes semblent non phyto-toxiques, puisqu'après un mois du compostage, on remarque une augmentation importante de (IG) surtout après 150 jours. En fait, ces résultats de germination de la luzerne trouvés sont en accord avec ceux rapportés par d'autres chercheurs et qui ont montré qu'un compost est considéré comme non toxique lorsque son IG dépasse 50% (Levy et al., 2003 ; Yangui et al., 2009). Les résultats obtenus à travers les tests de germination ont montré que le compost des déchets ménagers, des déchets verts et organiques mélangés par des résidus phosphatés peut être considéré comme un amendement organique qui permet d'améliorer les propriétés physiques, chimiques et microbiologiques des sols et par conséquent les rendements de cultures. En outre, l'analyse de cluster hiérarchique confirme les conclusions retenues de l'analyse en composantes principales (ACP), en ce qui concerne les relations et les corrélations significatives entre les paramètres physicochimiques et microbiologiques en fonction de leurs profils au cours du compostage et la maturité du compost.

En effet, l'obtention d'un produit utilisable en agriculture, sans danger pour la santé ou pour l'environnement, requiert le suivi de ses propriétés microbiologiques. Ainsi, le second objectif de ce travail consiste à suivre le comportement des bactéries pathogènes lors du compostage des déchets organiques issus de différentes matières premières. Ainsi que le suivi de l'effet de la variation de la température lors du compostage sur la survie de ces agents pathogènes, en outre de la biotransformation des déchets organiques. Par ailleurs nous nous sommes intéressés à isoler les microorganismes à effet antibactérien ou suppressif contre les agents pathogènes au sein des composts. Dans cet objectif, nous avons aussi tenu à avoir une diversité de composts pour mettre en évidence soit des processus invariants, soit des phénomènes liés à des catégories précises de composts. Ceci nous paraissait essentiel en vue d'une future application de nos résultats. La complexité des matières végétales et organiques dégradées influence le type de biomasse microbienne impliquée pendant le compostage. Cependant, bien qu'il existe quelques différences au niveau de la désinfection des composts, les conditions de réchauffement et le développement de micro-organismes thermophiles et mésophiles, ces derniers jouent un rôle important dans l'élimination des agents pathogènes des déchets utilisés dans le compostage. Ainsi, le compostage pourrait être choisi comme traitement biologique pour la désinfection des déchets organiques. La maturation du compost pourrait également être évaluée par la présence de certains micro-organismes, principalement les actinomycètes et les champignons,

principaux micro-organismes qui favorisent par conséquent la dégradation des matériaux lignocellulosiques.

Alors que dans l'objectif d'isoler des micro-organismes à effet antimicrobien de différents composts, nous avons pu cribler, et purifier 78 souches à effet inhibiteur contre trois principales bactéries pathogènes (*Escherichia coli* CCMM/B4, *Streptococcus* sp. CCMM/B24 et *Salmonella* sp. CCMMB17), et contre deux champignons phytopathogènes *Fusarium oxysporum* f. Sp *albedinis* et *Aspergillus niger*. Par la suite, les isolats à effet inhibiteur ou supprimeur ont été caractérisés macroscopiquement et microscopiquement. Parmi ces isolats, on a pu identifier une souche de *Pseudomonas aeruginosa* qui démontre une grande persistance tout au long du compostage surtout en phase thermophile et qui exhibe une grande performance dans l'élimination des phytopathogènes cités ci-dessus.

En effet, dans la littérature, cette bactérie est rapportée un agent de biocontrôle ou de lutte biologique contre divers agents pathogènes, à savoir *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizoctonia bataticola*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* et *Puccinia arachidis*. C'est dans ce contexte que nous l'avons isolé, au cours ce présent travail, à partir d'un compost des déchets verts mélangés par des résidus phosphatés. Elle possède un effet antibactérien intéressant contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. En outre, la bactérie peut aussi inhiber complètement l'apparition de la moisissure noire due à *Aspergillus niger* après 15j post inoculation des pommes, aussi l'inhibition complète de l'apparition de la sporulation due à *Fusarium oxysporum* f. Sp *albedinis* 5j post inoculation des mandarines. Aussi, des tests ont révélé que *Pseudomonas aeruginosa* ne manifeste pas des symptômes de phyto-patogénicité vis-à-vis du tissu végétal testé soit des pommes ou mandarines.

Les molécules bioactives responsables de cette activité anti-bactérienne de *P. aeruginosa*, ont démontré une résistance aux traitements thermiques, et sont intacts aux activités enzymatiques à la PK, la lipase et l'amylase. Ceci implique que le ou les principe(s) actif(s) responsable(s) de l'activité recherchée ne sont pas de nature protéique, lipidique ou saccharidique. Ainsi, leur nature complexe lui confère une grande stabilité et résistance tout au long des processus de biodégradation impliqués lors du compostage.

En perspective à ce travail, des études chromatographiques et spectroscopiques seront réalisés pour identifier et déterminer les molécules bioactives impliquées. Il sera aussi très utile d'approfondir les études sur les différentes potentialités de lutte biologique de *Pseudomonas aeruginosa*. En fait, d'autres investigations supplémentaires semblent nécessaires à exécuter telle la purification de ses substances bioactives et des tests in vivo de la souche et de ses substances bioactives au champ. Parallèlement, d'autres volets restent à développer telle la persistance de *P. aeruginosa* dans des

conditions du compostage qui n'a jamais été étudiée et son comportement devra encore être investigué lors du compostage. L'acquisition de ces données, permet de mieux exploiter cette bactérie comme étant un vrai alternatif comme agent de lutte biologique contre les agents phytopathogènes et qui pourrait par conséquent remplacer la lutte chimique à des répercussions environnementales.

Références Bibliographiques

A

- Abouelwafa Rajae, Soumia Amir, Salah Souabi, Peter Winterton, Victor Ndira, Jean-Claude Revel, Mohamed Hafidi. 2008. The fulvic acid fraction as it changes in the mature phase of vegetable oil-mill sludge and domestic waste composting. *Bioresource Technology* 99 (2008) 6112–6118.
- Achour F., 2008. Caractérisation de la matière organique dans les ordures ménagères. Recherche d'indicateurs de stabilité. Thèse de l'école doctorale de chimie de Lyon.
- ADAS Consulting Limited. 2005. Assessment of options and requirements for stability and maturity testing of composts. The Waste and Resources Action Programme, The Waste and Resources Action Programme, Oxon.
- ADEME., 1998 : Le compostage des déchets organiques des ménages en Allemagne, Etat de l'art et retours d'expérience, Paris, France, 188.
- ADEME., 2002. Étude bibliographique sur l'évaluation des risques liés aux bio-aérosols générés par le compostage des déchets. Centre d'Angers.
- Ait Bahadou S., Oujja A., Karfach A., Tahiri A. and Lahlali R. (2018). New potential bacterial antagonists for the biocontrol of fire blight disease (*Erwinia amylovora*) in Morocco. *Microb Pathogenesis*, 117: 7–15.
- Albuquerque, J. A., Gonzalez, J., Garcia, D. & Cegarra, J. 2006. Measuring detoxification and maturity in compost made from "alperujo", the solid by-product of extracting olive oil by the two-phase centrifugation system. *Chemosphere* 64, 470-477.
- Alderman S.C., Coats D.D. and Crowe F.J. (1996). Impact of ergot on Kentucky bluegrass grown for seed in northeastern Oregon. *Plant Dis.* 80, 853-855.
- Alexander, R., (1999) Compost markets grow with environmental applications. *Biocycle*. 40 (4): p. 4.
- Altieri M.A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agri. Ecosystems Environ.* 74, 19-31.
- Altieri, M.A., Nicholls, C.I., Fritz, M.A., 2005. Manage insects on your farm : a guide to ecological strategies. Sustainable Agriculture Network, Beltsville, MD.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. (1990) Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215, 403–410.
- Amir, S.: Contribution à la valorisation de boues de stations d'épuration par compostage, devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost, Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, p. 341, (2005)
- Amir, S., Merlina, G., Pinelli, E., Winterton, P., Revel, J.C., Hafidi, M.: Microbial community

dynamics during composting of sewage sludge and straw studied through phospholipid and neutral lipid analysis. *J. Hazard. Mat.* 159(2–3), 593–601 (2008)

Amir, S., Abouelwafa, R., Meddich, A., Souabi, S., Winterton, P., Merlina, G., Revel, J.-C., Pinelli, E., Hafidi, M.: PLFAs of the microbial communities in composting mixtures of agro-industry sludge with different proportions of household waste. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 64, 7, 614–621 (2010)

Andrews SA , Lee H, Trevors T. Bacterial species in raw and cured compost from a large-scale urban composter. *Journal of Industrial Microbiology* 1994;13:177-82.

Anjaiah, V., Cornelis, P. and Koedam, N. (2003) Effect of genotype and root colonization in biological control of *Fusarium* wilts in pigeonpea and chickpea by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1. *Can J Microbiol* 49, 85– 91.

Attrasi B., Mrabet L., Douira A., Ounine K., El Haloui N., 2005. Etude de la valorisation agronomique des composts des déchets ménagers. *Biotechnol. et Envir., Atelier “Biotechnologies” au Maroc, Setat du 6 Mai 2005.*

Atif K., Haouas A., Aziz F., Jamali MY., Tallou A., Amir S., 2018: Pathogens Evolution During the Composting of the Household Waste Mixture Enriched with Phosphate Residues and Olive Oil Mill Wastewater. *Waste and Biomass Valorization*, <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0495-3>

Avnimelech, Y., Bruner, M., Ezrony, I., Sela, R. & Kochba, M. 1996. Stability indexes for municipal solid waste compost. *Compost Science & Utilization* 4, 13-20.

Aubert, G., (1978) Méthodes d’analyse des sols. édition crdp. Marseille.

Aubert, G.: Méthodes d’Analyse des Sols, p. 360. C.R.D.P., Marseille, (1978) 15. NM 08.0. 124: Microbiologie des al., iments: Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C. Service de Normalisation Industrielle Marocaine, SNIMA, Rabat (2009).

B

Bado V. B., Hien V., 1998. Efficacité du phosphate naturel sur le riz pluvial en sol ferrallitique. *Cah. Agri.*, 7: 236-238.

Barakat Rana 2012. Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de la pyocyanine, pigment redox-actif produit par *Pseudomonas aeruginosa*. Sciences agricoles. Université de La Rochelle, 2012. Français.NNT:2012LAROS369.tel-00825873.

Barguigua Abouddihaj, Zahir Ilham, Fikri Nadia, Youss Saadia, Youss Bochra (2020). Prospection des maladies microbiennes de l’olivier dans la région Tadla-Azila. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 8 (3). 1-13. In press. DOI: remav_barguigua_8-3

- Barje, F., Amir, S., Winterton, P., Pinelli, E., Merlina, G., Cegarra, J., Revel, J.-C., Hafidi, M.: Phospholipid fatty acid analysis to monitor the co-composting process of olive oil mill wastes and organic household refuse. *J. Hazard. Mat.* **154**(1–3), 15, 682–687 (2008)
- Barje, F., El Fels, L., Hajjouji, E., Amir, H., Winterton, S., Hafidi, P.: M.: Molecular behaviour of humic acid-like substances during co-composting of olive mill waste and the organic part of municipal solid waste. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **74**, 17–23 (2012)
- Barje F., 2010 : Biotransformation du mélange des déchets d’huileries d’olive – ordures ménagères : Approche physico-chimique, suivi biochimique, bilan humique et qualité agronomique. Thèse de 3eme cycle, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech.
- Bayard. R, Gourdon.R., 2007- Traitement biologique des déchets. Edition: Techniques de l’ingénieur. P 1-23.
- Beck-Friis, B., Smars, S., Jonsson, H., Kirchmann, H.: SE-structures and environment, gaseous emissions of carbon dioxide, ammonia and nitrous oxide from organic household waste in a compost reactor under different temperature régimes. *J. Agric. Eng. Res.* **78**, 423–430 (2001)
- Beffa T., Blanc M., Lyon P.F., Vogt G., Marchina M., Fisher J.L., Aragno M., 1996. Isolation of thermos strains from hot composts (60-80°C). *JAEM*, **62**: 1723-1727.
- Belabid L., Baum M., Fortas Z., Bouznad Z. and Imad-Eujayl I. (2004). Pathogenic and genetic characterization of al., gerian isolate of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* by RAPD and AFLP analysis. *Afr. J. Biotechnol.* **3**(1), 25-31.
- Benbrook C.M., Groth E., Halloran J.M., Hansen M.K. and Marquardt S. (1996). Pest management at the crossroads, Consumers Union, Yonkers. 272
- Benhamou Nicole Benhamou et Patrice Rey 2000. Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d’écoproduction durable. <https://id.erudit.org/iderudit/1013299ar>.
- Benhamou Nicole, Chantal Garand, and Alain Goulet 2002. Ability of Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Strain Fo47 To Induce Resistance against *Pythium ultimum* Infection in Cucumber. *American Society for Microbiology.* **10.1128/AEM.68.8.4044–4060.2002**.
- Bernal, M.P., Navarro, A.F., Roig, A., Cegarra, J., Garcia, D.: Carbon and nitrogen transformation during composting of sweet sorghum bagasse. *Biol. Fertil. Soil* **22**, 141–148 (1996).
- Ben, Y.Y., and E.B. Nelson. 1999. Differential suppression of damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*, *P. irregulare*, and *P. myriotylum* in composts at different temperatures. *Plant Disease* **83**:356-360.
- Berg A., de Noblet-Ducoudré N., Sultan B., Lengaigne M., Guimberteau M., 2013. Projections of climate change impacts on potential C4 crop productivity over tropical regions. *Agr. Forest Meteorol.*, **170**: 89-102.
- Berner, A., I. Wullschleger, T. al., foldi, M.d. Bertoldi, P. Sequi, B. Lemmes, and T. Papi. 1996.

