



HAL
open science

Apports du cryo-microscope électronique à balayage à émission de champ à l'étude des matières organiques et des relations organo-minérales naturelles. Application aux croûtes microbiotiques des sols Field emission cryo-scanning electron microscopy of organic matter and organomineral associations. Application to microbiotic soil crusts

Christian Défarge, Oumarou Malam Issa, Jean Trichet

► **To cite this version:**

Christian Défarge, Oumarou Malam Issa, Jean Trichet. Apports du cryo-microscope électronique à balayage à émission de champ à l'étude des matières organiques et des relations organo-minérales naturelles. Application aux croûtes microbiotiques des sols Field emission cryo-scanning electron microscopy of organic matter and organomineral associations. Application to microbiotic soil crusts. Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série IIa, Sciences de la terre et des planètes, Elsevier, 1999, 328, pp.591-597. 10.1016/S1251-8050(99)80155-4 . hal-00089140

HAL Id: hal-00089140

<https://hal-insu.archives-ouvertes.fr/hal-00089140>

Submitted on 5 Mar 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Apports du cryo-microscope électronique à balayage à émission de champ à l'étude des matières organiques et des relations organo-minérales naturelles. Application aux croûtes microbiotiques des sols

Field emission cryo-scanning electron microscopy of organic matter and organomineral associations. Application to microbiotic soil crusts

Christian Défarge^{a,b*}, Oumarou Malam Issa^b, Jean Trichet^b

^a École supérieure de l'énergie et des matériaux (Esem), 45072 Orléans cedex 2, France

^b Institut des Sciences de la Terre d'Orléans (FR 09 CNRS), UMR 6531 CNRS – université d'Orléans, BP 6759, 45067 Orléans cedex 2, France

(Reçu le 4 janvier 1999, accepté après révision le 29 mars 1999)

Abstract — The cryo-SEM (SEM equipped with a freeze-drying sample preparation system) allows the micromorphological transformations occurring during desiccation-rewetting cycles of microbiotic crusts from Sahelian soils to be visualised, like the swelling up of mucilaginous envelopes of the constituent micro-organisms through water absorption. When the cryo-SEM is equipped with a field emission gun, which permits observations at low voltage operation (1 kV) without coating, the natural surface of the samples may be revealed, in particular the presence, at the surface of mineral grains, of microbe-derived organic meshes that probably play a role in the resistance of these crusts to erosion. (© Académie des sciences / Elsevier, Paris.)

cyanobacteria / field emission cryo-scanning electron microscope / microbiotic crusts / Niger / Sahel / soil stabilization / water storage

Résumé — Le cryo-Meb (Meb équipé d'un système de préparation des échantillons par congélation–lyophilisation) permet de visualiser les modifications micromorphologiques se produisant lors des cycles de dessiccation–réhydratation des croûtes microbiotiques de sols sahéliens, comme le gonflement, par absorption d'eau, des enveloppes mucilagineuses des micro-organismes constitutifs. Lorsque le cryo-Meb possède un canon à émission de champ, qui autorise des observations à basse tension d'accélération (1 kV), sans métallisation, c'est l'état de surface naturel des échantillons qui peut être révélé, notamment la présence, autour des grains minéraux, de réseaux organiques d'origine microbienne, jouant vraisemblablement un rôle dans la résistance à l'érosion manifestée par ces croûtes. (© Académie des sciences / Elsevier, Paris.)

croûtes microbiotiques / cryo-microscope électronique à balayage à émission de champ / cyanobactéries / Niger / rétention d'eau / Sahel / stabilisation des sols

Note présentée par Georges Pédro.

* Correspondance et tirés à part.
Christian.Defarge@univ-orleans.fr

Abridged version

Introduction

Organic matter and living organisms, in particular micro-organisms, are important components of sediments, soils and natural waters. Scanning electron microscope (SEM) studies of these organic components can reveal both their nature, their micromorphology, and their structural relationships with the associated minerals. However, most organic specimens cannot be directly examined by SEM because they are unstable, rich in water or other fluids, or sensitive to electron beam irradiation, and electrically insulating. They must be stabilized to withstand the vacuum conditions in the microscope, and coated to become conductive.

