

ECOLOGIE MICROBIENNE

LBOE 2148

2023

Table des matières

PARTIE I: évolution et diversité microbienne

1. Définition
2. Exemples d'intérêt des microorganismes et de leurs rôles néfastes
3. Brève histoire de l'écologie microbienne
4. La phylogénie microbienne
 - 4.1. Quelques définitions
 - 4.2. Méthode divisive
 - 4.3. Méthode agglomérative.
 - 4.4. La phénétique
 - 4.5. La cladistique
 - 4.5.1. classification phylogénétique >< classification classique
 - 4.5.2. caractères utilisés en cladistique
5. L'arbre du vivant
 - 5.1. Historique
 - 5.2. Dernier ancêtre commun universel
 - 5.3. Neomura: à l'origine des Archées et Eucaryotes!
 - 5.4. Caractéristiques majeures différenciant Bacteria, Archae et Eukarya
6. La diversité microbienne
 - 6.1. critère morphologique
 - 6.2. critère trophique
 - 6.3. critère respiratoire
 - 6.4. critère physiologique
 - 6.5. Habitats et environnements extrêmes

7. La diversité des procaryotes

7.1. Domaine des *Bacteria*

7.1.1. Protéobactéries

7.1.1.1. Exemples de Protéobactéries

- (1) *Rhodospirillales* – *Acetobacter*
- (2) *Enterobacteriales* – *Escherichia coli*
- (3) *Legionellales* – *Legionella*
- (4) *Pasteurellales* – *Haemophilus*
- (5) *Vibrionales* – *Vibrio*
- (6) *Pseudomonadales* – *Pseudomonas*
- (7) *Rhizobiales* – *Rhizobia*
- (8) *Rhizobiales* – *Agrobacterium*

7.1.2. Bactéries gram positives

7.1.3. Actinobactéries

7.1.4. Cyanobactéries

7.1.5. Chlamydia

7.1.6. Planctomyces

7.1.7. Verrucomicrobia

7.1.8. Flavobactéries

7.1.9. Cytophaga

7.1.10. Bactéries vertes sulfureuses

7.1.11. Spirochètes

7.1.12. Deinococci

7.1.13. Bactéries vertes non sulfureuses

7.1.14. Thermotoga, Thermodesulfobacterium, Aquifex

7.1.15. Nitrospira

7.1.16. Deferribacter

7.2. domaine des *Archaea*

7.2.1. Phylogénie

7.2.2. Euryarchaeota

7.2.2.1. Archae halophiles extrêmes

7.2.2.2. Archae productrices de méthane

7.2.2.3. Thermoplasmatales

7.2.2.4. Euryarchaeota hyperthermophiles

7.2.3. Crenarchaeota

7.2.3.1. Habitat et métabolisme énergétique

7.2.3.2. Hyperthermophiles des habitats volcaniques terrestres

7.2.3.3. Hyperthermophiles des habitats volcaniques sous-marin

7.2.4. Nanoarchaeota

7.2.4.1. Nanoarchaeum

7.2.5. L'évolution et la vie à haute température

7.2.5.1. Stabilité thermique des molécules biologiques

7.2.5.2. Archae hyperthermophiles, H₂ et évolution microbienne

8. La diversité des eucaryotes

8.1. Phylogénie des Eukarya

8.2. Protozoaires

8.3. Moisissures glaireuses

8.4. Champignons

8.5. Algues

PARTIE II: méthodes d'étude des microorganismes

9. Méthodes en écologie microbienne

9.1. analyse des communautés microbiennes par les méthodes de culture

9.2. analyse des communautés microbiennes par les méthodes moléculaires

9.3. Mesures de l'activité microbienne dans l'environnement

PARTIE III. Ecologie microbienne

10. Ecosystèmes microbiens

10.1. Populations, guildes, communautés

10.2. Environnements et microenvironnements

10.3. Croissance microbienne sur les surfaces et biofilms

11. Habitats microbiens du sol et des eaux douces

11.1. Environnements terrestres

11.2. Environnements d'eau douce

12. Microbiologie marine

12.1. Habitats marins et distribution des microorganismes

12.2. Microbiologie abyssale

12.3. Sources hydrothermales

13. Cycle du carbone et de l'oxygène

13.1. Cycle du carbone

13.2. Syntrophie et méthanogenèse

13.3. Cycle du carbone chez les ruminants

14. Autres cycles biogéochimiques majeurs

14.1. Cycle de l'azote

14.2. Cycle du soufre

14.3. Cycle du phosphore

15. Bioremédiation microbienne

15.1. Biolixiviation des minerais

15.2. Le mercure et les transformations des métaux lourds

15.3. Biodégradation du pétrole

15.4. Biodégradation des xénobiotiques

16. Interactions entre plantes et microorganismes

16.1. L'environnement des plantes

16.2. Lichens et mycorhizes

16.3. Agrobacterium et la maladie du crown gall

16.4. Associations symbiotiques des bactéries des nodosités racinaires chez les légumineuses

17. Microbiologie industrielle

17.1. Microorganismes industriels et formation des produits

17.2. Produits pharmaceutiques

17.3. Principaux produits alimentaires et boissons

18. Génie génétique et biotechnologie

18.1. Techniques du génie génétique

18.2. Applications pratiques du génie génétique

PARTIE I

Evolution et diversité microbienne

1. Définition

Ecologie microbienne = étude des microorganismes dans leur environnement (habitat, écosystème) ainsi que les interactions entre eux et avec leur milieu.

