

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique
Université Constantine 1 des Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Matière : Microbiologie Appliquée à l'écosystème

COMPTE RENDU

TP N°1 : « La colonne de Winogradsky»

NOTE	Observation

Présenté par : KERKOUCHÉ Hibat errahmane (G3)

CHAALA Amira Douaa (G3)

1. Objectif du TP :

Ce travail pratique a pour objectif d'étudier la diversité et la répartition spatiale des communautés bactériennes dans un sédiment naturel, en utilisant la colonne de Winogradsky comme modèle expérimental. Cette colonne constitue un écosystème anoxique capable de reproduire les gradients physico-chimiques caractéristiques des milieux aquatiques, tels que ceux rencontrés dans un lac ou un étang. L'approche permet d'observer la succession et la stratification de groupes fonctionnels bactériens — phototrophes, sulfatoréducteurs, bactéries filamentueuses et méthanogènes — et d'analyser leurs interactions avec l'environnement.

2. Résultats et Discussion

2.1 Résultats de la colonne après 15 jours sous éclairage.



Figur 1 : la colonne de winogradsky après 15 jours

Après un 15 jours d'incubation sous éclairage constant, la colonne de Winogradsky présente une stratification nette du sédiment, témoignant de l'installation de gradients physico-chimiques (oxygène, sulfures, lumière).

Observation macroscopique

Zone supérieure (eau + surface du sédiment)

On observe un dépôt vert à la surface de l'eau et du sédiment. Cette coloration est due à développement des algues vert et de cyanobactéries photosynthétiques (ex. *Anabaena*, *Oscillatoria*), organismes phototrophes aérobies non sulfureux.

Subsurface immédiate

Une couche plus claire, brun-verdâtre, est visible juste sous la surface. Cette zone correspond à une zone oxique ou micro-oxique, où l'oxygène produit par la photosynthèse diffuse vers le sédiment, entraînant l'oxydation des composés réduits.

Zone intermédiaire

Le sédiment prend une teinte grisâtre, indiquant un milieu anoxique réduit. Cette zone est compatible avec la présence de bactéries phototrophes anaérobies, notamment des bactéries sulfureuses vertes (*Chlorobium*), qui exploitent la lumière en absence d'oxygène.

Zone profonde

Le fond de la colonne est constitué d'un sédiment noir, non homogène, signe d'une forte activité anaérobie. Cette coloration est due à la production de sulfure d'hydrogène (H_2S) par des bactéries sulfato-réductrices telles que *Desulfovibrio* et *Clostridium*, responsables de la réduction des sulfates et sulfites.

Présence des bulles d'air.

Discussion

Dès les premiers jours d'incubation, la dégradation de la matière organique par des bactéries anaérobies telles que *Clostridium* et *Desulfovibrio* a entraîné une consommation rapide de l'oxygène et la production de sulfure d'hydrogène (H_2S). Cette activité métabolique explique la coloration noire du sédiment profond, typique d'un milieu fortement réduit. La présence de sulfures favorise ensuite l'installation de bactéries sulfureuses spécialisées.

Au cours du temps, des gradients opposés d'oxygène et de sulfures se mettent en place : l'oxygène est maximal en surface, grâce à la photosynthèse, tandis que la concentration en H_2S augmente avec la profondeur. Ces gradients conditionnent la succession et la répartition verticale des microorganismes.

En surface et dans l'eau surnageante, le dépôt vert observé correspond au développement des algues et de cyanobactéries photosynthétiques aérobies (*Anabaena*, *Oscillatoria*). Leur activité photosynthétique entraîne une production locale d'oxygène, ce qui explique la présence d'une couche de sédiment oxydée plus claire immédiatement sous la surface.

Dans les zones intermédiaires, où la lumière est encore disponible mais où l'oxygène est absent ou très faible, se développent des bactéries phototrophes anaérobies. Les bactéries phototrophes sulfureuses vertes (*Chlorobium*) apparaissent généralement en premier, car elles mieux adaptées à des concentrations plus élevées en H₂S. Cette succession explique les variations de couleur observées dans la colonne (gris, vert).

La présence d'une bulle de gaz suggère une activité métabolique intense dans les zones profondes. Bien que le test à la flamme n'ait pas permis de confirmer la présence de méthane, ce gaz est probablement produit par des bactéries méthanogènes, actives dans des conditions strictement anaérobies. L'absence de réaction peut s'expliquer par un mélange du gaz avec de l'air ou par une faible concentration.

2.2Résultats de la colonne après 1 mois sous éclairage.



Figur 2 : La colonne après un mois d'incubation sous éclairage

On observe :

Zone supérieure

La surface de la colonne présente une coloration vert foncé à brun-verdâtre, plus intense que lors du premier 15 jours. La densité élevée de biomasse de cyanobactéries photosynthétiques témoigne d'une activité photosynthétique importante.