In a previous paper, Défarge (1997) has shown, using the example of modern microbial sediments, that SEM equipped with a freeze-drying sample preparation system (cryo-SEM) may allow observations of the natural fabric of organic-rich and highly hydrated specimens. When the SEM is equipped with a Field Emission gun (FESEM), the specimens may be examined uncoated at low voltage operation, with a high resolution. The aim of this paper is to show the value of the cryo-FESEM for micromorphological studies of microbiotic soil crusts.

Microbiotic soil crusts

Microbiotic crusts are formed by colonization of the soil surface by microbial communities generally dominated by cyanobacteria, lichens, or eukaryotic algae (Campbell et al., 1989). They are common in arid and semi-arid environments, e.g. in the Sahel (Campbell et al., 1989; Verrecchia et al., 1995). They play a positive role in soil stabilization against erosion (Campbell et al., 1989; Pércz, 1997). They also affect water relation properties of soils, in particular they enhance their water-storage capacity (Verrecchia et al., 1995; Pérez, 1997).

The cryo-FESEM technique

Sample processing in the cryo-preparation system involves ultrarapid freezing (cryofixation) by plunging into a liquid with a high thermal conductivity, then sublimation of surface ice by temporary raising of the temperature under a vacuum (Défarge, 1997). The cryofixation transforms the water contained into ice whose crystalline domain dimensions (a few nm to a few tens of nm) do not exceed those of the finest details that can be observed, and thus do not modify the morphology of the samples at the observation scale. This technique permits details of the fabric of organomineral samples to be revealed that cannot be observed with a conventional SEM (Défarge, 1997; see also Paterson, 1995, for the application of cryo-SEM to other modern sediments, and Chenu and Tessier, 1995, for cryo-SEM observations of soil organic components and organic-clay associations).

SEM equipped with a field emission gun allows high resolution observations, even at low voltage operation, down to 1 kV (Défarge, 1997). Working at such a low voltage reduces penetration depth of the electron beam, providing a better

representation of the superficial parts of the sample, and minimizes charging effects, which allows direct examination, without coating, in most cases; the natural surface of the sample may thus be observed.

Materials and methods

The microbiotic crusts studied were collected in agricultural plots lying fallow near Banizoumbou, in western Niger, Sahel (Malam Issa et al., 1998). They are essentially formed by growth of filamentous cyanobacteria at the surface of sandy-loam soils.

Sampling was effected at the end of the dry season. Dry superficial samples of the crusts were examined under a conventional SEM (Jeol JSM 6400) after gold coating. Other samples were rewetted with demineralized water half an hour before they were cryo-prepared in the Polaron LT 7400 system of the cryo-FESEM (Hitachi 4200) used. These ca. 1 mm³ samples were cryofixed by plunge-freezing into nitrogen slush at -210 °C, cleared of superficial ice formed by temporary raising of the temperature to -90 °C, then observed at -150 °C. Most cryo-FESEM observations were made at 1 kV on uncoated samples. Some samples were also coated with gold-palladium, after the ice sublimation step.

Results and discussion

The comparison of conventional SEM images of dry samples (*figures 1 and 3*) and cryo-FESEM images of rewetted samples (*figures 2 and 4*) of microbiotic crusts from Banizoumbou shows that the volume of the constituent micro-organisms increased during rewetting. The mean diameter of the filamentous cyanobacteria present in site Chef increased from 10–15 µm (*figure 1*) to 15–20 µm (*figure 2*), while those of the globose colonies formed by the association of *Nostoc* filaments in site Hama increased from 50–100 µm (*figure 3*) to 150–250 µm (*figure 4*). These volume increases are due to swelling up of the mucilaginous envelopes of the cyanobacteria through water absorption (Campbell et al., 1989). Laboratory experiments have shown that the water storage capacity of microbiotic crusts from Banizoumbou was up to 36 % dry weight at pF 2.5, versus less than 4 % for the same soils devoid of microbial cover (Malam Issa et al., 1998).