Cette discipline consiste à caractériser

- la biodiversité microbienne d'un écosystème
- Les interactions entre microorganismes (chaînes trophiques)
- Rôle des microorganismes dans l'écosystème
- Les interactions hôtes-microorganismes (ex. symbiose, parasitisme, commensalisme...)

Très petit – très nombreux – ubiquistes – diversifiés – adaptatifs – impliqués dans de nombreux domaines

- Cycles biogéochimiques
- Agriculture
- Médecine
- Dépollution
- Agroalimentaire
- Biotechnologie
- ...

Amélioration de la qualité de vie

- Biotransformations
- Production de métabolites d'intérêt
- Productions alimentaires – activités enzymatiques
- Biodégradation/bioremediation
- Biotechnologie
- Sécurité alimentaire
- Santé humaine

MAIS ... ennemis potentiels

- Agents de pourritures
- Microorganismes toxiques
- Mycoses
- Agents phytopathogènes

La plupart des microorganismes restent inconnus

100 gr de sol = 100 000 000 000 cellules microbiennes

= plusieurs centaines/milliers d'espèces non cultivables/inconnues

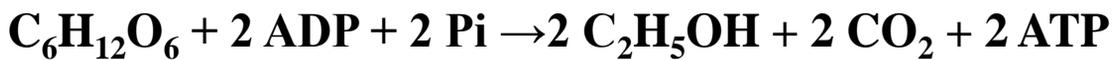
5% de la diversité connue

2. Exemples d'intérêts des microorganismes et de leurs rôles néfastes

Biotransformations

Fermentations levuriennes

Alcool (fermentation éthylique (alcoolique))



Source d'énergie = molécule organique

Source de carbone = glucose

Vin : levures indigènes sur la peau des grappes de raisin qui fermentent spontanément lorsque le raisin est pressé.

Bière: Ex. fermentation avec *Saccharomyces cerevisiae* & *S. carlsbergensis*.

Pain: levures sélectionnées pour leur production de CO₂ (pain aéré) et leurs qualités organoleptiques.

Métabolites d'intérêt

Antibiotiques

Pénicilline (antibiotique antibactérien)

- *Penicillium chrysogenum*: (commun dans les sols, matières organiques, denrées alimentaires)
- *Penicillium notatum*

Griséofulvine (antibiotique antifongique actif contre les dermatophytes)

- *Penicillium griseofulvum*
 - largement répandue dans le sol et les matières en décomposition.

Céphalosporines (antibiotique antibactérien)

- *Cephalosporium acremonium*
 - Efficace contre *Staphylococcus aureus*
 - agissant sur *Salmonella typhi*, l'agent responsable de la fièvre typhoïde.

Echinocandines (antibiotique antifongique)

- *Glarea lozoyensis*
 - moisissure du sol isolé d'une rivière (lozoya - Espagne).

Activités enzymatiques

Amylases

- conversion de l'amidon en glucose
- *Aspergillus niger* et *A. oryzae*

Invertases

- Hydrolyse du saccharose en glucose et fructose
- Très utilisé en confiserie
- *Saccharomyces*, *Alternaria*, *Penicillium*

Pectinases

- Clarification des jus de fruit
- *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*

Cellulases

- *Trichoderma* sp. dégradent des polysaccharides complexes. Sont utilisés par DENIM pour donner le caractère blanchi des jeans DENIM lavé à la pierre
- Utilisé dans l'alimentation pour bétail pour augmenter la digestibilité de l'hémicellulose de l'orge et d'autres céréales.

Laccases

- Dégradation de la lignine
- Industrie du papier, des colorants

• Composés aromatiques

- *Penicillium camembertii*: fabrication de fromages à pâte molle et croûte fleurie
- *Penicillium roquefortii*: affinage des fromages à pâte persillée.
- *Rhizopus oligopus* (Tempeh dans les plats indonésiens)