- Estimation of N-release and N-mineralization of garden waste composts by the mean of easily analysed parameters. In: M. de Bertoldi, P. Sequi, B. Lemmes, T. Papi (eds.), *The Science of Composting: part 2*, pp 1078-1082. UK: Blackie Academic & Professional an imprint of Chapman & Hall.
- Bernal M.P., Navarro A.F., Sanchez-Monedero M.A., Roig A. & Cegarra J., 1998: Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil biology and biochemistry*, **30** (3), 305-313.
- Berling, M., Blachere-Lopez, C., Soubabere, O., Lery, X., Bonhomme, A., Sauphanor, B., Lopez-Ferber, M., 2009. *Cydia pomonella* granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts. *Applied and Environmental Microbiology* **75**, 925–930.
- Bielders C.L., Michels K., Bationo A., 2002. On farm evaluation of ridging and residue management options in a sahelian millet-cowpea intercrop. I. Soil quality change. *Soil Use Manage.*, **18**: 216-222.
- Bieri, M., R. Kaufmann, W. Heller, and A. Berner. 1998. Determination of the quality of pig manure compost. OT: Qualitäts bestimmungen von Schweinemist-Kompost. *Agrarforschung* **5**:33-36.
- Biyada, S., M. Merzouki, T. Dëmčenko, D. Vasiliauskienė, J. Urbonavičius, E. Marčiulaitienė, S. Vasarevičius, and M. Benlemlih, (2020) Evolution of Microbial Composition and Enzymatic Activities during the Composting of Textile Waste. *Applied Sciences*. **10**(11): p. 3758.
- Block, D. 1997. Disease suppression on the links. *BioCycle* **38**:62-65.
- Boehm, M.J., and H.A.J. Hoitink. 1992. Sustenance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of *Pythium* root rot of poinsettia. *Phytopathology* **82**:259-264.
- Boehm, M.J., L.V. Madden, and H.A.J. Hoitink. 1993. Effect of organic matter decomposition level on bacterial species diversity and composition in relationship to *Pythium* damping-off severity. *Applied and environmental microbiology* **59**: 4147- 4179.
- Boisclair, J., Estevez, B., 2006. Lutter contre les insectes nuisibles en agriculture biologique: intervenir en harmonie face à la complexité. *Phytoprotection* **87**, 83–90.
- Boivin, G., 2001. Parasitoïdes et lutte biologique: paradigme ou panacée? Centre de Recherche et de développement en Horticulture, Agriculture et Agroalimentaire Canada, VertigO - La revue en sciences de l'environnement sur le web 2.
- Boller, E.F., Häni, F., Poehling, H.-M., 2004. Ecological infrastructures: ideabook on functional biodiversity at the farm level, temperate zones of Europe. IOBCwprs, Commission on Integrated Production Guidelines and Endorsement, Switzerland.
- Boulter J I., Trevors JT., Boland GJ. Microbial studies of compost: bacterial identification, and their potential for turfgrass pathogen suppression. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **18**: 661–671, 2002.

- Bouzerzour H. and Benmahamed A. (1994). Environmental factor limiting barley grain yield in the high plateaux of eastern algeria. *Rachis*. **12**, 11-14.
- Bradley, G.G., Punja, Z.K.: Composts containing fluorescent *Pseudomonas* suppress fusarium root and stem rot development on greenhouse cucumber. *Can. J. Microbiol.* **56**, 896–905 (2010).
- Bremner, J.M.: Inorganic forms of nitrogen. In: Black, C.A., De Wite J.L.E., Ensminger, L.E., Clark, F.E., (eds) *Methods of Soil Analysis. Part 2*, pp. 1179–1237. American Society of Agronomy, Madison (1965).
- Bresson, L.M., Koch, C., Le Bissonnais, Y., Barriuso, E., Lecomte, V., 2001. Soil surface structure stabilization by municipal compost application. *Soil Sci. Soc. Am.*, **65**: 1804-1811.
- Brinton, W. F. and E. Evans. 2000. Plant performance in relation to depletion, CO₂-rate and volatile fatty acids in container media composts of varying maturity.
- Brinton Jr, W.F. and M.W. Droffner, (1994) Microbial approaches to characterization of composting processes. *Compost Science & Utilization*. **2**(3): p. 12-17.
- Brunner, K.S., and E. Seemuller. 1993. Infection studies with *Phytophthora* species in raspberry and investigations on the effect of composts and preceding crops on infection by *P. fragariae* var. *rubi*. OT: Infektionsversuche mit *Phytophthora*-Arten an Himbeere und Untersuchungen zum Einfluss von Komposten und Vorfrüchten auf den Befall durch *P. fragariae* var. *rubi*. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **45**:1-6.
- Bruns, C., S. Ahlers, A. Gattinger, C. Schuler, H. Vogtmann, G. Wolf, M.d. Bertoldi, P. Sequi, B. Lemmes, and T. Papi. 1996. The suppressive effects of composted separately collected organic waste and yard waste compost on two important soilborne plant pathogens. In: M. de Bertoldi, P. Sequi, B. Lemmes, T. Papi (eds.), *The science of composting: part 2*, pp 1094-1095. UK: Blackie Academic & Professional an imprint of Chapman & Hall.
- Buswell, J.A. and S.-t. Chang, (1994) Biomass and extracellular hydrolytic enzyme production by six mushroom species grown on soybean waste. *Biotechnology letters*. **16**(12): p. 1317- 1322.

C

- Cefrepade, 2008. Compostage des déchets ménagers dans les pays en développement: Modalités de mise en place et de suivi d'installations décentralisées pérennes, 65p.
- Cédric Francoun 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 de doctorat. Institut national agronomique paris-grignon Ecole doctorale abies
- Charnay F., 2005. Compostage des déchets urbains dans les Pays en Développement, Elaboration

d'une démarche méthodologique pour une production pérenne de compost, Thèse de Doctorat, Université de Limoges, p277.

- Charest, M.-H., H. Antoun, and C. Beauchamp, (2004) Dynamics of water-soluble carbon substances and microbial populations during the composting of de-inking paper sludge. *Bioresource Technology*. **91**(1): p. 53-67.
- Chandna, P., L. Nain, S. Singh, and R.C. Kuhad, (2013) Assessment of bacterial diversity during composting of agricultural byproducts. *BMC microbiology*. **13**(1): p. 99.
- Chappell A., Agnew C.T., 2004. Modelling climate change in West African Sahel rainfall (1931- 90) as an artifact of changing station locations. *Int. J., Climatol.*, **24**: 547-54.
- Chennaoui M, Salama Y, Makan A, Mountadar M. 2016. Valorisation agricole d'un compost produit à partir du compostage en cuve des déchets municipaux. *European Scientific Journal* December, **12**(35): 247. DOI: 10.19044/esj.2016.v12n35p247.
- Chen, W., H.A.J. Hoitink, and A.F. Schmitthenner. 1988b. Microbial activity and biomass in container media predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* **78**:314-322.
- Chen, W., H.A.J. Hoitink, A.F. Schmitthenner, and O.H. Tuovinen. 1988a. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* **78**:314-322.
- Chikae M., Ikeda R., Kerman K., Morita Y., Tamiya E., 2006. Estimation of maturity of compost from food wastes and agro-residues by multiple regression analysis. *Bioresource Technology*, **97**, 1979–1985.
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V. et Lugtenberg, B. J. J. (2003). Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytologist* **157**, 503-523.
- Chung, Y.R., and H.A.J. Hoitink. 1990. Interactions between thermophilic fungi and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in a bark compost amended container medium. *Phytopathology* **80**:73-77.
- Clark SC, Rylander R, Larsson L. Levels of Gram-negative bacteria, *Aspergillus fumigatus*, dust and endotoxin at compost plants. *Appl Environ Microbiol* 1983;**45**(5):1501- 05.
- Cohen, R., B. Chefetz, and Y. Hadar. 1998. Suppression of soil-borne pathogens by composted municipal solid waste. In: S. Brown, J.S. Angle, L. Jacobs (eds.). *Beneficial co-utilization of agricultural, municipal and industrial by-products*, pp 113-130. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Compaoré E., Nanema L.S., Bonkougou S., Sedogo M.P., 2010. Evaluation de la qualité de composts de déchets urbains solides de la ville de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso pour une utilisation efficiente en agriculture. *J. Appl. Biosci.*, **33**: 2076-2083.

- Cook R.J. (1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* **31**, 53–80.
- Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Bangera, G. et Kim, D. S. (1995). Molecular Mechanisms of Defense by Rhizobacteria Against Root Disease. *PNAS* **92**, 4197-4201.
- Cotxarrera, L., G.M.I. Trillas, C. Steinberg, and C. alabouvette. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress Fusarium wilt of tomato. *Soil Biology and Biochemistry* **34**:467-476.
- Corbaz R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. *Presse polytechniques et universitaires romandes*.
- Craft, C.M., and E.B. Nelson. 1996. Microbial properties of composts that suppress dampingoff and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Applied and Environmental Microbiology* **62**:1550-1557.
- Crawford, D.L., J.M. Lynch, J.M. Whipps, and M.A. Ousley. 1993. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* **59** : 3899-3905.
- Cronin, M.J., D.S. Yohalem, R.F. Harris, and J.H. Andrews. 1996. Putative mechanism and dynamics of inhibition of the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* by compost extracts. *Soil Biology and Biochemistry* **28**:1241-1249.
- Cunha-Queda, A.C., Ribeiro, H.M., Ramos, A., Cabral, F.: Study of biochemical and parameters during composting of pine and eucalyptus bark. *Bioresour. Technol.* 98, 3213–3220 (2007)

D

- Danon, M., I.H. Franke-Whittle, H. Insam, Y. Chen, and Y. Hadar, (2008) Molecular analysis of bacterial community succession during prolonged compost curing. *FEMS Microbiology Ecology*. **65**(1): p. 133-144.
- Day, M. and K. Shaw, (2001) Biological, chemical and physical processes of composting. *Compost utilization in horticultural cropping systems*: p. 17-50.
- Delaney, S. M., Mavrodi, D. V., Bonsall, R. F. et Thomashow, L. S. (2001). phzO, a Gene for Biosynthesis of 2-Hydroxylated Phenazine Compounds in *Pseudomonas Aureofaciens* 30-84. *J Bacteriol* **183**, 318-327.
- Delaunay N. Une approche du risque microbiologique aéroporté dans une station de compostage industriel d'ordures ménagères. Thèse de doctorat en médecine, 1997. Grenoble.
- Deloraine A., Hedreville L., Arthus C., 2002. Étude bibliographique sur l'évaluation des risques

liés aux bio-aérosols générés par le compostage des déchets, Angers, France, Ademe & Careps, Mars, 163.

Dieng M., Anna Sow Diedhiou et Falilou Mbacké sambe 2019 : Valorisation par compostage des déchets solides fermentescibles collectés à l'Ecole Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar: Etude de l'effet phytotoxique sur des plants de maïs et d'arachide; International Journal of Biological and Chemical Sciences **13(3)**: 1693-1704, June 2019

Dissanayake, N., and J.W. Hoy. 1999. Organic material soil amendment effects on root rot and sugarcane growth and characterization of the materials. Plant Disease 83:1039- 1046

Diab, H.G., S. Hu, and D.M. Benson. 2003. Suppression of *Rhizoctonia solani* on impatiens by enhanced microbial activity in composted swine waste-amended potting mixes. Phytopathology **93**:1115-1123.

Dix, N.J., Webster, J.: Fungal Ecology, p. 549. Chapman and Hall, Cambridge (1995).

Doumbou C.L., M.K. Hamby Salove, D.L. Crawford, Carole Beaulieu 2001. Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. Phytoprotection - Quebec- **82(3)** : 85

Drancourt M, Bollet C, Carlouz A, Martelin R, Gayral JP, Raout D (2000). 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. J. Clin. Microbiol. **38**: 3623-3630.

Driesche Van R.G. and Bellows T.S. (1996). Biological control. Chapman and Hall. U.S.A.

Droffner, M.L., Brinton, W.F. Jr., Evans, E.: Evidence for the prominence of well characterized mesophilic bacteria in thermophilic (50–70 °C) composting environments. Biomass Bioenergy 8(3) 191–195 (1995)

E

Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl **46**, 387–400.

Eiland F., Klamer M., Lind A., Leth M., Baath E., 2001 : Influence of initial C/N ratio on chemical and microbial composition during long-term composting of straw. Microbial Ecology, **41**,272–280.

El-abagy, Moharned M. and H.T. El-Zonfaly, 1984. Bacterial Removal by Anaerobic Digestion, Environmental International **10**: 25 1-258.

Elad, Y., and D. Shtienberg. 1994. Effect of compost water extracts on grey mould (*Botrytis cinerea*). Crop Protection **13**:109-114.