The natural hydrated state of the microbiotic crusts shown in *figures 2 and 4* could not be observed with a conventional SEM because the hydrated organic parts of the samples would be distorted under vacuum in the microscope chamber or even during coating (Défarge, 1997). Inversely, dry samples may evidently be examined with cryo-SEM. This apparatus thus allows visualization of the micromorphological transformations occurring during the desiccation-rewetting cycles of microbiotic soil crusts.

The comparison of cryo-FESEM images of Banizoumbou microbiotic crusts obtained at 1 kV (*figures 5 and 7*), and at conventional operation voltages from 15 to 20 kV (*figures 6 and 8*), shows that low voltage observations can reveal details of the surface morphology of organic and mineral components,

and of their mutual relationships, which could not be observed with conventional SEM. The mucilage that envelopes each of the globose colonies of *Nostoc* filaments at the Hama site (*figure 4*) is obvious at 1 kV (*figure 5*), whereas it is invisible at 20 kV (*figure 6*; also compare this image with the view at 1 kV of the same colony in *figure 4*). At 1 kV the mineral grains of microbiotic crusts from the Abdou site appear to be enclosed by organic meshes (*figure 7*), which cannot be seen at 15 kV (*figure 8*). These organic meshes are formed by polysaccharides excreted by the micro-organisms which form the crusts (cyanobacteria or bacteria), and seem to play a role in the better resistance to erosion of these crusts by comparison to that of bare soils in the same area (Malam Issa et al., 1998). Organic networks formed by chains and clusters of microspheres connected by strands can also be seen, at 1 kV, on the surface of cyanobacterial filaments in the same site (*figure 9*); the microspheres are probably bacteria (*figure 10*).

High-resolution observations at low voltage operation in the FESEM thus reveal details of the microstructure of microbiotic

crusts which could not be seen at operational voltages of conventional SEM. This technique provides a new vision of these samples, closer to their natural surface state. Moreover, the ability of the FESEM to operate from 1 to 30 kV allows *écorché* views of certain components to be obtained (compare *figures 5* and *6*).

Conclusions

The application of cryo-FESEM to Sahelian microbiotic crusts shows further possibilities for high resolution examination of the microstructure of loose, highly hydrated, organic-rich samples. Any soil or sediment with at least one of these features should be observed with this technique, rather than with conventional SEM. Any other type of sample should benefit from the better resolution and the ability to visualize the natural surface of the components allowed by the FESEM.

1. Introduction

La matière organique et les organismes vivants, en particulier les micro-organismes, sont des composants majeurs des sédiments, des sols et des eaux. L'étude par microscopie électronique à balayage (Meb) de ces composants organiques peut permettre de révéler à la fois leur nature, leur micromorphologie et leurs relations structurales avec les minéraux associés. Toutefois, la plupart des composés organiques ne peuvent être observés en l'état au Meb, étant instables, riches en eau ou autres fluides ou sensibles au bombardement électronique, et électriquement isolants, ce qui implique qu'ils doivent être stabilisés pour résister au vide régnant dans le microscope, et métallisés pour être rendus conducteurs.

Dans un précédent article (Défarge, 1997), on a montré, sur l'exemple de sédiments microbiens actuels, que les Meb équipés d'un système de cryo-préparation opérant par congélation-lyophilisation de l'eau contenue (cryo-Meb) peuvent permettre d'observer la texture d'échantillons richement organiques et fortement hydratés, dans un état proche de leur état naturel. Lorsque le Meb possède un canon à émission de champ (Mebec), les observations peuvent être faites, sans métallisation, à basse tension d'accélération, avec une haute résolution. Le présent article étend l'application du cryo-Meb, équipé d'un canon à émission de champ (cryo-Mebec), à l'étude micromorphologique des croûtes microbiotiques des sols.