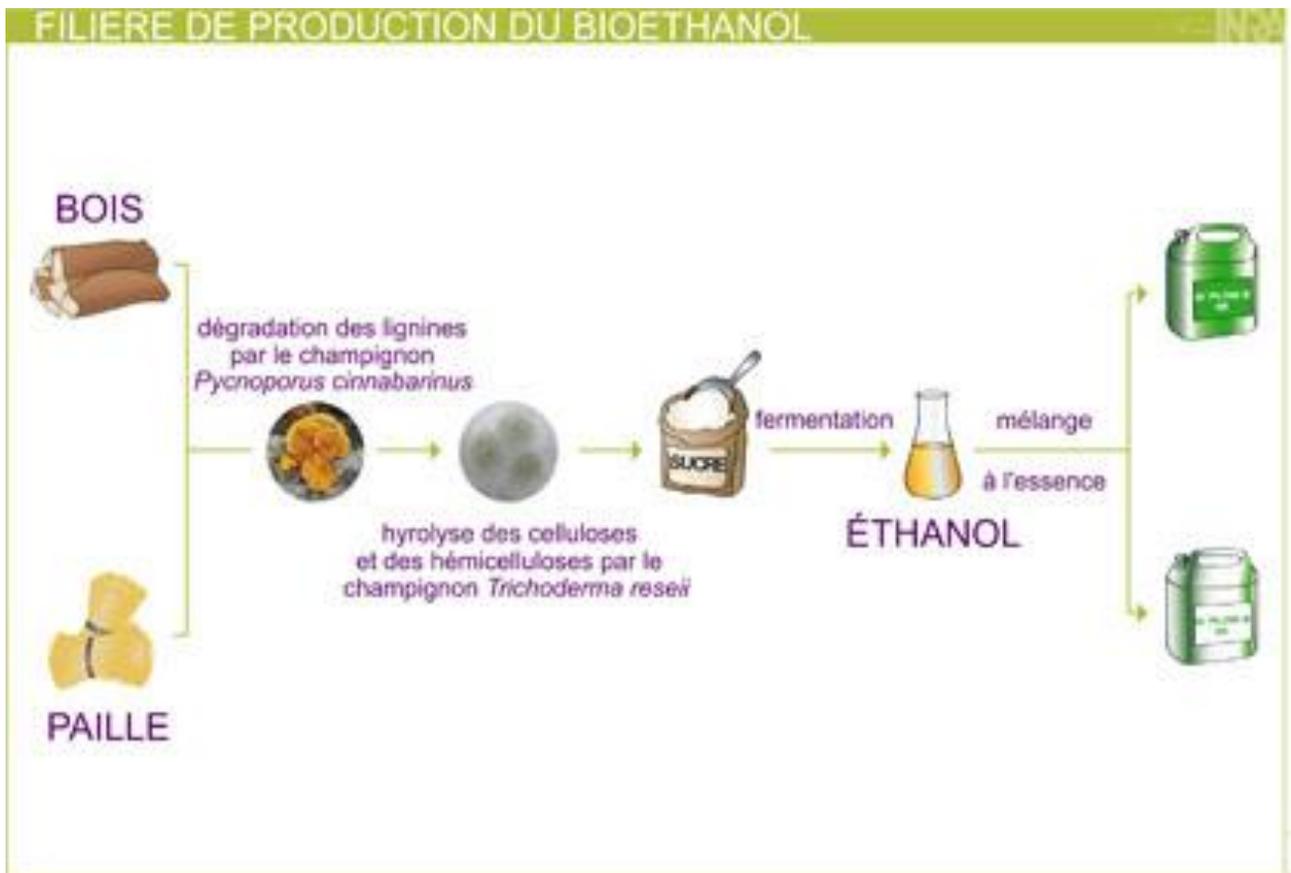
Les bio-carburants

Biocarburants de première génération

aliments (maïs, colza ...)

Biocarburants de seconde génération

ligno-cellulose (bois, déchets végétaux ...)



http://www.inra.fr/60ans/60_ans_de_resultats/les_champignons_filamenteux_pour_produire_les_bio_carburants

Production de biomasse

Mycoprotéines (ex: *Fusarium graminearum*)

Envie de quelque chose de différent?

Bienvenu dans le monde merveilleux du Quorn! Nous sommes fiers de notre gamme de produits car nous sommes convaincus que nous pouvons aider chacun de vous à manger de manière plus saine, tout en mangeant agréablement, ce qui, a priori, n'est pas une évidence.



Visualisez la gamme Quorn 



Agent des pourritures

Beaucoup de fruits peuvent être endommagés par des champignons (moisissures)

- *Penicillium expansum* est un agent de pourriture des fruits (pommes et poires) et peut de plus produire la patuline. Cette espèce peut contaminer les jus de fruits et compotes.
- *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* sont des agents de pourriture "vertes" et "bleues" des agrumes.
- *Aspergillus ochraceus* largement répandu, dans le sol, sont des agents de pourriture des pommes et des poires.
- *Phytophthora infestans*: pourriture des tubercules de pomme de terre.