- EL AJHAR Laila , EL KHACHINE Douae , EL BAKOURI Ahmed , EL KHARRIM Khadija1 & BELGHYTI Driss (2018). Evolution de la pluviométrie de 1960 à 2015 au maroc. International journal of research science & MANAGEMENT **10**.5281/zenodo.1465732.
- El Fels, L.: Suivi physico-chimique, microbiologique, et ecotoxicologique du compostage de boues de step mélanges a des déchets de palmier: validation de nouveaux indices de maturité, Thèse de doctorat, Université Caddi Ayyad, Faculté des sciences Semlalia, Marrakech, p. 295 (2014).
- El Hassni M., El Hadrami A., Daayf F., Chérif M., Ait Barka E. and El Hadrami I. (2007). Biological control of bayoud disease in date palm: Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions. Environ Exp Bot, **59**: 224–234.
- El Guendouzi S., 2014. Isolement et identification de bactéries sécrétant des substances à effet antimycobactérien, caractérisation partielle des métabolites bioactifs et étude préliminaire de leur mode d'action. Thèse de 3eme cycle, Université Sidi mohamed ben abdellah Faculté des sciences et techniques. Fès. Maroc.
- El-Naggar M.M.A. and B. K.M.I., (2009) Antipneumonia agent(s) from marine bacteria. Journal of Natural Products. **2**: p. 40-48.
- El-Tarabily Khaled A. · Sivasithamparam Krishnapillai Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. The Mycological Society of Japan and Springer-Verlag Tokyo
- Emmert E. A. B and Handelsman J. (1999). Biocontrol of plant disease : a (Gram-) positive perspective. *FEMS. Microbiol. Lett.* **171**, 1-9.
- Epstein, E., (1996) The science of composting. CRC press.
- Erhart, E., K. Burian, W. Hartl, and K. Stich. 1999. Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. Journal of Phytopathology **147** :299-305.
- Errakhi R. (2008). Contribution d'actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc.
- Errakhi R., A. Lebrihi and M. Barakate 2009. In vitro and in vivo antagonism of actinomycetes isolated from Moroccan rhizospheric soils against *Sclerotium rolfsii* : a causal agent of root rot on sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072

F

- Faverial Julie 2016. Thèse de doctorat. Compostage et vermi-compostage des effluents d'élevage. Une alternative durable pour le recyclage Des déchets d'origine animale. L'Université des Antilles.
- Filippi, C., and G. Bagnoli. 1992. A relation between nitrogen deficiency and protective effect against

- tracheo-fusariosis (*Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*) in carnation plants. *Zentralblatt für Mikrobiologie* 147 :345-350.
- FIMAB (Fédération Internationale des Mouvements d'Agriculture Biologique), 2004. Manuel de formation de l'IFOAM sur l'agriculture biologique dans les pays tropicaux. FIBL, Institut de recherche de l'agriculture biologique, Frick, Suisse.
- Fokkema, N.J. 1993 Opportunities and problems of control of foliar pathogens with micro organisms. *Pesticide Science* 37, 411–416.
- Fonseca A. B., Wesgate M. E., 2005. Relationship between desiccation and viability of maize pollen. *Field Crops. Res.*, 94 : 114-125.
- Fourti, O., Jedidi, N., Hassen, A., 2013. Physico-chemical aspects during the composting of municipal solid wastes and sewage sludge in a semi-industrial composting plant. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7, 1055-1068.
- Fracchia, L., A.B. Dohrmann, M.G. Martinotti, and C.C. Tebbe, (2006) Bacterial diversity in a finished compost and vermicompost: differences revealed by cultivation-independent analyses of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Applied microbiology and biotechnology*. 71(6): p. 942.
- 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 de Doctorat, Institut national agronomique Paris- Grignon, 289p.
- Fravel D.R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 43, 337-359.
- Fuchs, J. 1995a. Quelle qualité de compost pour l'utilisateur ? *Forschungsbericht des 2. Oltner Kompost- und Gartenforum*, 27.-30 September 1995. Herausgeber Büro composto, pp 97-103
- Fuchs, J.G., and M. Bieri. 2000. Neue Pflanzentests, um die Kompostqualität zu charakterisieren. *Agrarforschung* 7:314-319.
- Fuchs, J., U. Galli, K. Schleiss, and A. Wellinger. 2001. Directive de l'ASIC : Caractéristiques de qualité des composts et des digestats provenant du traitement des déchets organiques. Document élaboré par Association Suisse des installations de compostage (ASIC) en collaboration avec le Forum Biogaz Suisse. CH-3322, Schönbühl, pp 11.
- Fuchs, J.G. 2002. Practical use of quality compost for plant health and vitality improvement. In: S. Klammer (ed.), *Microbiology of Composting*, pp 435-444., Berlin Heidelberg: Springer-Verlag
- Fuchs, J., and M. Larbi. 2004. Disease control with quality compost in pot and field trails. Paper presented at International Conference on soil and Composts eco-biology. SoilACE, Biomase Peninsular, C/Cartagena, 58, 1, SP-Madrid 28028. León-Spain, 15- 17. Sep. 2004:157-166

G

- Garcia, C.: Study on water extract of sewage sludge composts. *Soil Sci. Plant Nutr.* **37**, 399–408 (1991).
- Garcia C.A., Berbara L.L.R., Farias P.L., Izquierdo F., Hernandez O.L., Compos H.R., Castro M.R., 2012. Humic acids of vermicompost as an ecological pathway to increase resistance of rice seedlings to water stress. *Afr. J. Biotechnol.*, **11 (13)**:3125-3134.
- Gautam A K., Sharma S., Avasthi S., Bhadauria R. 2011. Diversity, pathogenicity and toxicology of *A. niger*: An important Spoilage Fungi, *Research Journal of Microbiology*, **6**: 270-280.
- Gent, M.P.N., J.A. LaMondia, F.J. Ferrandino, W.H. Elmer, and K.A. Stoner. 1999. The influence of compost amendment or straw mulch on the reduction of gas exchange in potato by *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans*. *Plant Disease* **83**:371-376.
- Ghazifard, A., R. Kasra-Kermanshahi, and Z.E. Far, (2001) Identification of thermophilic and mesophilic bacteria and fungi in Esfahan (Iran) municipal solid waste compost. *Waste management & research*. **19(3)**: p. 257-261.
- Getha, K., Vikineswary, S. Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense race 4: Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. *J Ind Microbiol Biotech* **28**, 303–310 (2002). <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000247>
- Gibbs, R., C. Hu, J. Sidhu, G. Ho, and N. Penney, (1998) Risks associated with human pathogens in composted biosolids. *Proceedings of Watertech, Australian Water and Wastewater Association*.
- Gladden L. A., Wang Y., Hsieh C., Tsou I., 2012. Using deficit irrigation approach for evaluating the effects of water restriction on field tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Afr. J. Agri. Res.*, **7 (14)** : 2083-2095.
- Glick B. R., Bashan Y. (1997). Genetic manipulation of plant growth promoting bacteria to enhance biocontrol of fungal phytopathogens. *Biotechnol. Adv.* **15** 353–378. 10.1016/S0734-9750(97)00004-9 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Gobat J. M., Aragno M. et Matthey W. (2003). *Le sol vivant bases de pédologie biologie des sols*. Deuxième édition, Presse polytechniques et universitaires romandes. 568 pp.
- Godden B., 1986: Les tests enzymatiques et chimiques de maturité des composts. *Compost Information*, **22**, 20-24.
- Godden B., 1995. La gestion des effluents d'élevage. Techniques et aspect du compostage dans une ferme biologique. *Revue de l' Ecologie*, **13**: 37.
- Golueke, C., (1985) Cycles of community waste composting. *Biocycle*. **26(3)**: p. 32-35.
- Goyal, S., S. Dhull, and K. Kapoor, (2005). Chemical and biological changes during composting of

different organic wastes and assessment of compost maturity. *Bioresource technology*. **96(14)**: p. 1584-1591.

Goyer C. and Beaulieu C. (1997). Host range of *Streptomyces* causing common scab. *Plant Dis.* **81**, 901-904.

Guittouny-Larcheveque M., 2004 : Valorisation d'un compost de boues urbaines en garrigue pour le reboisement, Comportement des jeunes arbres d'une plantation et modifications de la dynamique de la végétation naturelle après amendement, Doctoral thesis, Université Paul Cezanne Aix-Marseille III, France, 227 p.

H

Haas D., et Défago G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature reviews microbiology*. **3(4)** :307.

Hachicha, R., Hachicha, S., Trabelsi, I., Woodward, S., Mechichi, T.: Evolution of the fatty fraction during co-composting of olive oil industry wastes with animal manure, maturity assessment of the end product. *Chemosphere* **75**, 1382–1386 (2009).

Hachicha, S., F. Sellami, J. Cegarra, R. Hachicha, N. Drira, K. Medhioub, and E. Ammar, (2009) Biological activity during co-composting of sludge issued from the OMW evaporation ponds with poultry manure—Physico-chemical characterization of the processed organic matter. *Journal of Hazardous Materials*. **162(1)**: p. 402-409.

Hadar, Y., and R. Mandelbaum. 1986. Suppression of *Pythium aphanidermatum* damping-off in container media containing composted liquorice roots. *Crop protection* **55**:88-92.

Hafidi M., 2011: Biodégradation des déchets organiques par la filière du compostage; atouts et limites. Communication scientifique, Colloque scientifique sur la gestion et la valorisation des déchets solides des villes Africaines, Lomé (Togo), 30 mai au 1^{er} juin 2011.

Hamaki, T., Suzuki, M., Fudou, R., Jojima, Y., Kajiura, T., Tabuchi, A., Sen, K., Shibai, H.: Isolation of novel bacteria and actinomycetes using soil-extract agar medium. *J. Biosci. Bioeng.* **99**, 485–492 (2005)

Hamdali, H.: Criblage et caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales solubilisatrices du phosphate naturel isolées à partir des gisements de phosphate marocains. Thèse de doctorat National, Faculté Semlalia Cadi Ayyad Marrakech, Maroc, Université de Paris-Sud. Faculté des Sciences d'Orsay (Essonne), (2008)

Hao X., Stanford K., McAllister T.A., Larney F.J., Xu S., 2009: Greenhouse gas emissions and final compost properties from co-composting bovine specified risk material and mortalities with manure. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **83**, 289-299.

Haouas, A., El Modafar, C., Douira, A., Ibsouda-koraichi, S., Filali-maltouf, A., Moukhli, A., Amir, S., 2020. The effect of phosphate and organic additives on the stability of food waste in the

- full-scale composting. *Plant cell biotechnology and molecular biology* 21 (39–40), 17–28
<https://ikprress.org/index.php/PCBMB/article/view/5428>.
- Harada Y., Inoko A., Tadaki M., Izawa T., 1981: Maturing process of city refuse compost during piling. *Soil Science and Plant Nutrition*, **27**, 357-364.
- Harbouze. R ,J.-P.Pellissier,J.-P.Rolland,W.Khechimi, 2019. Rapport de synthèse sur l'agriculture au Maroc. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02137637>
- Hardy, G.E.S.J., and K. Sivasithamparam. 1991. Suppression of *Phytophthora* root rot by a composted Eucalyptus bark mix. *Australian Journal of Botany* **39**:153-159.
- Harender, R., I.J. Kapoor, and H. Raj. 1997. Possible management of Fusarium wilt of tomato by soil amendments with composts. *Indian Phytopathology* **50**:387-395.
- Haruta S., Nakayama T., Nakamura K., Hemmi H., Ishii M., Igarashi Y. & Nishino T., 2005: Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes of garbage. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **99**, 1-11.
- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., Boudabous, A.: Microbial characterisation during composting of municipal solid waste. *Bioresour. Technol.* **80**, 217–225 (2001)
- Hassi M, Haggoud A, EL Mzibri M, Ibensouda S, Houari A, Iraqui M (2007). Isolation and identification of a staphylococcal strain with an anti-mycobacterial activity and study of its mode of action. *Ann. Microbiol.* **57(4)**: 651-656.
- Hay, J.C., (1996) Pathogen destruction and biosolids composting. *Biocycle*. **37(6)**: p. 67-76.
- Hefnawy, M., M. Gharieb, and O.M. Nagdi, (2013) Microbial diversity during composting cycles of rice straw. *Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res.* 1: p. 232-245.
- Heller, W.E. 1999. Nitrogen mineralisation of composts in an incubation assay. OT: Stickstoff-Mineralisierung aus Komposten im Brutversuch. *Agrarforschung* **6**:75-77.
- Herrmann R.F., Shann J.F., 1997: Microbial community changes during the composting of municipal solid waste. *Microbial Ecology*, **33**, 78-85.
- Hoitink, H.A.J., and P.C. Fahy. 1986. Basis for control of soilborne pathogens with compost. *Annual Review of Phytopathology* **24**:93-114.
- Hoitink, H.A.J., Y. Inbar, and M.J. Boehm. 1991. Status of compost-amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops.
- Hoitink, H.A.J., and H.M. Keener. 1993. Science and engineering of composting: Design, environmental, microbiological and utilization aspects, pp 728. Renaissance Publications, Worthington, Ohio.
- Hoitink, H.A.J., A.G. Stone, and D.Y. Han. 1997. Suppression of plant diseases by composts. *HortScience* **32**:184-187.