1.1. Les croûtes microbiotiques des sols

Les croûtes microbiotiques se forment par colonisation de la surface du sol par des communautés microbiennes, généralement dominées par des cyanobactéries, des lichens, ou des algues eucaryotes (Campbell et al., 1989). Elles sont particulièrement abondantes dans les régions

arides et semi-arides du globe, comme le Sahel (Campbell et al., 1989 ; Verrecchia et al., 1995). Elles jouent un rôle positif dans la préservation des sols, en augmentant leur résistance à l'érosion (Campbell et al., 1989 ; Pérez, 1997). Elles modifient également les propriétés hydriques des sols, notamment en accroissant leur capacité de rétention d'eau (Verrecchia et al., 1995 ; Pérez, 1997).

1.2. Le cryo-Meb

Les systèmes de cryo-préparation équipant les cryo-Meb opèrent par congélation ultrarapide (cryofixation) de l'échantillon dans un liquide de conductivité thermique élevée, puis sublimation de la partie superficielle de la glace ainsi formée, par remontée temporaire de la température sous vide (Défarge, 1997). La cryofixation permet de transformer l'eau contenue en glace, dont les dimensions des domaines cristallins (quelques nanomètres à quelques dizaines de nanomètres) n'excèdent pas celles des plus fins détails pouvant être observés, et donc ne modifient pas la morphologie de l'échantillon à l'échelle utilisée. Cette technique permet de révéler des détails de la texture organo-minérale naturelle des échantillons qui ne peuvent être observés par les Meb conventionnels. Outre l'exemple des sédiments microbiens déjà cités (Défarge, 1997), on se reportera à Paterson (1995) pour l'application des techniques de cryo-préparation pour le Meb à d'autres sédiments récents, et à Chenu et Tessier (1995) pour l'observation par cryo-Meb de la microstructure de constituants organiques de sols et de leur association avec des particules argileuses.

1.3. Le Meb à émission de champ

Les Meb équipés d'un canon à émission de champ autorisent des observations à haute résolution, y compris aux basses tensions d'accélération, jusqu'à 1 kV (Défarge,

1997). À ces tensions très inférieures aux tensions de travail des Meb conventionnels, les électrons, moins pénétrants, fournissent une image plus représentative des parties superficielles des échantillons, et la métallisation n'est fréquemment pas nécessaire, les effets de charge étant réduits ; l'observation de l'état de surface originel des échantillons devient donc possible.

2. Matériels et méthodes

Les croûtes microbiotiques étudiées proviennent de parcelles agricoles mises en jachère près du village de Bani-zoumbou, dans l'Ouest du Niger, au Sahel (Malam Issa et al., 1998). Elles sont majoritairement formées par le développement de cyanobactéries filamenteuses à la surface de sols sablo-limoneux.

Les croûtes ont été prélevées à la fin de la saison sèche. Des échantillons de surface des croûtes sèches ont été observés au Meb conventionnel (Jeol JSM 6400), après avoir été métallisés à l'or. D'autres échantillons ont été réhydratés par recouvrement d'eau déminéralisée pendant environ une demi-heure, avant d'être préparés par le système de cryo-préparation Polaron LT 7400 équipant le Meb à émission de champ Hitachi 4200 utilisé. La cryo-préparation a consisté à congeler ces échantillons de faible volume (autour de 1 mm³), par immersion dans de l'azote pâteux à -210 °C, puis à les débarrasser de la glace superficielle formée, en la sublimant par remontée temporaire de la température jusqu'à -90 °C, avant de les observer à froid (-150 °C). La plupart des observations au cryo-Mebec ont été effectuées à 1 kV, sur les échantillons non métallisés. Dans certains cas, une métallisation à l'or-palladium a été effectuée, après l'étape de sublimation.