La viande et le poisson peuvent être endommagés

- *Mucor*, *Rhizopus*, *Thamnidium* – indicateurs de mauvaise conditions de conservation des aliments (et de la présence d'autres organismes (bactéries) qui peuvent être toxiques)

Champignons toxiques et mycotoxines

Champignons toxiques

- Champignons macroscopiques
- Estimation: 100 toxiques – 10/20 mortelles
- 1500 – 2000 cas/an en France – juillet/octobre
- Confusion lors de l'identification
- Identification à posteriori difficile
- Petite histoire d'intoxications célèbres
 - Empereur Claude
 - Charles VI
 - Ergotisme
- Classiquement



Claviceps purpurea

- < 6 heures: syndromes à latence court
- > 6 heures: syndrome à latence longue

G. esculenta



Produit la gyromitrin : une toxine mortelle.
Fausse morille. Peut être confondu avec les morilles (comestibles)

Gyromitra esculenta

Morille



Morchella esculenta

Mycotoxines

= toxines élaborées par diverses espèces de champignons microscopiques tel que les moisissures

Molécules de faible poids moléculaire (< 1000 d). Difficilement dégradables, elles peuvent subsister dans les denrées même après l'élimination des moisissures.

Table 6.2 Some environmentally important mycotoxins. From Deacon

Toxin	Fungi characteristically involved	Principal food/feed	Effects
Aflatoxins	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Peanuts, oilseeds	Liver damage
Sterigmatocystin	<i>A. versicolor</i>	Grain, oilseeds	Liver damage
Ochratoxins	<i>A. ochraceus</i>	Grain, oilseeds	Liver damage
Citrinin	<i>Penicillium citrinum</i>	Peanut, cereals	Kidney damage
Penicillic acid	<i>P. cyclopium</i>	Cereals	Cardiac toxin
Rubratoxins	<i>P. rubrum</i>	Seeds	Haemorrhage
Trichothecenes	All <i>Fusarium</i> spp.	Cereals	Various (oestrogenic, abortive)
Patulin	<i>A. clavatus</i> <i>P. expansum</i>	Seeds Apples	Neurotoxin

Muscarin *Amanita muscaria*

Phallotoxines *A. virosa*, *A. phalloides*

Psilocybin *Psilocybe* spp., *Inocybe* spp.

Cyclosporine *Trichoderma polysporum*

Fumonisine *Fusarium moniliforme*

nausée, vomissement,

hallucination

lésions au foie et
souvent la mort

Hallucinations

immunodépresseur
pour prévenir le rejet
d'organes

oedème pulmonaire
chez le porc,
avortement chez la
vache, perte de poids,
possible cancer de
l'œsophage chez
l'homme,
athérosclérose

Mycoses

20 à 25 % de l'humanité souffre périodiquement de mycoses cutanées

Les principales mycoses sont :

les candidoses

- dues à des levures du genre *Candida*
- affectent la peau et les muqueuses

les dermatophytoses

- dues à des champignons du genre *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*.
- kératinophiles: affectent la peau, les ongles et les cheveux.
Exemple: la teigne qui touche le cuir chevelu

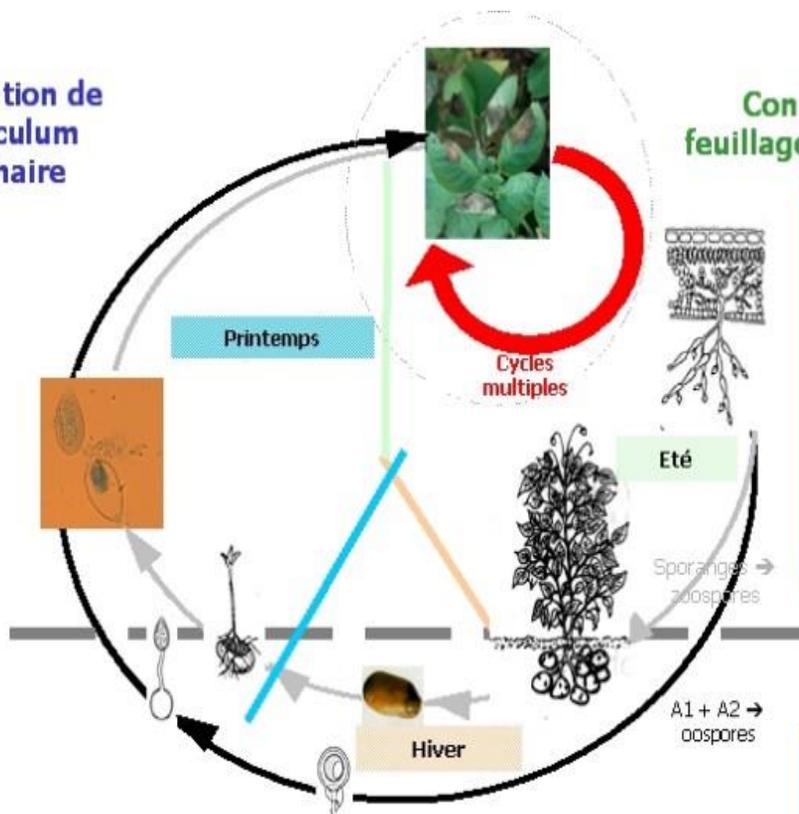
Les aspergilloses

- Dues à des champignons du genre *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. terreus*).
- peuvent envahir les organes internes, (les poumons)

Mildiou: nom générique d'une série de maladies cryptogamiques communes chez de nombreuses plantes.