- Hoffmann, G.M., Nienhaus, F., Schönbeck, F., Weltzien, H.C., Wilbert, H., 1994. Lehrbuch der Phytomedizin. Blackwell Wissenschafts Verlag, Berlin.
- Hongthani, W., Chanthai, S., Bunyarachata, W., Ruangvirityachai, C. , (2007). Production and analysis of antibiotic phenazine from *Pseudomonas aeruginosa*. *KKU Sci J.* . **35**: p. 49-59.
- Horst, L.E., J. Locke, C.R. Krause, R.W. McMahon, and H.A.J. Hoitink. 2005. Suppression of Botrytis Blight of Begonia by *Trichoderma hamatum* 382 in Peat and Compost- Amended Potting Mixes. *Plant Disease* **89**:1195-1200.
- Houot S., Francou C., Lineres M et Le villio M., 2002. "Gestion de la maturité des composts, conséquence sur leur valeur amendante et la disponibilité de leur azote - seconde partie" *Echo MO*, **35**, 3-4.

I

- Islam Md. A.I, Nain Z., al., am Md. K., Akhter Banu N A., Islam Md. R. 2018. In vitro study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, **28**:90. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0097-1>
- Ishii, K., M. Fukui, and S. Takii, (2000) Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology*. **89(5)**: p. 768-777.
- Iglesias-Jimenez E., Perez-Garcia, V., 1989: Evaluation of city refuse compost Maturity. *Biological Wastes*, **27**, 115-142.
- Iglesias-Jimenez E., Perez Garcia V., Espino M., Hernandez J.M., 1993 : City refuse compost as a phosphorus source to overcome the P-fixation capacity of sesquioxide-rich soils. *Plant and Soil*, **148**,115-127.

J

- Jiménez, E.I., Garcia, V. P. (1992). Composting of domestic refuse and sewage sludge. I. Evolution of temperature, pH, C/N ratio and cation-exchange capacity. *Bioresour. Technol.* **41(3)** : 265–272.
- Jimenez A. E. -Esquili'n Æ T. M. Roane. 2005. Antifungal activities of actinomycete strains associated with high-altitude sagebrush rhizosphere. *J Ind Microbiol Biotechnol* (2005) **32** : 378–381
- Jijakly M.H. (2003). La lutte biologique en phytopathologie, *In* : *Phytopathologie*. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles.
- Jones, P. and M. Martin, (2003). A review of the literature on the occurrence and survival of pathogens of animals and humans in green compost. WRAP standards report. The Waste and Resources Action Programme, Oxon, United Kingdom.

- Jouraihy, A.: Compostage des boues activées déchets verts, analyse physicochimiques, microbiologiques, toxicologiques, bilan humique et valorisation agronomique, Thèse de doctorat, Université Caddi Ayyad. Faculté des sciences Semlalia, Marrakech (2007).
- Jourdheuil, P., Grison, P., Fraval, A., 2002. La lutte biologique : un aperçu historique. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), Laboratoire de Zoologie, Le Courrier de l'Environnement de l'INRA n°15.
- Julie Faverial 2016. Compostage et vermicompostage des effluents d'élevage. Une alternative durable pour le recyclage des déchets d'origine animale. Thèse de doctorat, L'Université des Antilles, INRA Antilles-Guyane.

K

- Kaszab, E.: The importance of *Pseudomonas aeruginosa* on environmental safety in media under anthropogenic affect. Ph.D. Thesis. Szent István University, p. 21 (2010).
- Khalil, A.I., Beheary, M.S., Salem, E.M.: Monitory of microbial population and their cellulolytic activities during the composting of municipal solid wastes. W. J. Microb. Biotech. 17, 155–161 (2001).
- Khamna S. , A Yokota, S Lumyong 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. World Journal of Microbiology and Biotechnology.
- Kim, J. and X. Jiang, (2010) The growth potential of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella spp.* and *Listeria monocytogenes* in dairy manure-based compost in a greenhouse setting under different seasons. Journal of applied microbiology. 109(6): p. 2095-2104.
- Kishore GK, Pande S, Podile AR (2005) Biological control of collar rot disease with broad- spectrum antifungal bacteria associated with groundnut. Canadian Journal of Microbiology 51, 123–132. doi: 10.1139/w04-119.
- Kishore G. K. Pande S. Podile A. R. 2006. *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergillus niger* and activates defence-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. Australasian Plant Pathology, 35: 259–263.
- Klamer M., Baath E., 1998: Microbial community dynamics during composting of straw material studied using phospholipid fatty acid analysis. FEMS Microbiology Ecology, 27, 9- 20.
- Knicker, H.: Stabilization of N-compounds in soil and organicmatter- rich sediments what is the difference? Mar. Chem. 92, 167–195 (2004).
- Kodaka, H., Iwata, M., Yumoto, S., Kashitani, F.: Evaluation of a new agar medium containing cetrimide,

- kanamycin and nalidixic acid for isolation and enhancement of pigment production of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples. *J. Basic Microbiol.* 43, 407–413 (2003)
- Kodaka, H., M. Iwata, S. Yumoto, and F. Kashitani, (2003) Evaluation of a new agar medium containing cetrimide, kanamycin and nalidixic acid for isolation and enhancement of pigment production of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms.* 43(5): p. 407-413.
- Kolani L., 2007. Effets de différents types de composts élaborés à base de coques de grains de coton sur le rendement en grain de maïs; mémoire d'Ingénieur agronome, 91p.
- Koledzi K. E., 2011. Valorisation des déchets solides urbains dans les quartiers de Lomé (Togo): Approche méthodologique pour une production durable de compost. Mémoire de Thèse de Doctorat, 224p.
- Koledzi K. E., Baba G., Tchangbedji G., Agbeko K., Matejka G., Feuillade G., Bowen J., 2011. Experimental study of urbans waste composting and evaluation of it's agricultural valorization in Lomé (Togo). *Asian J. Appl. Sci.*, 4 (4):378-391.
- Korniłowicz-Kowalska, T. and J. Bohacz, (2010) Dynamics of growth and succession of bacterial and fungal communities during composting of feather waste. *Bioresource technology.* 101(4): p. 1268-1276.
- Kousser, C., C. Clark, S. Sherrington, K. Voelz, and R.A. Hall, (2019) *Pseudomonas aeruginosa* inhibits *Rhizopus microsporus* germination through sequestration of free environmental iron. *Scientific reports.* 9(1): p. 1-14.
- Kulshreshtha, G. and P. Velusamy, (2012) Antibacterial potential of bioactive compounds from fermented culture of *Pseudomonas aeruginosa* SRM1 against *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Minerva Biotecnologica.* 24(2): p. 29.
- Kuter, G.A., E.B. Nelson, H.A.J. Hoitink, and L.V. Madden. 1983. Fungal population in container media amended with composted hardwood bark suppressive and conductive to *Rhizoctonia solani* damping-off. *Phytopathology* 73:1450-1456.

L

- Lacey J, Williamson PAM, King P. Airborne micro-organisms associated with domestic waste composting. Warren Spring Laboratory eds, ISBN 1991; 0 85624 666 2: 36pages.
- Lacey J, Williamson PAM, Crook B. Microbial emissions from composts made from mushroom production and domestic waste. In: Composting and compost quality assurance criteria. Commission of the european communities publisher 1992. EUR 14254 EN. 429 pages : 117-30.
- Lakhdar L., hafsi C., Rabhi M., Debez A., Montemurro F., Abdelly C., Jedidi N., Ouerghi Z., 2008. Nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique. Thèse de Doctorat, université Paul Cézanne Aix-Marseille III, France, 170p.

- Lamondia, J.A., M.P.N. Gent, F.J. Ferrandino, W.H. Elmer, and K.A. Stoner. 1999. Effect of compost amendment or straw mulch on potato early dying disease. *Plant Disease* 83:361-366.
- Larbi, M.: Influence de la qualité des composts et de leurs extraits sur la protection des plantes contre les maladies fongiques. Ph D Thesis. Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel Institut de Botanique (Laboratoire sol et végétation). p. 137 (2006).
- Larkin Robert P. and Fravel Deborah R. 1999. Mechanisms of Action and Dose-Response Relationships Governing Biological Control of Fusarium Wilt of Tomato by Nonpathogenic Fusarium spp. Biocontrol of Plant Diseases Laboratory, Beltsville, MD 20705.
- Lavoie J, Marchand G. Détermination des caractéristiques à considérer d'un point de vue de santé et sécurité des travailleurs dans les centres de compostage des déchets domestiques. Etudes et Recherches : rapport IRSST, Institut de recherches en santé et en sécurité du travail du Québec, Juin 1997; 1-37.
- La 4ème édition de la conférence internationale de SAWIS sous le thème : « IT, Technologies Géospatiales et Ressources en eau en Méditerranée », organisée à l'ENSA d'Al Hoceima les 11 & 12 Mars 2020.
- Lehtonen M.J., Rantala H., Kreuze J.F., Bang H., Kuisma L., Koski P., Virtonen E., Vihlman K. and Valkonen J.P.T. (2004). Occurrence and survival of potato scab pathogens (*Streptomyces* species) on tuber lesions: quick diagnosis based on a PCR-based assay. *Plant pathol.* 53, 280-287.
- Leifeld, J., Siebert, S. & Kogel-Knabner, I. 2001. Stabilization of composted organic matter after application to a humus-free sandy mining soil. *Journal of Environmental Quality* 30, 602-607.
- Lemanceau, P., Expert, D., Gaymard, F., Bakker, P.A.H.M. and Briat, J.F., 2009. Role of iron in plant-microbe interactions. *Adv. Bot. Res.* 51: 491-549.
- Lemunier, M., C. Francou, S. Rousseaux, S. Houot, P. Dantigny, P. Piveteau, and J. Guzzo, (2005) Long-term survival of pathogenic and sanitation indicator bacteria in experimental biowaste composts. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(10): p. 5779-5786.
- Levanon, D. and D. Pluda, (2002) Chemical, physical and biological criteria for maturity in composts for organic farming. *Compost Science & Utilization*. 10(4): p. 339-346.
- Levy, J.S., Taylor, B.R.: Effects of pulp mill solids and three composts on early growth of tomatoes. *Bioresour. Technol.* 89, 305-397 (2003).
- Lhadi, E.K., Tazi, H., Aylaj, M., Genevini, P.L., Adani, F.: Organic matter evolution during co-composting of the organic fraction of municipal waste and poultry manure. *Bioresour. Technol.* 97, 2117-2123 (2006).
- Li, Z., A.J. Clarke, and T.J. Beveridge, (1998) Gram-negative bacteria produce membrane vesicles which

are capable of killing other bacteria. *Journal of bacteriology*. 180(20): p. 5478- 5483.

Liang C., Das K.C. McClendon R.W., 2003: The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a solids composting blend. *Bioresource Technology*, 86, 131-137.

López-González, J.A., M. del Carmen Vargas-García, M.J. López, F. Suárez-Estrella, M. Jurado, and J. Moreno, (2014) Enzymatic characterization of microbial isolates from lignocellulose waste composting: chronological evolution. *Journal of environmental management*. 145: p. 137-146.

Lucas, J.A. 1998 *Plant pathology and plant pathogens*, 3rd edn. 247 pp. Osney Mead, Oxford: Blackwell Science, Ltd. ISBN 0632030461.

Luo, Y., Liang, J., Zeng, G., Chen, M.: Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. *Waste Manag.* 71, 109–114 (2018).

Lumsden, R.D., J.A. Lewis, and P.A. Millner. 1983. Effect of composted sewage sludge on several Soil borne pathogens and diseases. *Phytopathology* 73:1543-1548.

M

Magin V. 2019. Exploitation du potentiel des bactériophages dans le traitement des surfaces en contact avec l'eau, contaminées par un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*, Thèse de 3eme cycle, à l'école nationale supérieure Mines-télécom atlantique Bretagne pays de la loire.

Mahajan-Miklos, S., Tan, M. W., Rahme, L. G. et Ausubel, F. M. (1999). Molecular mechanisms of bacterial virulence elucidated using a *Pseudomonas aeruginosa*-*Caenorhabditis elegans* pathogenesis model. *Cell* 96, 47-56.

Maluf, H.J.G.M., C.A. Silva, E.G.d. Morais, and L.H.D.d. Paula, (2018) Is Composting a Route to Solubilize Low-Grade Phosphate Rocks and Improve MAP-Based Composts? *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 42.

Mandelbaum, R., and Y. Hadar. 1990. Effects of available carbon source on microbial activity and suppression of *Pythium aphanidermatum* in compost and peat container media. *Phytopathology* 80:794-804.

Mao W., Lewis A., Lumsden R.D. and Hebbar K.P. (1998). Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants. *Crop Prot.* 17, 535-542.

Mathur S.P., Owen G., Dinel H., Schnitzer M., 1993: Determination of compost maturity, II optical density of water extracts of composts as a reflection of their maturity. *Biological Agriculture and Horticulture*, 1993, 10, 87–108.

Mavrodi, D. V., Ksenzenko, V. N., Bonsall, R. F., Cook, R. J., Boronin, A. M. et Thomashow, L. S. (1998).