3. Résultats et discussion

La comparaison des images d'échantillons secs, obtenues au Meb conventionnel (figures 1 et 3), et d'échantillons réhumectés, obtenues au cryo-Mebec (figures 2 et 4), des croûtes microbiotiques de Banizoumbou, montre que la réhydratation se traduit par une augmentation du volume des micro-organismes constitutifs. Les cyanobactéries filamenteuses présentes au site Chef voient leur diamètre moyen passer de 10–15 µm (figure 1) à 15–20 µm (figure 2), tandis que les colonies globuleuses formées, au site Hama, par le regroupement de filaments de cyanobactéries du genre *Nostoc* passent de 50–100 µm (figure 3) à 150–250 µm (figure 4) de diamètre moyen. Ces augmentations de volume sont dues au gonflement, par absorption d'eau, des enveloppes mucilagineuses des organismes (Campbell et al., 1989), manchons dans le cas des filaments du site Chef (figure 2), mucilage commun englobant les filaments de *Nostoc* au site Hama (figure 4). Des expériences de laboratoire ont montré que des échantillons de croûtes microbiotiques de la région de Bani-zoumbou possédaient des capacités de rétention d'eau

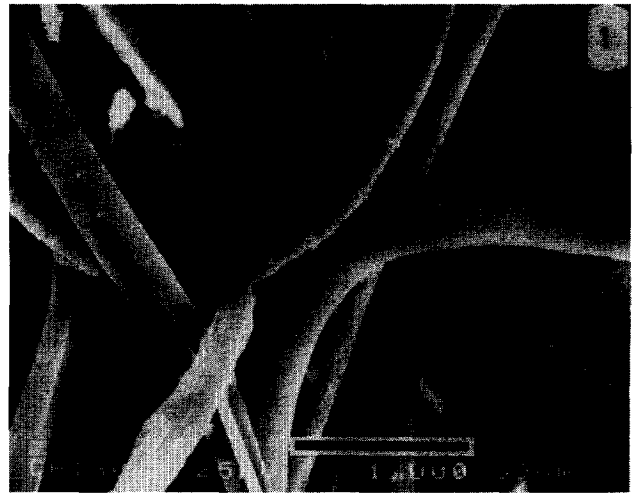


Figure 1. Aspect au Meb conventionnel des cyanobactéries filamenteuses formant les croûtes microbiotiques du site Chef. Échantillon sec, métallisé. La barre d'échelle représente 30 µm.

Conventional SEM view of filamentous cyanobacteria forming microbial crusts at the Chef site. Dry, metal-coated sample. Scale bar is 30 µm.



Figure 2. Aspect au cryo-Mebec de l'échantillon de la figure 1, après réhumectation, au même grossissement, sans métallisation.

Cryo-FESEM view of sample from figure 1 after rewetting, at the same magnification, without coating.

allant jusqu'à 36 % en masse à pF 2,5, contre 4 % au maximum pour les mêmes sols dépourvus de couvert microbien (Malam Issa et al., 1998).

L'état hydraté naturel des croûtes microbiotiques, illustré par les figures 2 et 4, ne pourrait être observé au Meb conventionnel, la dépression imposée aux échantillons dans la chambre du microscope, ou dès l'étape de métallisation, conduisant à la déformation des parties organiques gorgées d'eau (Défarge, 1997). Par contre, les échantillons secs sont évidemment observables au cryo-Meb. Cet appareil permet donc de visualiser les modifications micromorphologiques se produisant lors des cycles de dessiccation-réhydratation des croûtes microbiotiques.

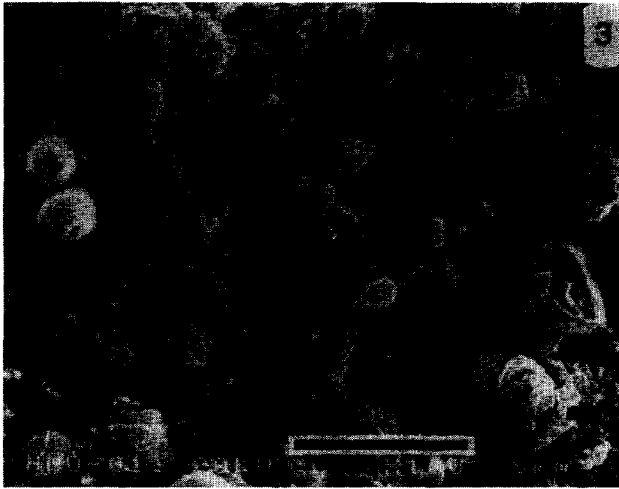


Figure 3. Aspect au Meb conventionnel des cyanobactéries du genre *Nostoc* formant les croûtes microbiotiques du site Hama. Les filaments sont regroupés en colonies globuleuses. Échantillon sec, métallisé. La barre d'échelle représente 300 μm .