Zone profonde

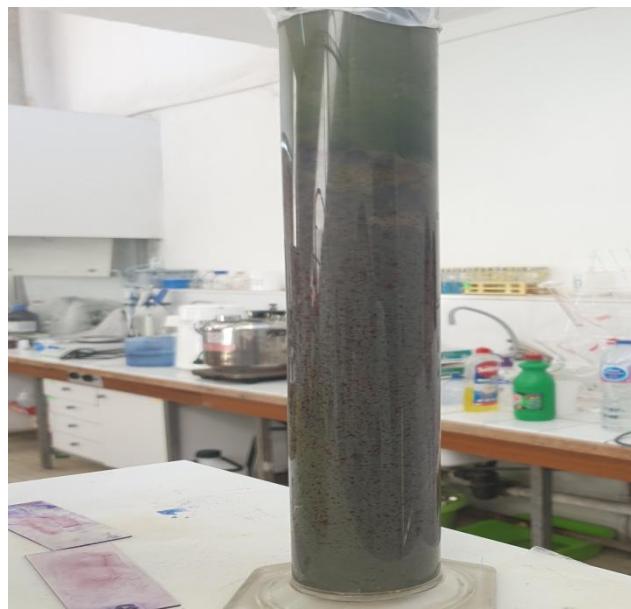
Le sédiment apparaît gris foncé à verdâtre, avec des structures irrégulières et des amas visibles contre la paroi. Cette zone est caractéristique d'un milieu strictement anoxique mais encore éclairé, favorable au développement de bactéries phototrophes anaérobies, notamment les bactéries sulfureuses vertes (*Chlorobium*) et les bactéries pourpres sulfureuses (*Chromatium, Thiospirillum*). L'absence de teinte pourpre marquée suggère une dominance des bactéries sulfureuses vertes.

Le fond de la colonne est noir intense, indiquant une forte réduction du sédiment. Cette zone est le siège de la dégradation anaérobique de la matière organique par les bactéries sulfato-réductrices (*Desulfovibrio*) et sulfito-réductrices (*Clostridium*). La production de sulfures y est maximale.

La présence de gaz

La présence de petites bulles dispersées le long de la colonne suggère une production continue de gaz. Issus de l'activité de bactéries méthanogènes dans la zone la plus profonde anaérobie.

2.3 Résultats de la colonne après 1 mois et demi sous éclairage.



Figur 3: la colonne après un mois et demi d'incubation sous éclairage.

Après un mois et demi d'incubation, la colonne de Winogradsky présente une modification nette de sa coloration. L'apparition d'une teinte rouge à pourpre dans les zones intermédiaires témoigne du développement de bactéries phototrophes sulfureuses pourpres, principalement du genre *Chromatium*. Ces bactéries utilisent le sulfure d'hydrogène (H_2S) comme donneur d'électrons dans leur métabolisme photosynthétique. La consommation progressive du H_2S qui entraîne la disparition, ou une forte atténuation, de la coloration noire du sédiment profond, initialement due à l'accumulation de sulfures. Cette évolution reflète une activité biologique intense et une maturation avancée de la colonne, marquée par un fonctionnement efficace du cycle du soufre.

Dans la zone supérieure aérobie de la colonne de Winogradsky, on observe une coloration orangée bien marquée, principalement au niveau de la surface et des parois internes du tube. Cette zone apparaît plus oxydée que les couches inférieures. La coloration est homogène et stable, indiquant une activité microbienne spécifique à ce niveau de la colonne (figure 4).



Figure 4 : Développement des bactéries sulfuroxydantes (*Thiobacillus*) dans la zone aérobie de la colonne

Discussion

La coloration orangée observée est attribuée au développement de bactéries chimiolithotrophes sulfuroxydantes du genre *Thiobacillus*. Ces bactéries se développent en conditions aérobie et utilisent l'oxygène comme accepteur final d'électrons pour oxyder les composés soufrés réduits (H_2S , soufre élémentaire) en sulfates. Leur activité traduit un

fonctionnement efficace du cycle du soufre dans la zone aérobie et contribue à la disparition des composés soufrés réduits provenant des couches plus profondes.

2.4 La colonne témoin



Figure 5 :la colonne de Winogradsky témoin

Observation :

La colonne témoin montre une stratification peu marquée, avec une coloration sombre et homogène du sédiment sur la majeure partie de sa hauteur. La zone inférieure apparaît nettement noire, tandis que les couches supérieures restent grisâtres à brun clair. Aucune bande colorée distincte et aucune pigmentation caractéristique de bactéries phototrophes ou sulfuroxydantes détectée.

Discussion:

L'absence de colorations spécifiques suggère un développement microbien limité et une faible diversité des communautés bactériennes dans la colonne témoin. Cette situation expliquée par l'absence ou la restriction des conditions favorables, telles qu'un apport lumineux insuffisant ou l'absence de substrats spécifiques nécessaires au développement des bactéries phototrophes et sulfuroxydantes.

3. Conclusion

La colonne de Winogradsky permet d'observer la diversité et la succession des communautés bactériennes dans un sédiment enrichi. Les différents horizons de la colonne montrent des conditions physico-chimiques variées, qui influencent la répartition des microorganismes : les cyanobactéries et phototrophes aérobies se trouvent en surface, les bactéries phototrophes sulfureuses occupent les zones intermédiaires, et les bactéries anaérobies sulfatoréductrices se localisent en profondeur. Ces observations illustrent comment les gradients d'oxygène, de lumière et de composés soufrés régulent la composition bactérienne et démontrent l'importance des interactions biotiques et abiotiques dans la structuration des écosystèmes microbiaux.