Ex: Phytophthora infestans attaque la pomme de terre, et fut responsable entre 1845 et 1849 de la Grande Famine en Irlande.

Formation de l'inoculum primaire



Contamination du feuillage sain → épidémie

En été, les cycles reproductifs se succéderont à chaque nouvelle période favorable (humide et chaude). La succession rapide des cycles (1 par semaine ou plus) menant à la formation d'une quantité considérable de sporanges sera responsable du caractère épidémique de la maladie. Les sporanges peuvent être entraînés par la pluie dans le sol où ils contamineront les tubercules.

Conservation dans le sol et les tubercules

Au printemps, il se développe dans les jeunes plantules issues des tubercules contaminés et fructifie en formant des sporanges (spores) qui se détacheront sous l'effet du vent ou de la pluie et iront contaminer le feuillage sain.

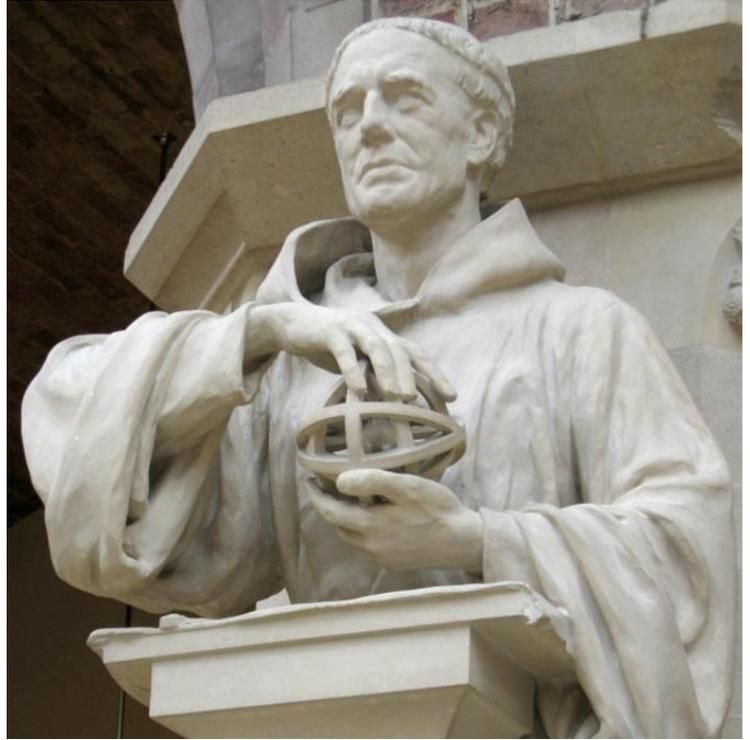
En hiver, le mildiou (*Phytophthora infestans*), survit sous forme de mycelium dans les tubercules contaminés ou, plus rarement, sous forme d'oospores dans le sol.

3. Brève histoire de l'écologie microbienne

Roger Bacon (1214 – 1294) – Philosophe et savant.

Un des pères de la
méthode scientifique.

*« aucun discours ne
peut donner la
certitude, tout repose
sur l'expérience »*



Observations sur l'optique – trichromie

Inventeur des verres grossissants

Premières lentilles grossissantes en 1267 **MAIS** pas assez performantes pour microbes

Zacharius Janssen (1580 – 1638) – homme de spectacle

Probable inventeur
du télescope

Parfois crédité comme
l'inventeur du premier
microscope optique.

(deux lentilles mieux
qu'une).



D'abord microscope à simple lentille pour les personnes à
faible vision (spéculation).

Puis crée un microscope optique avec deux lentilles.

Agrandissement jusqu'à 9 fois la taille de l'objet de départ.

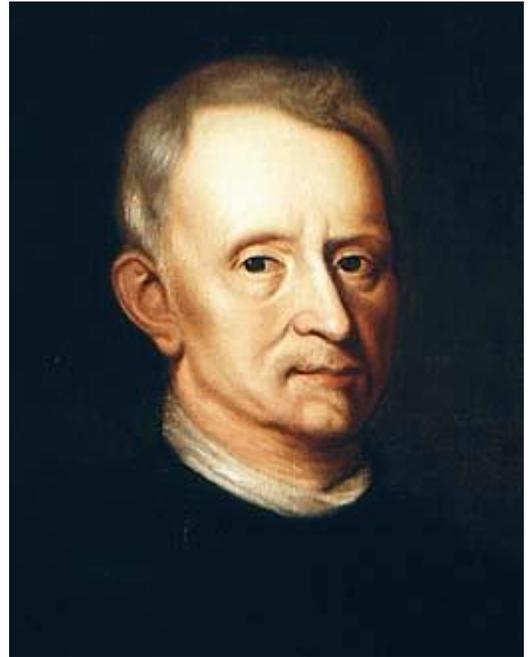
Robert Hooke (1635 - 1702) – naturaliste anglais