Conventional SEM view of *Nostoc* cyanobacteria forming microbiotic crusts at the Hama site. The filaments are grouped in globose colonies. Dry, metal-coated sample. Scale bar is 300 μm .



Figure 4. Aspect au cryo-Mebec de l'échantillon de la *figure 3* après réhumectation, au même grossissement, sans métallisation.

Cryo-FESEM view of sample of *figure 3* after rewetting, at the same magnification, without coating.

La comparaison des images obtenues au cryo-Mebec à 1 kV (*figures 5* et *7*), et à des tensions d'accélération conventionnelles de 15 à 20 kV (*figures 6* et *8*), des croûtes microbiotiques de Banizoumbou, montre que les observations à basse tension permettent de révéler des détails de l'état de surface des constituants organiques et minéraux, et de leurs relations spatiales et structurales mutuelles, qui restent inaccessibles aux Meb conventionnels. L'enveloppe mucilagineuse entourant chacune des colonies globuleuses de filaments de *Nostoc* du site Hama (*figure 4*) est bien visible à 1 kV (*figure 5*), alors qu'elle est indécélable à 20 kV (*figure 6* ; comparer également cette image avec la vue à moindre grossissement de la même



Figure 5. Vue, à plus fort grossissement, de la colonie globuleuse en haut, à droite, de la *figure 4*, faisant apparaître l'enveloppe mucilagineuse commune réunissant les filaments de *Nostoc*.

Enlarged view of one of the globose *Nostoc* colonies of *figure 4* (upper right corner), showing the common mucilage that envelopes the filaments.



Figure 6. Aspect à 20 kV de la colonie globuleuse en bas, à droite, de la *figure 4*, après métallisation. L'enveloppe mucilagineuse superficielle n'est plus visible (comparer avec la *figure 5*).

View at 20 kV, after metal-coating, of one of the globose colonies from *figure 4* (lower right corner). The superficial mucilaginous envelope cannot be seen (compare with *figure 5*).

colonie à 1 kV, sur la *figure 4*). À 1 kV, les grains minéraux des croûtes microbiotiques du site Abdou apparaissent enserrés dans des filets organiques (*figure 7*), qui sont invisibles à 15 kV (*figure 8*). Ces filets organiques sont formés par des polysaccharides excrétés par les microorganismes constituant les croûtes (cyanobactéries ou bactéries), et paraissent jouer un rôle dans la rétention des grains minéraux, conduisant à la meilleure résistance à l'érosion des croûtes par rapport aux sols nus de la même zone (Malam Issa et al., 1998). Des réseaux organiques, formés de chapelets et d'amas de microsphères reliés par des fils organiques semblables à ceux entourant les grains

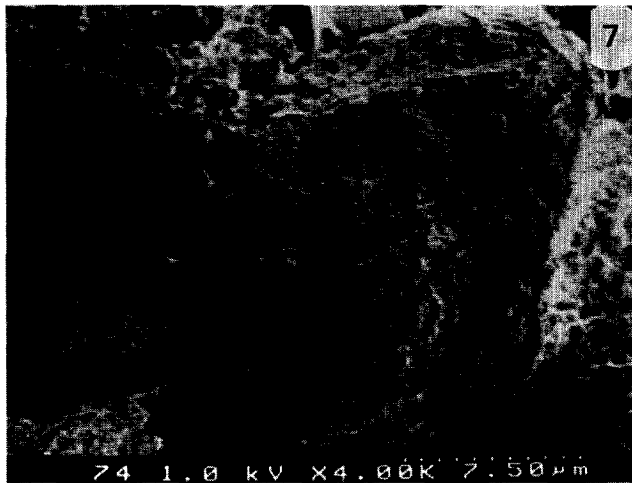


Figure 7. Aspect au cryo-Mebec des croûtes microbiotiques du site Abdou. Les grains minéraux apparaissent enserrés dans un filet organique, d'origine mucilagineuse probable. Échantillon réhumecté, métallisé.