- A Seven-Gene Locus for Synthesis of Phenazine-1-Carboxylic Acid by *Pseudomonas Fluorescens* 2-79. *J Bacteriol* 180, 2541-2548.
- Mavrodi, D. V., Blankenfeldt, W. et Thomashow, L. S. (2006). Phenazine Compounds in *Fluorescent Pseudomonas Spp.* Biosynthesis and Regulation. *Annu Rev Phytopathol* 44, 417-445.
- Mayer, S.E., McArthur, E.D., Jorgensen, G.L.: variation in germination response to temperature in rubber rabbitbrush (*Chrysothamnus nauseosus*: asteraceae) and its ecological implications. *AM. J. Bot.* 76, 981–991 (1989).
- Mazzola, M., Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M. et Pierson, L. S. (1992). Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. *Appl Environ Microbiol* 58, 2616-2624.
- Mbuligwe S.E., Kassenga G.R., Kaseva M.E., Chaggu E.J., 2002: Potential and constraints of composting domestics solid waste in developing countries, findings from a pilot study in Dares Salaam. *Resources Conservation and Recycling*, 36, 45-59.
- McQuilken, M.P., J.M. Whipps, and J.M. Lynch. 1994. Effects of water extracts of a composted manure -straw mixture on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 10:20-26.
- Mehta C.M., Uma Palni U., Franke-Whittle I.H., Sharma A.K. 2013b. Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant, *Waste Management.*, 16: xxx–xxx. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.11.012>.
- Merf, 2009. Plan d'action national d'adaptation aux changements climatiques (PANA). Ministère de l'Environnement et des Ressources Forestières, Togo, 113p.
- Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F. and Lafon R. (1991). Les maladies des plantes maraîchères. INRAA, Paris.
- Miller, F.C.: Composting of municipal solid waste and its components. In: Palmisano, A.C., Barlaz, N.A. (eds.) *Microbiology of Solid Waste*, pp. 115–154. CRC Press, Boca Raton (1996).
- Miller, F.C., (1991) Biodegradation of solid wastes by composting. *Biological degradation of wastes*. 1: p. 1-30.
- Millner, P., S. Olenchock, E. Epstein, R. Rylander, J. Haines, J. Walker, B. Ooi, E. Horne, and M. Maritato, (1994) Bioaerosols associated with composting facilities. *Compost science and utilization (USA)*.
- Mina E, Sanae S, Khadija E, Fatima B, Zahra D, Belghyti D. 2013. Caractérisation physico chimique du lixiviat de la décharge d' Ouled berjal (Kenitra, Maroc). *Sciences Lib Editions Marsenne*, 5(13) : 211-232. DOI: 10.19044/esj.2017.v13n33p154.

- Ministry of Health of Morocco, NM 03.7.001, Moroccan standard for the quality of water for human consumption (Official Bulletin No. 5404, 2006)
- Morel J.L., Guckert A., Nicolardot B., Benistant D., Catroux G., Germon J.C., 1986 : Etude de l'évolution des caractéristiques physicochimiques et de la stabilité biologique des ordures ménagères au cours du compostage. *Agronomie*, 6, 8, 693-701.
- Mustin, M.: Le compost, gestion de la matière organique. Edition Français Dubus, Paris (1987)

N

- Naclerio G., Ricca E., Sacco M., Maurilio De Felice. (1993). Antimicrobial Activity of a Newly Identified Bacteriocin of *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 59 (12): 4313-4316.
- Nakasaki, K., M. Kubo, H. Kubota. 1996. Production of functional compost which can suppress phytopathogenic fungi of lawn grass by inoculating *Bacillus subtilis* into grass clippings. In: M. de Bertoldi, P. Sequi, B. Lemmes, and T. Papi (eds.), *The science of composting: Part 1*, pp 87-95. Blackie Academic & Professional an imprint of Chapman & Hall.
- Nakasaki, K., S. Hiraoka, and H. Nagata. 1998. A new operation for producing disease suppressive compost from grass clippings. *Applied and Environmental Microbiology* 64:4015-4020.
- Namkoong, W. and E.-Y. Hwang, (1997) Operational parameters for composting night soil in Korea. *Compost Science & Utilization*. 5(4): p. 46-51.
- Nansathit, A., C. PHAOSIRI, P. Pongdontri, S. Chanthai, and C. Ruangviriyachai, (2009) Synthesis, isolation of phenazine derivatives and their antimicrobial activities. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*. 6(1): p. 79-91
- Nautiyal C.S. (2000). Biocontrol of plant diseases for agricultural sustainability. *In: Biocontrol potential and its exploration in sustainable agriculture*. Upadhyay R.K., Mukherji K.G., Chamola B.P. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA. 9-23.
- Nelson, E.B., F.A. Kuter, and H.A.J. Hoitink. 1983. Effects of fungal antagonists and compost age on suppression of *Rhizoctonia* damping off in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology* 73:1457-1462.
- Nelson, E.B., and M.J. Boehm. 2002. Microbial mechanics of compost-induced disease suppression. *BioCycle* 43:45-47.
- Neuweiler, R., and W. Heller. 1998. Growing techniques and cultivar choice of summer raspberries. OT: Anbautechnik und Sortenwahl bei Sommerhimbeeren. *Obst und Weinbau* 134:97-99.
- NF U 44-051: French Association of Normalizations: Amendements organiques Dénominations, spécifications et marquage (Indice de classement : U44-051), (2006).

- NF U 44-095: French Association of Normalizations Amendements organiques-Composts contenant des matières d'intérêt agronomique, issues du traitement des eaux (Indice de classement : U44-095), (2002).
- Nitschke, M., Aeaoujo, L. V., Costa, S. G. V. A. O., Pires, R. C., Zeraik, A. E., Fernandes, AC. L. B., Frieire, D. M. G., Costiero, J. (2009). Surcaftin reduces the adhesion of food-borne pathogenic bacteria to solid surfaces. *Letters in Applied Microbiology*, 49,241-247.
- NM ISO 6888-1-2008: Microbiologie des aliments – méthode horizontale pour dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autre espèce) –Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker ; Rév (ICO8.0.150), p. 21 (2008)
- NM 08.0.125: Microbiologie des aliments : Dénombrement en anaérobiose des bactéries Sulfito-réducteurs par comptage des colonies – Méthode de routine. Service de Normalisation Industrielle Marocaine, SNIMA (2006).
- NM, M., (2009) NM 08.0.124: Microbiologie des aliments: Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C. Service de Normalisation Industrielle Marocaine, SNIMA, Rabat.
- NM, M., (2008) NM ISO 6888-1 : Microbiologie des aliments – méthode horizontale pour dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autre espèce) –Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker ; Rév (ICO8.0.150). p. 21.
- NM, M., (2006) NM 03.7.001: Ministry of Health of Morocco, Moroccan standard for the quality of water for human consumption (Official Bulletin No. 5404).
- NM, M., (2006) NM 08.0.125: Microbiologie des al., iments : Dénombrement en anaérobiose des bactéries Sulfito-réducteurs par comptage des colonies – Méthode de routine. Service de Normalisation Industrielle Marocaine, SNIMA.
- Novinscak, A., N.J. DeCoste, C. Surette, and M. Filion, (2009) Characterization of bacterial and fungal communities in composted biosolids over a 2 year period using denaturing gradient gelelectrophoresis. *Canadian journal of microbiology*. 55(4): p. 375-387.

O

- Oppliger, A. and P. Duquenne,(2016) Highly contaminated workplaces, in *Environmental Mycology in Public Health*. Elsevier. p. 79-105.
- Orakçı Gül Erginbaş , Mustafa Yamaç Gül Erginbaş, M. Julia Amoroso and S. Antonio Cuzzo 2010. selection of antagonistic actinomycete isolates as biocontrol agents against root-rot fungi. *Planta Piloto de Procesos Industriales y Microbiológicos (proimi-conicet)*

Ouatmane, A., Provenzano, M.R., Hafidi, M., Sensi, N.: Compost maturity assessment using calorimetry, spectroscopy and chemical analysis. *Compost. Sci. Util.* 8, 124–134 (2000)

P

Pakshir, K., Ghiasi, M.R., Zomorodian, K., Gharavi, A.R.: Isolation and molecular identification of Keratinophilic Fungi from Public Parks Soil in Shiraz, Iran. *BioMed Res. Int.* (2013). <https://doi.org/10.1155/2013/619576>

Paredes, C., Bernal, M.P., Cegarra, J., Roig, A.: Biodegradation of olive mill wastewater sludge by its co-composting with agricultural wastes. *Bioresour. Technol.* 85(1), 1–8 (2002)

Partanen, P., J. Hultman, L. Paulin, P. Auvinen, and M. Romantschuk, (2010) Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC microbiology.* 10(1): p. 94.

Peters, S., Koschinsky, S., Schweiger, F., Tebbe, C.C.: Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR- single-strand conformation polymorphism based genetic profiles of small-subunit rRNA genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 930–936 (2000)

Pera, A., and C. Filippi. 1987. Controlling of Fusarium wilt in carnation with bark compost. *Biological Wastes* 22:219-228.

Phae, C.G., M. Sasaki, M. Shoda, and H. Kubota. 1990. Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing phytopathogenic microorganism. *Soil Science and plant Nutrition* 36:575-586.

Piotrowska, A., Iamarino, G., Rao, M.A., Gianfreda, L.: Short term effects of olive mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semi arid Mediterranean soil. *Soil Biol. Biochem.* 38, 600–610 (2006)

Pintureau, B. (2009). *La lute biologique. Application aux arthropodes ravageurs et aux adventices.* Ellipses edition Marignolles, Paris. 19-22, 80-106.

Poss R., Fardeau J. C., Saragoni H., 1997. Sustainable agriculture in the tropics: The case of potassium under maize cropping in Togo. *Nutr. Cycling Agroecosyst.*, 46: 205-213.

Prapagdee B., Kuekulvong C. and Mongkolsuk S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolite produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4, 330-337.

Prapassorn Rugthaworn, Uraiwan Dilokkunanant, Somsiri Sangchote, Nattayana Piadang and Vichien Kitpreechavanich. 2007. A Search and Improvement of Actinomycete Strains for Biological Control of Plant Pathogens. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 41 : 248 – 254.

- Price-Whelan, A., Dietrich, L. E. et Newman, D. K. (2006). Rethinking “secondary” metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics. *Nat chem biol* 2, 71-78.
- Price-Whelan, A., Dietrich, L. E. et Newman, D. K. (2006). Rethinking “secondary” metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics. *Nat chem biol* 2, 71-78.
- Proietti, P., Calisti, R., Gigliotti, G., Nasini, L., Regni, L., Marchinib, A.: Composting optimization: integrating cost analysis with the physical–chemical properties of materials to be composted. *J. Clean. Prod.* 137, 1086–1099 (2016)
- Punja Z.K. and Utkhede R. (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends Biotech.* 21, 400-407.

R

- Raaijmakers J.M., Vlami M., de Souza J.T., 2002: Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Anton Leeuw*, 81, 537-47.
- Ramzan N. Noreen N. and Shahzad S. (2014). Inhibition of in vitro Growth of soil-borne pathogens by compost inhabiting indigenous bacteria and fungi. *Pak. J. Bot.*, 46(3) : 1093- 1099, 2014.
- Rane M., Sarode P. D., Chaudhari B. L., Chincholkar S. B. (2007). Detection, isolation and identification of phenazine-1-carboxylic acid producer by biocontrol strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Scientific & Industrial Research.* 66 : 627- 631.
- Reitz M, Oger P, Meyer A, Niehaus K, Farrand SK, Hallmann J, Sikora RA (2002) Importance of the O-antigen, core-region and lipid A of rhizobial lipopolysaccharides for the induction of systemic resistance in potato to *Globodera pallida*. *Nematology* 4:73–79
- Remy al., brecht 2006, Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : Nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique, Thèse de doctorat, Faculté des Sciences et Techniques, Université Paul Cezanne Aix-Marseille III. La France.
- Rhee S.K., Lee S.G, Hong S.P, Choi Y.H, Park J.H, Kim C.J, Sung M.H., 2000 : A novel Microbial interaction, obligate commensalism between a new gram-negative thermophile and a thermophilic Bacillus strain. *Extremophiles Biomedical and Life Sciences*, 4(3), 131-136.
- Reinthalder, F.F., Marth, E., Eibel, U. et al. The assessment of airborne microorganisms in large-scale composting facilities and their immediate surroundings. *Aerobiologia* 13, 167–175 (1997). <https://doi.org/10.1007/BF02694504>.
- Richard, T.L., Hamelers, H.V.M., Veeken, A., Silva, T.: Moisture relationships in composting processes. *Compost. Sci. Util.* 10(4), 286–302 (2002).

- Richard, D., (1995) Respiration rate–reheating potential: a comparison of measures of compost stability. *Compost Science & Utilization*. 3(2): p. 74-79.
- Ringer, C.E., P.D. Millner, L.M. Teerlinck, and B.W. Lyman. 1997. Suppression of seedling damping-off disease in potting mix containing animal manure composts. *Compost Science and Utilization* 5:6-14.
- Rodriguez C., Viviana Beoletto and Mónica Finola bacteriology of poultry litter, compost and the earthworm *Eisenia foetida* (oligochaeta, lumbricidae) *Megadrilogica* Volume 6, Number 10, November, 1996.
- Rogger, C. 1996. Einfluss von Kompost und Kompostextrakten auf Pflanzenkrankheiten. Travail de diplôme à l'Institut des Sciences végétales de l'EPFZ, groupe phytopathologie, EPFZ-Zürich, pp 49.
- Ryckeboer, J., J. Mergaert, J. Coosemans, K. Deprins, and J. Swings, (2003) Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *Journal of Applied microbiology*. 94(1): p. 127-137.
- Ryckeboer, J., and J. Coosemans. 1996. The suppression of clubroot (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) on cauliflower after the addition of biowaste compost to the potting soil. OT: De suppressie van *Plasmodiophora brassicae* Wor. bij bloemkool na bijmengen van humotex, GFT-of groencompost in het containersubstraat. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent 61:31-41.