Biologie: A introduit le mot cellule (1665)

Observe du liège,
des moisissures et des
champignons pathogènes

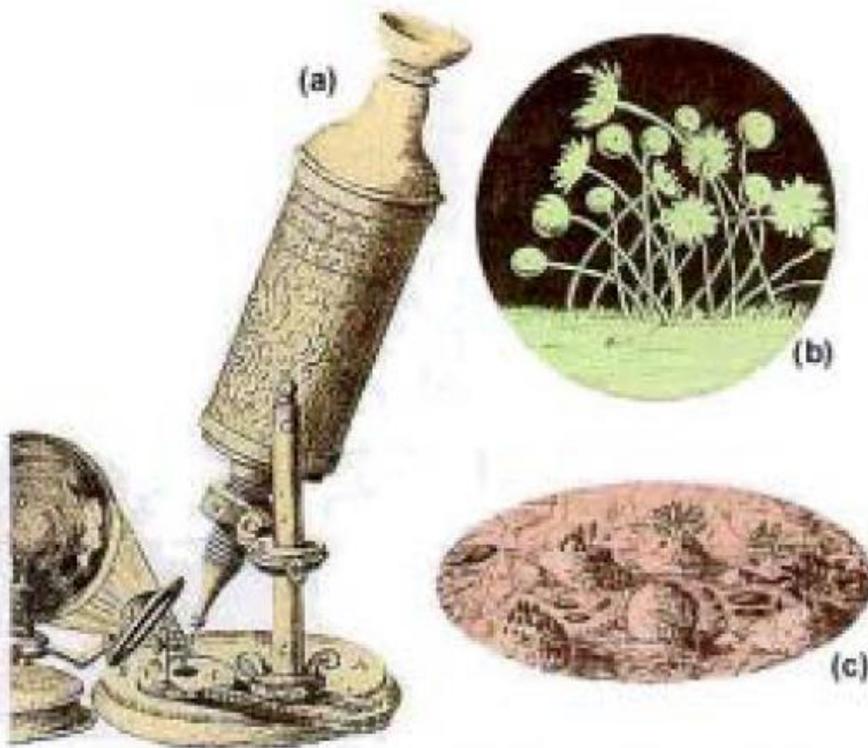
Optique:

Inventeur du microscope
composé



MAIS cette attribution semble inexacte car Zacharius Janssen avait déjà construit des microscopes similaires.

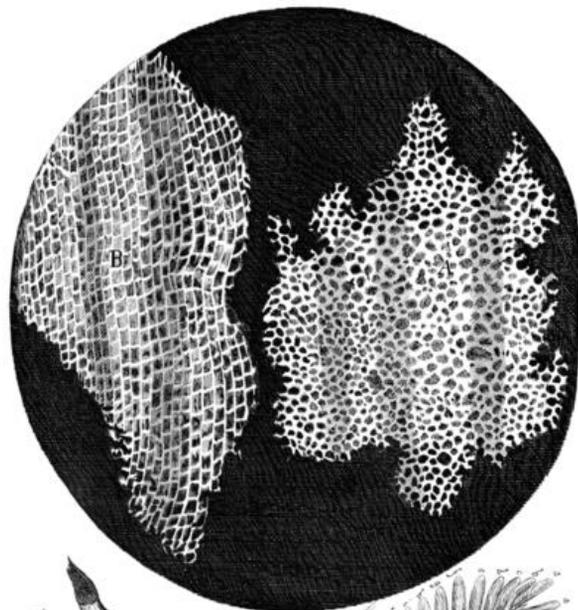
Néanmoins, les microscopes de Hooke atteignaient un **grossissement de trente fois**, ce qui était bien supérieur aux instruments précédents.



Robert Hook's microscope (a), drawing of blue fungi found on leather showing round-shaped spore (b) and mildew found on an old rose leaf (c).

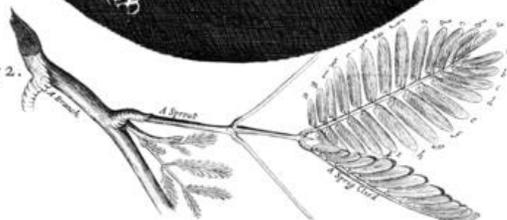
.....XI.

Fig. 1.