Cryo-FESEM view of microbiotic crusts in site Abdou. Mineral grains appear to be enclosed by organic meshes probably formed by mucilaginous secretions. Rewetted, metal-coated sample.

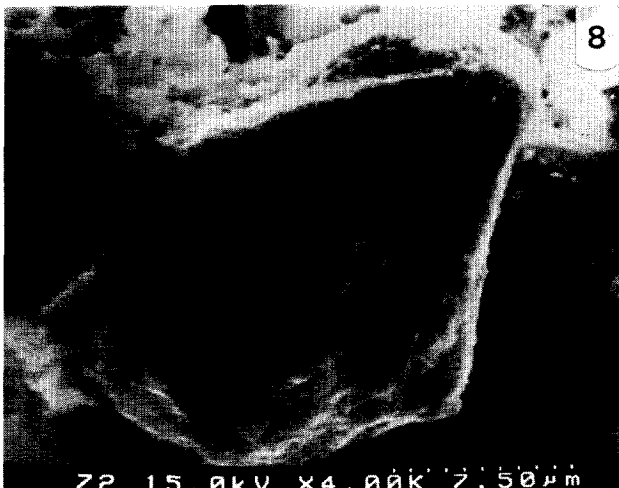


Figure 8. Aspect à 15 kV du grain minéral de la *figure 7*. Le filet organique n'est plus visible.

View at 15 kV of the mineral grain of *figure 7*. The organic mesh cannot be seen.

minéraux (*figure 7*), sont également visibles, à 1 kV, à la surface de cyanobactéries du même site (*figure 9*) ; les microsphères présentent l'aspect de corps bactériens (*figure 10*).

Les observations à basse tension d'accélération, avec une excellente résolution, autorisées par le Mebec, permettent de révéler des caractéristiques microstructurales des croûtes microbiotiques, qui sont indécélables aux tensions d'accélération des Meb conventionnels. C'est une vision nouvelle, plus proche de la réalité de l'état de surface des échantillons, qu'offre cette technique microscopique. De plus, la capacité des Mebec à opérer dans toute la gamme des tensions entre 1 et 30 kV permet

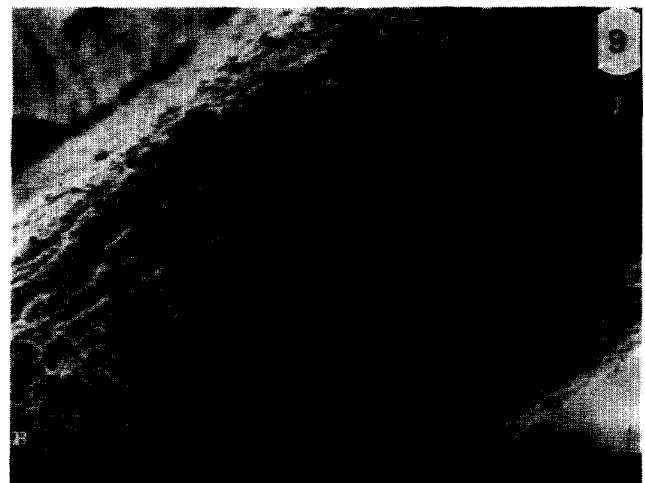


Figure 9. Aspect au cryo-Mebec d'une cyanobactérie filamenteuse des croûtes microbiotiques du site Abdou. La surface du filament apparaît recouverte d'un réseau formé de chapelets et d'amas de microsphères reliés par des fils organiques. Échantillon réhumecté, non métallisé.

Cryo-FESEM view of a filamentous cyanobacterium from the microbiotic crusts at the Abdou site. The filament surface appears to be covered with a network formed by chains and clusters of microspheres connected by organic strands. Rewetted, uncoated sample.