S

- Sabaratnam S. and Traquair J.A. (2002). Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. *Biol. Control*. 23, 245-253.
- Saber F M.A., Abdelhafez A A. , Hassan E A., Ramadan E M. 2015. Characterization of fluorescent pseudomonads isolates and their efficiency on the growth promotion of tomato plant. *Annals of Agricultural Science*, 60(1): 131–140.
- Saebo A., Ferrini F., 2006: The use of compost in urban green areas – A review for practical application. *Urban Forestry and Urban Greening*, 4,159-169.
- Said-Pullicino D., Kaiser K., Guggenberger G., Gigliotti G., 2007: Changes in the chemical composition of water-extractable organic matter during composting, Distribution between stable and labile organic matter pools. *Chemosphere*, 66 (21), 66- 76.
- Saidi, N., M. Cherif, N. Jedidi, M. Mahrouk, M. Fumio, A. Boudabous, and A. Hassen, (2008) Evolution of biochemical parameters during composting of various wastes compost.
- Samerski, C., and H.C. Weltzien. 1988. Investigations on the mode of action of compost extracts in the host-parasite system sugarbeet-powdery mildew. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 95:176-181.

- Sanchez-monedero M.A., Roig A., Paredes C. & Bernal M.P. 2001: Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, Ec and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology*, 78, 301-308.
- Sanger F., Nicklen S. & A.R. Coulson (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 74: 5463-5467.
- Saragoni H., Poss R., Marquette J., Latrille E., 1992. Fertilisation et succession des cultures vivrières au sud du Togo: synthèse d'une expérimentation de longue durée sur terres de barre. *Agron.Trop.*, 28: 1049-1069.
- Sawadogo H., Bock L., Lacroix D., Zombre N. P., 2008. Restauration des potentialités des sols dégradés à l'aide du Zaï et du compost dans le Yatenga (Burkina-Faso). *BASE*, 12 (3): 279-290.
- Sbabou, L., Regragui, A., Filali-Maltouf, A., Ater, M., & Béna, G. (2016). Local genetic structure and worldwide phylogenetic position of symbiotic *Rhizobium leguminosarum* strains associated with a traditional cultivated crop, *Vicia ervilia*, from Northern Morocco. *Systematic and applied microbiology*, 39(6), 409-417.
- Schleiss, K., J. Fuchs, and U. Galli. 2002. Anforderung der VKS-Richtlinie 2001 versus Güterkriterien der Bundesgütegemeinschaft Kompost BGK. *Müll und Abfall* 11:618-626.
- Scott JE, Li K, Filkins LM, Zhu B, Kuchma SL, Schwartzman JD, O'Toole GA. 2019. *Pseudomonas aeruginosa* can inhibit growth of streptococcal species via siderophore production. *J Bacteriol* 201:e00014-19. <https://doi.org/10.1128/JB.00014-19>
- Seitz L.M., Sauer D.B., Mohr H.E. and al., dis D.F. (1982). Fungal growth and dry matter loss during bin storage of high-moisture corn. *Cereal Chem.* 59, 9-14.
- Seo S. Matthews K R. 2012: Influence of the Plant Defense Response to *Escherichia coli* O157:H7 Cell Surface Structures on Survival of That Enteric Pathogen on Plant Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (16): 5882–5889.
- Serra, W.C., S. Houot, and C. al., abouvette. 1996a. Increased soil suppressiveness to Fusarium wilt of flax after addition of municipal solid waste compost. *Soil Biology and Biochemistry* 28:1207-1214.
- Serra, S. D. ; Serra, A. B. ; Ichinohe, T. ; Fujihara, T., 1996. Ruminal solubilization of macrominerals in selected Philippine forages. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 9 (1): 75-81.
- Sghairoun, M., Ferchichi, A.: Composting heap palm tree's products in Southern Tunisia. *J. Environ. Eng. Sci.* 5(7), 886– 889 (2011).
- Sharma, V.K., Canditelli, M., Fortuna, F., Cornacchia, G.: Processing of urban and agro-industrial residues by aerobic composting. *Rev. Energy Convers. Manag.* 38(5), 453–478 (1997).
- Shanmugaiah, V., N. Mathivanan, and B. Varghese, (2010) Purification, crystal structure and antimicrobial activity of phenazine-1-carboxamide produced by a growth-promoting

- biocontrol bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* MML2212. *Journal of Applied Microbiology*. 108(2): p. 703-711.
- Sidhu, J., R. Gibbs, G. Ho, and I. Unkovich, (2001) The role of indigenous microorganisms in suppression of *Salmonella* regrowth in composted biosolids. *Water Research*. 35(4): p. 913-920.
- Sinaj, S., O. Traore, and E. Frossard. 2002. Effect of compost and soil properties on the availability of compost phosphate for white clover (*Trifolium repens* L.). *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 62:89-102.
- Singh A., Mehta S., Singh H.B. and Nautiyal C.S. (2003). Biocontrol of collar rot disease of betelvine (*Piper betle* L.) caused by *Sclerotium rolfsii* by using rhizosphere-competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI-N6 and *P. fluorescens* NBRI-N. *Cur. Microbiol.* 47, 153-158
- Singh S, Nain L., 2014- Proc Indian Natn Sci Acad 80 No. Sec : 473-481.
- Singh J., Kalamdhad A.S., 2012: Reduction of Heavy Metals during Composting- A Review. *International Journal of Environmental Protection*, 2 (9), 36-43.
- Soares, A.C., T.M. Straub, I.L. Pepper, and C.P. Gerba, (1994) Effect of anaerobic digestion on the occurrence of enteroviruses and *Giardia* cysts in sewage sludge. *Journal of Environmental Science & Health Part A*. 29(9): p. 1887-1897.
- Sogbedji J. M., Van Es' H. M., Agbeko K. L., 2006: Cover cropping and Nutrient Management Strategies for Maize Production in Africa. *Agron. J.*, 98: 883–889.
- Soudi B. (2005). Le compostage des déchets de cultures sous serre et du fumier. Transfert de Technologies en Agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, IAV Hassan II. N° 129 / Juin, 6 pp.
- Soudi B., 2009. Le compostage des déchets de culture sous serre et du fumier, (MADRPM/DERD Eds), 89p.
- Steger K., Asa J, Sven S., Ingvar S., 2003: Comparison of signature lipid methods to determine microbial community structure in compost, *Journal of Microbiological Methods*, 55, 371–382.
- Stindt, A.1990. Untersuchung zur Wirkung und zu den Wirkungsmechanismen von Kompostextrakten auf *Botrytis cinerea* Pers. ex Nocca and Balb an Erdbeeren, Kopfsalat und Buschbohnen. Dissertation. Universität Bonn, Bonn. Germany, pp 120.
- Strauch, D.,(1996) Occurrence of Microorganisms Pathogenic for Man and Animals in Source Separated Biowaste and Compost-Importance, Control, Limits, Epidemiology, in *The science of composting*. Springer. p. 224-232.
- Sunar, N., E. Stentiford, D. Stewart, and L. Fletcher, (2014) The process and pathogen behavior in composting: a review. arXiv preprint arXiv:1404.5210.

Sundberg, C., I.H. Franke-Whittle, S. Kauppi, D. Yu, M. Romantschuk, H. Insam, and H. Jönsson, (2011) Characterisation of source-separated household waste intended for composting. *Bioresource technology*. 102(3): p. 2859-2867.

T

Tang J-C, Maie N, Tada Y, Katayama A, 2006. Characterizations of the maturing process of cattle manure compost. *Process Biochemistry* 41: 380-389.

Tang, J.-C., A. Shibata, Q. Zhou, and A. Katayama, (2007) Effect of temperature on reaction rate and microbial community in composting of cattle manure with rice straw. *Journal of bioscience and bioengineering*. 104(4): p. 321-328.

Tchegueni S., Kili A. K., Bodjona M., Koriko M., Hafidi M., Baba G., Tchangbedji G., 2012. Effets des composts à base de déchets d'agrumes et du tourteau de karité sur la disponibilité du phosphore du sol: une étude en conditions contrôlées. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 6 (3): 1381-1389.

Tester, C. F., Sikora, L. J., Taylor, J. M. & Parr, J. F. 1979. Decomposition of Sewage Sludge Compost in Soil .3. Carbon, Nitrogen, and Phosphorus Transformations in Different Sized Fractions. *Journal of Environmental Quality* 8, 79-82.

Theodore, M., and J.A. Toribio. 1995. Suppression of *Pythium aphanidermatum* in composts prepared from sugarcane factory residues. *Plant and Soil* 177:219-223.

Thomashow, L.S., Weller, D.M., Bonsall, R.F. and Pierson, L.S., 1990a. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. *Appl. Environ. Microb.* 56 : 908-912.

Thomashow LS, Weller DM (1990b) Application of fluorescent pseudomonads to control root diseases of wheat and some mechanisms of disease suppression. In: *Biological control of soil-borne plant pathogens* (D Hornby, ed) CAB Int, 109-122

Thomashow LS (1991) Molecular basis of antibiosis mediated by rhizosphere pseudomonads. In: *Plant growth-promoting rhizobacteria-progress and prospects* (C Keel, B Koller, G Defago, eds) IOBC/ WPRS, XIV/8, 109-115

Thomashow Linda, David M. Weller 1996. Current Concepts in the Use of Introduced Bacteria for Biological Disease Control: Mechanisms and Antifungal Metabolites. *Plant-Microbe Interactions* pp 187-235

Tilston, E.L., D. Pitt, and A.C. Groenhof. 2002. Composted recycled organic matter suppresses soil-borne diseases of field crops. *New Phytologist* 154 :731-740.

- Toundou O., 2010 : Etude de l'effet fertilisant du sol par *Cassia occidentalis* L. utilisée sous forme de compost et de plante de couverture. Mémoire de DEA, Gestion de L'environnement, Université de Lomé, Faculté Des Sciences, 106 p.
- Toundou O., Tozo K., Amouzouvi K.A.A., Lankondjoa K., Tchangbedji G., Kili K., Gnon B., 2014. Effets de la biomasse et du compost de *Cassia occidentalis* L. sur la croissance en hauteur, le rendement du maïs (*Zea mays* L.) et la teneur en NPK d'un sol dégradé en station expérimentale. *ESJ*, 10 (3): 294-308.
- Toundou Outéndé, 2016, Evaluation des caractéristiques chimiques et agronomiques de cinq composts de déchets et étude de leurs effets sur les propriétés chimiques du sol, la physiologie et le rendement du maïs (*Zea mays* L. Var. Ikenne) et de la tomate (*Lycopersicon esculentum* L. Var. Tropimech) sous deux régimes hydriques au Togo, l'Université de Lomé en cotutelle avec l'Université de Limoges.
- Toussaint V. (1996). Caractérisation d'un antibiotique produit par la souche d'actinomycète EF-76 antagoniste à *Phytophthora Fragariae* var. *rubi* causant le pourridié des racines du framboisier. Mémoire de Maîtrise ès science. Université de Sherbrooke, Québec, Canada.
- Traore, O., S. Sinaj, E. Frossard, J.M.v.d. Kerkhove, and d.K.J.M. van. 1999. Effect of composting time on phosphate exchangeability. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 55:123-131.
- Trillas-Gay, M.I., H.A.J. Hoitink, and L.V. Madden. 1986. Nature of suppression of Fusarium wilt of radish in a container medium amended with composted hardwood bark. *Plant disease* 70:1023-1027.
- Tshala UJ, Kitabala MA, Tunda MJP, Mufind KM, Kalenda MA, Kapele KG, Nyembo KL. 2017. Vers une valorisation des déchets ménagers en agriculture (péri) urbaine à Kolwezi: caractérisation et influence de la saisonnalité. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 112: 11072-11079. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v112i1.12>
- Tshen J.S.M. (1985). Biological control of plant Diseases by Microorganisms. *Chinese Bioscience*. 26, 33-39.
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A., Itavaara, M.: Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresour. Technol.* 72, 169–183 (2000)
- Turner, C., (2002) The thermal inactivation of *E. coli* in straw and pig manure. *Bioresource Technology*. 84(1): p. 57-61.
- Tuitert, G., G.J. Bollen. 1996. The effect of composted vegetable, fruit and garden waste on the incidence of soilborne plant diseases. In: M.de. Bertoldi, P. Sequi, B. Lemmes, and T. Papi (eds.), *The Science of composting: part 2*, pp1365-1369. Blackie Academic & Professional an imprint of Chapman & Hall.

U

Uzair, B., N. Ahmed, F. Kousar, and D. Edwards, (2006) Isolation and characterization of *Pseudomonas strain* that inhibit growth of indigenous and clinical isolate. The Internet Journal of Microbiology. 2(2).

V

Valois diane, karine fayad, tharcisse barasubiye, marie garon, claude de'ry, ryszard brzezinski, and carole beaulieu. 1996. Glucanolytic Actinomycetes Antagonistic to Phytophthora fragariae var. rubi, the Causal Agent of Raspberry Root Rot. Applied and environmental microbiology, May 1996, p. 1630–1635.

Van Driesche, R.G., Bellows, T.S., 1996. Biological control. Chapman and Hall, New York.