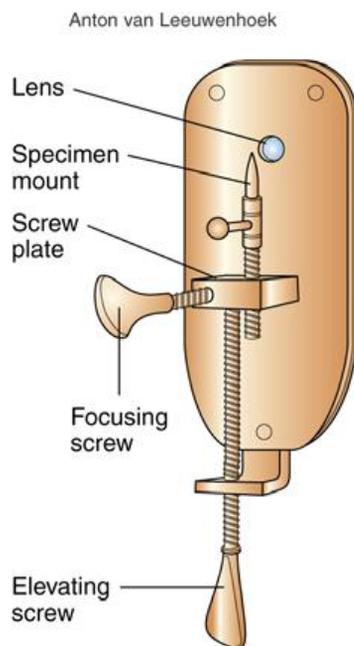
« cellules » observées dans des coupes d'écorce d'arbre

Fig. 2.



Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723) – drapier et savant néerlandais

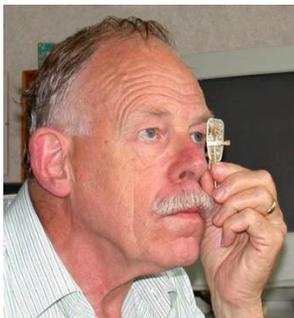
- Améliorations du microscope
- Précurseurs de la biologie cellulaire et de la microbiologie.



(b)

Figure 1.5b

Microbes and Society
I. Edward Alcamo
©2003 Jones and Bartlett Publishers



Animalcules

Découverte des bactéries

Découverte des spermatozoïdes

Observe des poux, des puces,
des globules rouges ...

Opposé à la génération
spontanée

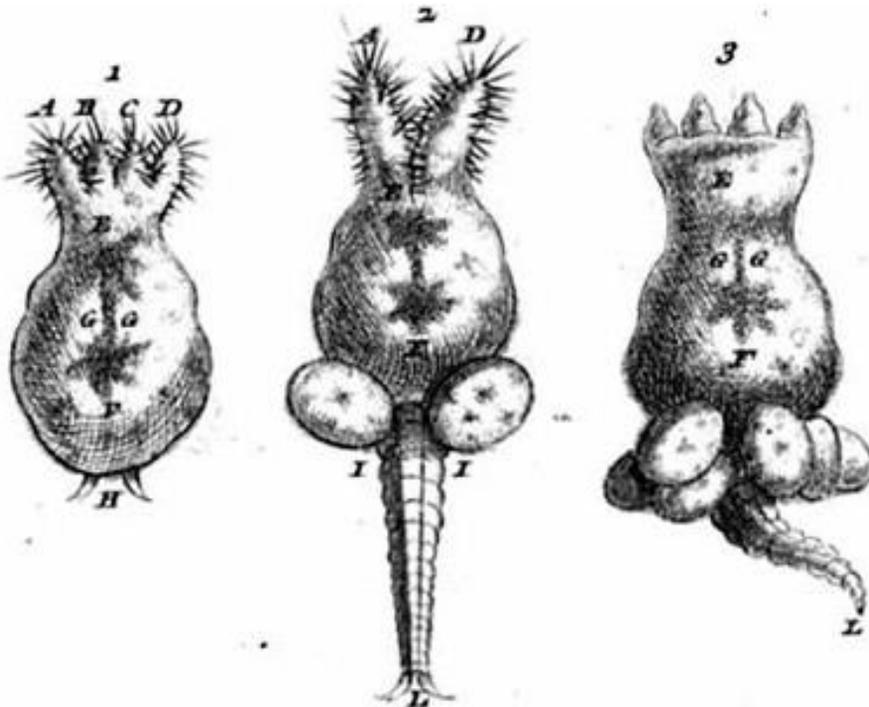
Observe des microbes dans l'eau (étude d'habitat) – première étude d'écologie microbienne.

1684: « *le nombre des animaux qui peuplent les dents de l'homme est si important que je crois qu'il excède la population du royaume* »

La microscopie mondaine

Le microscope aiguise la curiosité des savants, mais engendre aussi parfois des descriptions surréalistes.

Exemple: Louis Joblot, qui, à partir d'une infusion d'anémone, rapporte la découverte d'un animal minuscule – un animalcule - à figure humaine, avec des pattes et une queue...



Ignaz Semmelweis (1818-1865) - médecin

Fièvre puerpérale

- Maladie infectieuse, après accouchement ou fausse couche.
- Il découvre qu'elle est causée par **AGENT INVISIBLE**.
- Mauvaises conditions d'hygiène
- Klin le révoque sans ménagement.
- Il publie mais est rejeté.



Il meurt en hôpital Psy de septicémie après s'être entaillé lors d'une dissection.

- Il sera réhabilité 20 ans plus tard.

Klin "Monsieur Semmelweis prétend que nous transportons sur nos mains de petites choses qui seraient la cause de la fièvre puerpérale. Quelles sont ces petites choses, ces particules qu'aucun œil ne peut voir ? C'est ridicule ! Les petites choses de Monsieur Semmelweis n'existent que dans son imagination !".