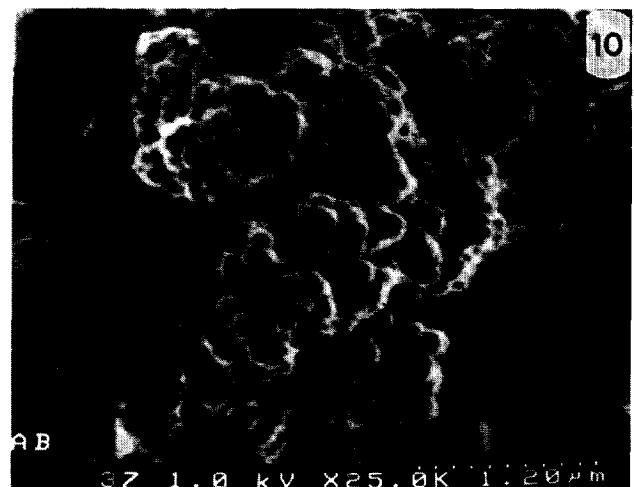


Figure 10. Vue, à plus fort grossissement, d'un amas de microsphères de la surface du filament cyanobactérien de la *figure 9*, illustrant leur origine bactérienne probable.

Enlarged view of a cluster of microspheres on the surface of the cyanobacterial filament from *figure 9*. The microspheres are probably bacteria.

d'obtenir un effet d'écorché de la surface de certains constituants (comparer les *figures 5* et *6*).

4. Conclusions

Appliquée aux croûtes microbiotiques du Niger, la combinaison des techniques du cryo-Meb et du Meb à émission de champ démontre de nouvelles possibilités

d'observation à haute résolution de la composition, de la micromorphologie et des relations microstructurales entre constituants au sein d'échantillons organo-minéraux, riches en eau et fragiles. Tout échantillon sédimentaire ou pédologique possédant au moins l'une de ces caractéris-

tiques devrait être observé par ces techniques, plutôt qu'au Meb conventionnel. Tout autre type d'échantillon devrait pouvoir bénéficier des gains de résolution et des possibilités de visualiser l'état de surface naturel des constituants offerts par le Mebec.

Remerciements. J.-L. Rajot et C. Valentin ont guidé les campagnes d'échantillonnage. A. Genty et A. Richard ont apporté leur concours aux observations microscopiques. Les remarques de D. Tessier ont permis d'améliorer la précision du texte. Cet article est une contribution au projet IGCP 380 *Biosedimentology of microbial buildups*.

5. Références

Campbell S.E., Seeler J.S. et Golubic S. 1989. Desert crust formation and soil stabilization, *Arid Soil Res. Rehab.*, 3, 217–228

Chenu C. et Tessier D. 1995. Low temperature scanning electron microscopy of clay and organic constituents and their relevance to soil microstructure, *Scanning Microscopy*, 9 (4), 989–1010

Défarge C. 1997. Apports du cryo-microscope électronique à balayage et du microscope électronique à balayage haute résolution à l'étude des matières organiques et des relations organo-minérales naturelles. Exemple des sédiments microbiens actuels, *C. R. Acad. Sci. Paris*, 324, série IIa, 553–561

Malam Issa O., Trichet J., Défarge C., Valentin C., Rajot J.-L. et Couté A. 1998. Micromorphology of microbiotic crusts from Niger soils. Influence on soil–water dynamics, in : *Actes 16^e Congr. Mond. Sci. Sol*, Montpellier, 20–26 août 1998, Symp. 30, n° 961, 7 p.

Paterson D. 1995. Biogenic structure of early sediment fabric visualized by low-temperature scanning electron microscopy, *J. Geol. Soc. London*, 152, 131–140

Pérez F.L. 1997. Microbiotic crusts in the high equatorial Andes, and their influence on paramo soils, *Catena*, 31, 173–198

Verrecchia E., Yair A., Kidron, G.J. et Verrecchia K. 1995. Physical properties of the psammophile cryptogamic crust and their consequences to the water regime of sandy soils, north-western Negev Desert, Israel, *J. Arid Environ.*, 29, 427–437