Van der Werf P. Bioaerosols at à Canadian composting facility. BioCycle 1996 ;37(9) :78- 83.

Van Lenteren, J.C., Colazza, S., 2006. IOBC Newsletter 80. International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants (IOBC).

Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, C.M.J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36, 453–483.

Vansuyt, G., Souche, G., Straczek, A., Briat, J.F. and Jaillard, B., 2003. Flux of protons released by wild type and ferritin over-expressor tobacco plants : effect of phosphorus and iron nutrition. *Plant Phys. Biochem.* 41 : 27-33.

Vergnoux, A., Guiliano, M., Le Dréau, Y., Kister, J., Dupuy, N., Doumenq, P.: Monitoring of the evolution of an industrial compost and prediction of some compost properties by NIR spectroscopy. *Sci. Tot. Environ.* 407, 2390–2403 (2009).

Vincent, C., Coderre, D., 1992. La lutte biologique. Gaëtan Morin, Québec, Canada.

Voland, R.P., and A.H. Epstein. 1994. Development of suppressiveness to diseases caused by *Rhizoctonia solani* in soils amended with composted and noncomposted manure. *Plant Disease* 78:461-466.

W

Wadekar, S. and S. Kagne, (2019) Isolation, Characterization of Bioactive Secondary Metabolites Producing *Pseudomonas species* from Soil of Marathwada Region, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 8(7): p. 2818-2825.

- Walter, M., C.M.A. Frampton, P.A.G. Elmer, R.A. Hill, and A.J. Popay. 1995. Pathogenicity and control using composts of *Aphanomyces euteiches* pea root rot. Proceedings of the Forty Eighth New Zealand Plant Protection Conference, Angus Inn, Hastings, New Zealand, August.
- Wang, Y., Kern, S. E. et Newman, D. K. 2010. Endogenous Phenazine Antibiotics Promote Anaerobic Survival of *Pseudomonas Aeruginosa* Via Extracellular Electron Transfer. *J Bacteriol* 192, 365-369.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173 (2), 697–703.
- Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., McSpadden-Gardener, B B. and Thomashow, L S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 309–348.
- Weller, D.M., Landa, B.B., Mavrodi, O.V., Schroeder, K.L., de la Fuente, L., Blouin-Bankhead, S.B., al., Iende-Molar, R., Bonsall, R.F., Mavrodi, D.V. and Thomashow L.S., (2007a). Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. *Plant Biol.* 9: 4-20.
- Weller, D.M., (2007b) *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: looking backover 30 years. *Phytopathology.* 97(2): p. 250-256.
- Weltzien, H.C. 1992. Biocontrol of foliar fungal diseases with compost extracts. In J.H. Andrews, S.S. Hirano (eds.), *Micobial ecology of leaves*, pp 430-450. Springer Verlag, New York.
- Whipps, J.M. 1997 Ecological considerations involved in commercial development of biological control agents for soil-borne diseases. In *Modern Soil Microbiology*, eds. Dirk van Elsas, J., Trevors, J.T. & Wellington, E.M.H. pp. 683. ISBN 0824794362.
- Who, (2003) Basic laboratory procedures in clinical bacteriology, in *Basic laboratory procedures in clinical bacteriology*. p. 167-167.
- Widmer, T.L., J.H. Graham, and D.J. Mitchell. 1998. Composted municipal waste reduces infection of citrus seedlings by *Phytophthora nicotianae*. *Plant Disease* 82:683-688.
- Williams, K., Pruden, A., Falkinham, J.-O., Edwards, M.: Relationship between organic carbon and opportunistic pathogens in simulated glass water heaters. *Pathogens* 4(2), 355–372 (2015)
- Winkler, K., 2005. Assessing the risks and benefits of flowering field edges: strategic use of nectar sources to boost biological control. Mémoire de Thesis, Wageningen University, Laboratory of Entomology, The Netherlands.

X

- Xiao Y., Zeng G.M., Yang Z.H., Ma Y.H., Huang C., Xu Z.Y., Huang J., Fan C.Z., 2011: Change in actinomycetal communities during continuous thermophilic composting as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Bioresource Technology*, 102, 1383- 1388.

Y

- Yangui, T., Dhoub, A., Rhouma, A., Sayadi, S.: Potential of hydroxytyrosol-rich composition from olive mill wastewater as a natural disinfectant and its effect on seeds vigour response. *Food Chem.* 117, 1–8 (2009)
- Yanko, W.A., A.S. Walker, J.L. Jackson, L.L. Libao, and A.L. Garcia, (1995) Enumerating *Salmonella* in biosolids for compliance with pathogen regulations. *Water Environment Research.* 67(3): p. 364-370.
- Yohalem, D.S., R.F. Harris, and J.H. Andrews. 1994. Aqueous extracts of spent mushroom substrate for foliar disease control. *Compost Science and Utilization* 2:67-74.
- You, M.P., and K. Sivasithamparam. 1994. Hydrolysis of fluorescein diacetate in an avocado plantation mulch suppressive to *Phytophthora cinnamoni* and its relationship with certain biotic and abiotic factors. *Soil Biology and Biochemistry* 26:1355-1361.
- Yu, H., G. Zeng, H. Huang, X. Xi, R. Wang, D. Huang, G. Huang, and J. Li, (2007) Microbial community succession and lignocellulose degradation during agricultural waste composting. *Biodegradation.* 18(6): p. 793-802.

Z

- Zahir Ilham, Houari Abdellah, Iraqui Mohammed, Ibsouda Saad. (2011). *Aerococcus* sp. with an antimycobacterial effect. *African Journal of Biotechnology.* 10(83): 19473-19480.
- Zahir Ilham. (2016). Effect of Moroccan plants against phytopathogenic microorganisms: a review. *British Biotechnology Journal.* 10 (1) : 1-36.
- Zahir I., Houari A., and Ibsouda S. 2014 a. Antibacterial Effect of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from a Moroccan Hot Spring Discharge and Partial Purification of its extract. *J. British Biotechnology.*, 4(10): 1123-1140, ISSN: 2231-2927.
- Zahir Ilham, Houari Abdellah, Iraqui Mohammed, Ibsouda Saad. (2014 b). Tolerance tests of al., *caligenes faecalis* BW1 extract. *British Microbiology Research Journal.* 4(8): 905-917.
- Zahir Ilham, Babouchi Meryem, Boulanour Hajar et El louyti Mustapha 2018 a. Effet des microorganismes isolés á partir des biotopes marocains sur les phytopathogènes : revue bibliographique *Revue Agrobiologia* (2018) 8(2): 971-983.
- Zahir Ilham, Houari Abdellah, Iraqui Mohammed, Ibsouda Saad. (2018)b. Valorisation de l'activité antibactérienne des microorganismes isolés à partir des biotopes marocains et caractérisation partielle de leurs principes actifs. *Proceedings BIOSUNE'1 – 2018.* 80-95. ISBN : 978-9920-37-054-7.

- Zhang, W., D.Y. Han, W.A. Dick, K.R. Davis, and H.A.J. Hoitink. 1998. Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and Arabidopsis. *Phytopathology* 88:450-455.
- Znaïdi I, 2002. Etude et évaluation du compostage de différents types de matières organiques et des effets des jus de composts biologiques sur les maladies des plantes, Thèse de master (Tunisie) P 30.
- Zhang, W., W.A. Dick, K.R. Davis, J.C. Tu, H.A.J. Hoitink, B. Duffy, U. Rosenberger, and G. Défago. 1997. Systemic acquired resistance induced by compost and compost water extract in Arabidopsis. *Molecular approaches in biological control*. Delémont, Switzerland 21:129-132.
- Zucconi F., De Bertoldi M., 1987: Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. In *Compost: production, quality and use*, ed. M. de Bertoldi, M.P. Ferranti, P. l'Hermite, F. Zuconni. Elsevier Applied Science, Essex, pp. 30-50.

ANNEXES

Annexe 1. Extraction d'ADN génomique bactérien

L'extraction de l'ADN se fait selon les étapes suivantes :

- 1- Centrifuger 4ml de culture liquide à 13000 tours pendant 10min, récupérer le culot bactérien.
- 2- Suspendre dans 300µl de Tampon de Lyse et 100µl de NaCl (5M).
- 3- Agiter au Vortex, puis incuber 15 minutes à 37°C.
- 4- Centrifuger à 13000 tr pendant 10min,
- 5- Transférer le surnageant dans un nouveau eppendorf et ajouter un volume égale de Phenol:Chloroform:IAA (400µl) puis inverser les tubes 50 fois jusqu'à l'obtention d'une solution blanche.
- 6- Centrifuger à 13000tr pendant 10 minet transférer le surnageant (éviter de toucher / prélever la couche blanchâtre) dans un nouveau tube.
- 7- Précipiter l'ADN avec 2 volumes isopropanol (déjà stocker à -20°C)
- 8- Légère agitation (inverser l'eppendorff 2 fois)
- 9- Incuber à -80°C pendant 30 min à 1h ou bienà -20°C pendant une nuit.
- 10- Centrifuger à 13000tr pendant 10 min, éliminer le surnageant.
- 11- Laver avec l'éthanol 75°C (500µl) (déjà stocker -20°C)
- 12- Centrifuger à 13000tr pendant 10 min et éliminer le surnageant.
- 13- Refaire les étapes 11 et12.
- 14- Laisser l'ADN sécher sous la hotte à flux laminaire.
- 15- dissoudre l'ADN dans 50ou 20 µl de l'eau pure (ou TE).
- 16- Conservation à -20 une nuite .
- 17- Dosage de l'ADN avec le Nanodrop (1µl)
 - $260/280 = [1.8 - 2]$
 - $260/230 = [1 - 2]$
 - Concentration ADN > 50ng/µl
- 18- Conserver l'ADN à -20°C

Annexe 2. Séquence de l'ARN 16S obtenue

Séquence du gène de l'ARNr 16S de l'isolat CFSP1L1

TTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGCTCCCGGATTCAGCGGC
GGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTCCGGAACGGGGCGCTAATACCGC
ATACGTCCTGAGGGAGAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTA
GTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAC
TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCA
GCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAGCACTTAAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTA
ATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAA
GGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATC
CCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCCAAAAGTACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCACCACCTGGACTGATACTGACAC
TGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTA
GCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTTCGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCA
AGGTTAAAAGTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGC
GAAGAACCCTACCTGGCCTTGACATGCTGAGAACTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAGTCAAGAC
AGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGT
CCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATG
ACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCCAAG
CCGCGAGGTGGAGCTAATCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAGCTCGACTGCGTGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGTGAATCAGAATGTCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCAC
ACCATGGGAGTGGGTTGCTCCAGGAGTAGCTAGTCTAACCGCAAGGGGGACGGTTACCACGGAG

Annexe 3. Technique de la coloration de Gram

C'est une coloration qui permet de distinguer entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à gram négatif. Cette différence est due au fait que les parois cellulaires des deux types de bactéries ont des constituants différents. En effet, Les bactéries Gram- positives ont une paroi constituée de plusieurs couches de peptidoglycanes qui lui confèrent une grande résistance, alors que celle des Gram-négatives ont seulement une couche fine de peptidoglycane mais entourée d'une membrane externe supplémentaire agissant comme une barrière.

Cette technique repose sur l'utilisation de quatre solutions différentes

- Un colorant basique, le cristal de violet, qui se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries,
- Un mordant, le lugol, qui s'associe au premier colorant et forme un complexe insoluble
- Un agent de décoloration, l'alcool, ayant une double fonction : c'est un solvant des lipides et un déshydratant des protéines. Les bactéries à Gram négatif perdent alors une partie des lipides de leur paroi devient très poreuse et donc se décolorent. Par contre, la couche de peptidoglycane de la paroi des bactéries dites à Gram positif se contracte sous l'influence du décolorant, ce qui empêche la sortie du colorant intracellulaire et ainsi ces bactéries conservent la couleur violet foncé.
- Un colorant de contraste ou colorant différenciateur, la safranine ou la fuchsine a pour rôle de colorer en rose les cellules, alors que les bactéries à Gram négatif (Gram, 1884).

La technique est réalisée comme suit :

Des cultures de 10 ml des souches d'intérêt sont incubées à 28°C, sous agitation pendant 24 heures. La coloration de Gram s'effectue en deux étapes selon le protocole suivant :

- Réalisation du frottis : Elle nécessite d'avoir un frottis fixé à la flamme selon les indications suivantes
 - Déposer sur une lame un aliquot de 2 µl d'une culture bactérienne.
 - Étaler et fixer à la chaleur.
- Réalisation de la coloration : Elle comporte les différentes étapes suivantes :
 - Colorer au cristal violet pendant 1 minute,
 - Laver à l'eau,
 - Couvrir le frottis de lugol et laisser agir 1 minute,

- Laver à l'eau,
- Décolorer à l'alcool 95% durant 10 à 20 secondes,
- Laver à l'eau,
- Colorer à la fuchsine pendant 1 minute,
- Rincer doucement à l'eau et sécher la lame,
- Laisser sécher la lame pendant 10 à 15 minutes.

L'observation microscopique permet de distinguer les bactéries à Gram positif qui sont colorées en violet, de celles à Gram négatif colorées en rose.

Annexe 4. Milieux de culture

A. Milieu Luria-Bertoni

1. Milieu Luria - Bertoni liquide (LB)

- Peptone : 10g
- NaCl : 10g
- Extrait de levure : 5g
- Eau distillée : 1000 ml

C'est un milieu riche non sélectif qui permet la croissance de nombreux germes.

2. Milieu Luria-Bertoni solide (LB)

C'est le milieu Luria-Bertoni liquide additionné de 15 g/l d'agar.

B. Bouillon Lactose-Sulfite (LS)

1. Domaine d'utilisation

Le bouillon Lactose Sulfite (LS) est un milieu de confirmation permettant de détecter sélectivement la présence de formes végétatives ou de spores de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires et les prélèvements biologiques d'origine animale, sans qu'il soit nécessaire de pratiquer les tests confirmatifs habituels.

2. Historique

Utilisant les travaux antérieurs de Put (1961), relatifs à l'étude de la sensibilité des *Clostridium* au sulfite, la croissance optimale de *Clostridium perfringens* à 46°C ainsi que sa capacité à fermenter le lactose, Beerens *et al.*, en 1982, ont formulé et développé avec succès le milieu LS. Ils ont particulièrement recommandé son utilisation pour la détection des faibles quantités de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires fortement contaminés par d'autres bactéries sulfitoréductrices.

3. Préparation

- Mettre en solution 19,3 g de milieu déshydraté (BK140) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes contenant une cloche de Durham, à raison de 9 ml par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTE :

Après refroidissement, les cloches de Durham ne doivent pas contenir d'air.

C. Gélose cétrimide

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif destiné à l'isolement et au dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits biologiques d'origine animale, les produits pharmaceutiques et cosmétiques. La gélose au cétrimide est conforme à la formule décrite dans les chapitres harmonisés de la Pharmacopée européenne et américaine.

2 HISTORIQUE

La formule du milieu est dérivée de celle du milieu de King A qui favorise la production de pyocyanine par *Pseudomonas aeruginosa*. En 1951, Lowbury préconisa l'utilisation de cétrimide dans un milieu sélectif pour l'isolement des *Pseudomonas*. En raison de l'amélioration de la pureté de l'agent inhibiteur, sa concentration fut réduite par Lowbury et Collins en 1955.

4 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 45,3 g de milieu déshydraté (BK049) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Ajouter 10 mL de glycérol.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

D. Gelose glucosée à l'extrait de pomme de terre (PDA)

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre (PDA) est utilisée pour l'isolement, la culture et le dénombrement des levures et des moisissures dans les produits alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

2 HISTORIQUE

En 1938, au cours d'un test comparatif sur plusieurs milieux de culture, Shadwick a montré que la gélose à l'extrait de pomme de terre donnait de bons résultats pour la numération des levures et des moisissures dans le beurre. Ce milieu est également préconisé par la Pharmacopée américaine pour le contrôle des produits pharmaceutiques.

4 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 39,0 g de milieu déshydraté (BK095) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.

E. Gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7

1. Domaine d'utilisation

La gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7 permet d'effectuer les recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux, notamment celles destinées à la consommation humaine, par la méthode des membranes filtrantes.

2. Historique

Pollard, en 1946, avait démontré l'action bactéricide du Tergitol 7 sur les microorganismes à Gram positif, puis le milieu a été développé par Chapman qui fit des numérations de coliformes environ 30% supérieures à celles effectuées sur d'autres milieux sélectifs. La formule a ensuite été modifiée par l'auteur par incorporation de TTC (chlorure de triphényltétrazolium) qui s'est révélé utile pour la reconnaissance rapide d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter aerogenes*. Ces microorganismes produisent des colonies jaunes entourées d'un halo jaune, tandis que les autres bactéries à Gram négatif (incluant *Proteus* et *Pseudomonas*) donnent des colonies rouge foncé. Le milieu est préconisé dans la norme NF EN ISO 9308-1 pour les recherches et dénombrement des *Escherichia coli* et des coliformes pour la colimétrie des eaux, par la méthode de filtration sur membrane.

3. Préparation

- Mettre en suspension 51,1 g de milieu de base déshydraté (BK123) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en flacons, à raison de 100 ml par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

F. Gélose de MacCONKEY

1. Domaine d'utilisation

La gélose de MacConkey est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des *Salmonella*, des *Shigella*, ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale. Sa formule est recommandée dans les Pharmacopées européenne et américaine pour le contrôle des contaminations microbiennes.

2. Historique

La formulation de MacConkey pour l'isolement des entérobactéries a de nombreuses fois été modifiée depuis l'origine. Celle-ci représente la formule "classique" utilisée depuis de

nombreuses années, par des auteurs tels que Block et Ferguson qui trouvèrent le milieu très satisfaisant pour l'isolement des *Shigella* difficiles à cultiver.

3. Préparation

- Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté (BK050) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

F. Gélose de SLANETZ et BARTLEY

1. Domaine d'utilisation

La gélose de Slanetz et Bartley est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux d'alimentation, les boissons, les eaux usées et divers produits biologiques d'origine animale, par la technique de filtration sur membrane.

2. Historique

Le milieu a été formulé par Slanetz *et al.* afin de numérer les entérocoques dans l'eau et les boissons par la technique de filtration sur membrane. Une modification utilisant l'addition de TTC (chlorure de triphényltétrazolium) au milieu permet d'obtenir de meilleurs comptages lorsque les membranes sont placées directement à la surface de la gélose. La formule actuelle donne des résultats comparables à ceux obtenus par la technique mise au point par Litsky, Mallmann et Fifiield pour la détection des streptocoques fécaux.

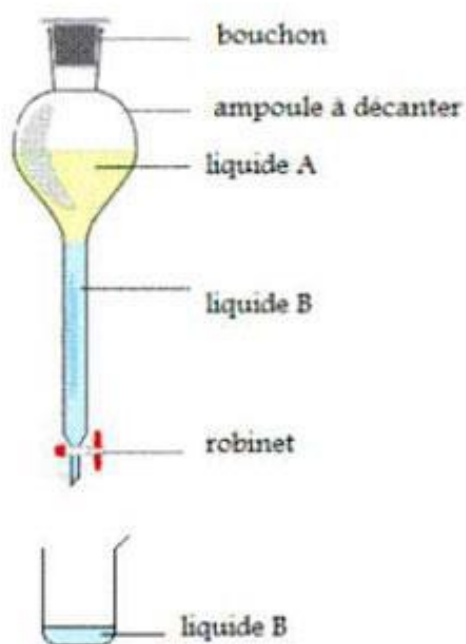
3. Préparation

A partir du milieu déshydraté complet :

- Mettre en suspension 41,5 g de milieu déshydraté complet (BK037) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Eviter tout chauffage excessif.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir à 47°C (ne pas refondre un milieu repris en masse).
- Couler en boîtes de Petri stériles (l'épaisseur de gélose doit être au moins égale à 5 mm).
- Laisser solidifier sur une surface froide.

Annexe 5. Principes de la séparation liquide-liquide et l'évaporateur rotatif

1. Principe de la technique de séparation liquide-liquide selon le gradient de densité



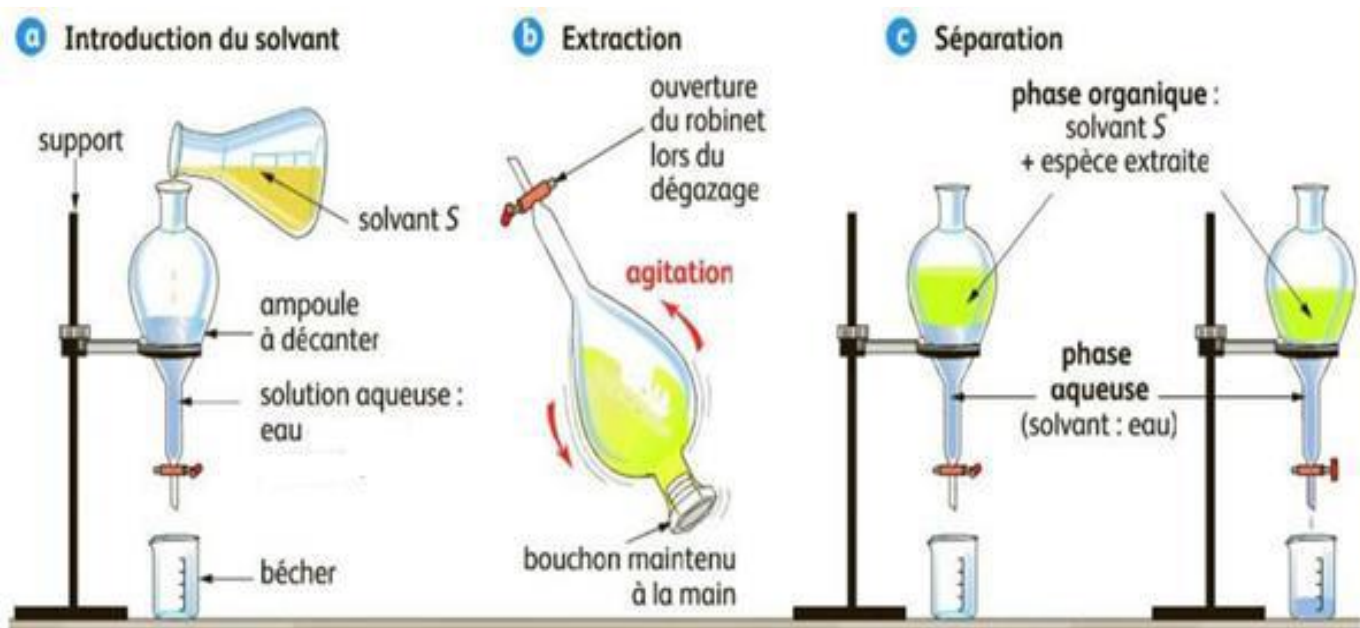
LA DECANTATION

La décantation consiste à séparer 2 liquides **non miscibles** (qui ne se mélangent pas) entre eux.

Le liquide **le moins dense** (A) reste en surface.

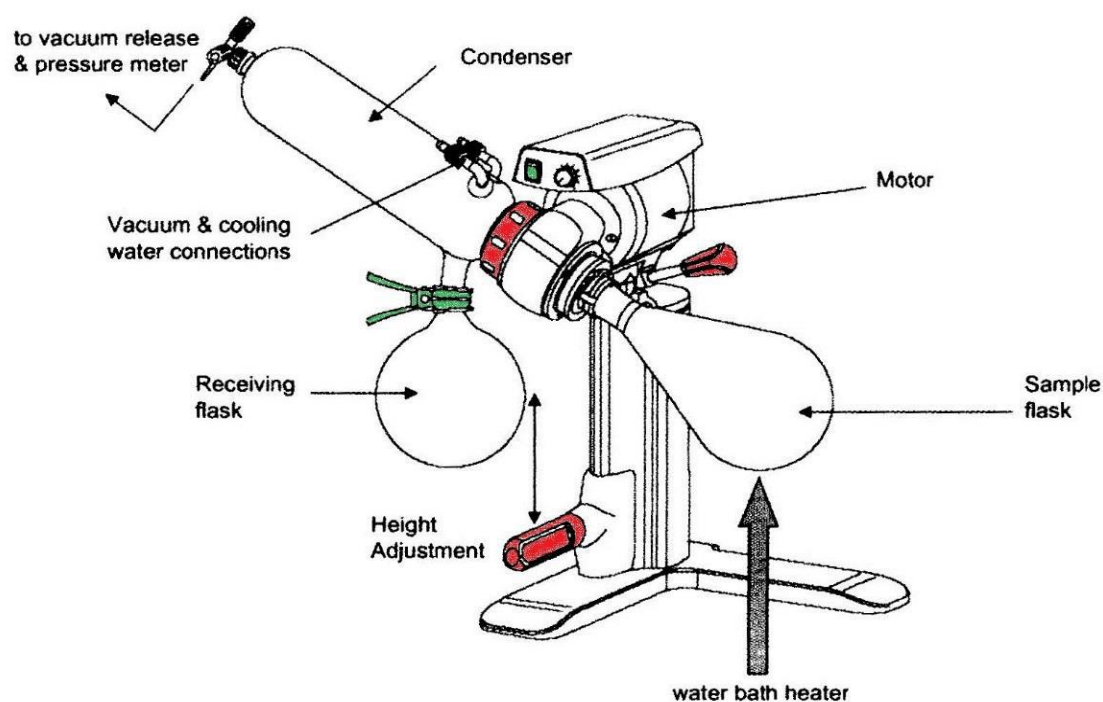
Le liquide **le plus dense** (B) se retrouve en bas. Il pourra être retiré par le bas en ouvrant le bouchon (appel d'air)

1.1 Les étapes opératoires de la technique



2. Principe de la précipitation des principes actifs extraits

Le principe de base consiste à la volatilisation du solvant organique (acétate d'éthyle) sous l'effet de la chaleur, et la précipitation des principes actifs dans le ballon à échantillon. La figure suivante représente les composantes de l'évaporateur rotatif employée.



- Condenser : le condensateur qui permet de baissée la température de solvant organique
- To vacuum release : porte pour l'atténuation de la surpression.
- Motor : système de fonctionnement de l'appareil.
- Cooling water connestions : deux tubes pour l'entrée et la sortie de l'eau dans le system de refroidissement.
- Receiving flask : sert pour le stockage du solvant organique après refroidissement.
- Height adjustment : élément pour le réglage en hauteur.
- Sample flask : Flacon à échantillons.
- Water bath heater: Chauffe Bain d'eau.