Ferdinand Cohn (1828-1898) - botaniste

S'intéresse aux algues et aux bactéries

- Découvre le genre Bacillus.
- Décrit le cycle de vie.
- Elaboration de la classification
- Contribution à la prévention des contaminations des milieux de culture

Louis Pasteur (1822-1895) – chimiste français

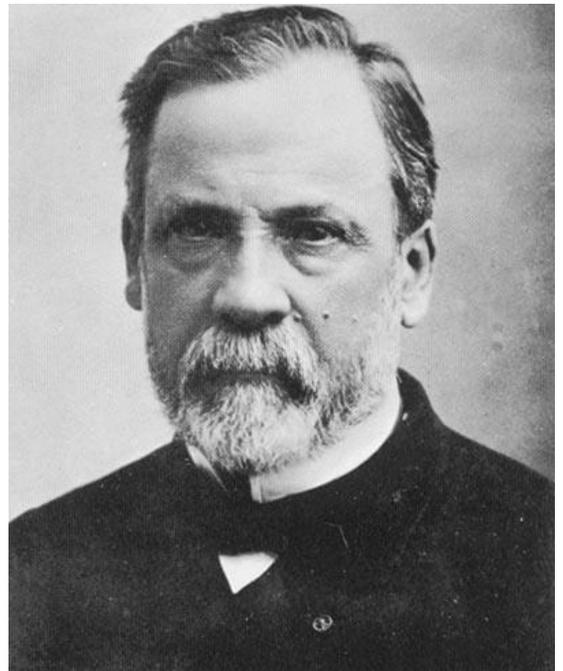
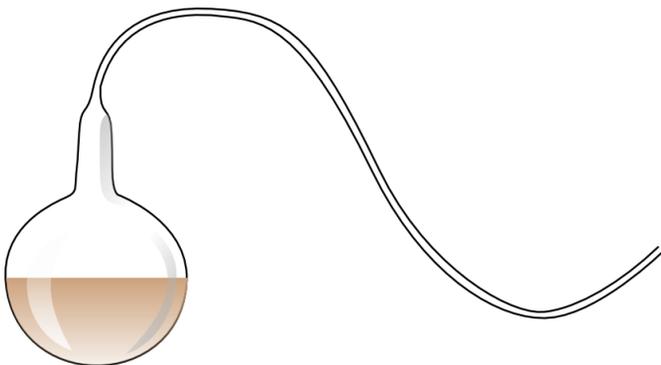
1850: les bactéries peuvent être des agents infectieux.

1861: bactéries et levures recueillies sur filtre de coton produisent la fermentation d'une infusion stérile – invention du ballon à col de cygne, ouvert et stérile.

1862: preuve de l'existence de la vie sans air – fermentation.

1866-76: fermentation alcoolique (levures) – fermentation lactique (bactéries).

1872: invention de la pasteurisation, de la stérilisation (autoclave) – première culture pure prouvée.

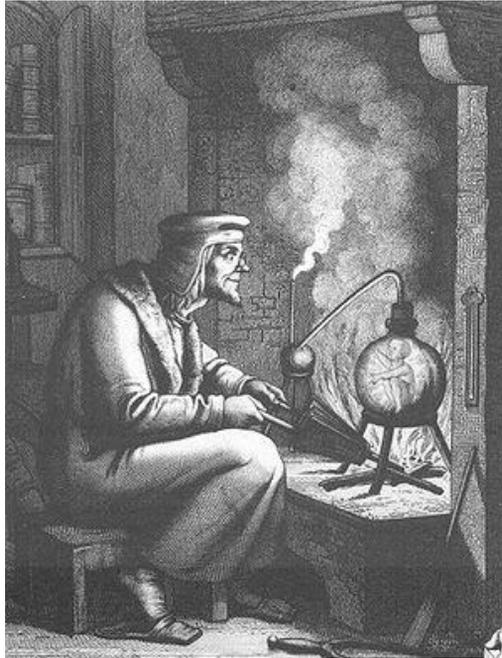


Pasteur et l'épineux problème de la génération spontanée

Aristote *“il y a des animaux qui naissent d’eux-mêmes sans être produits par des animaux semblables”*

Buffon *“le crin de cheval peut se transformer en vers”*

L'alchimiste Paracelse, au 16^{ème} siècle, donne une recette pour fabriquer en laboratoire un être humain miniature, un homuncule.



- En 1648, Jean-Baptiste Van Helmont, chimiste et médecin à Bruxelles, propose une recette pour créer en vingt et un jours des souris à partir de grains de blé et d'une chemise sale de femme, la sueur humaine jouant le rôle de principe vivifiant.

La Panspermie

l'univers est semé de germes de vie préexistants qui flottent dans l'air.

1908: Arrhenius soutient que les spores provenant d'une planète où la vie se serait développée, seraient parvenues sur la terre et l'auraitensemencée



Depuis l'antiquité jusqu'au XVII^e: l'univers est formé de germes préexistants qui flottent dans l'air

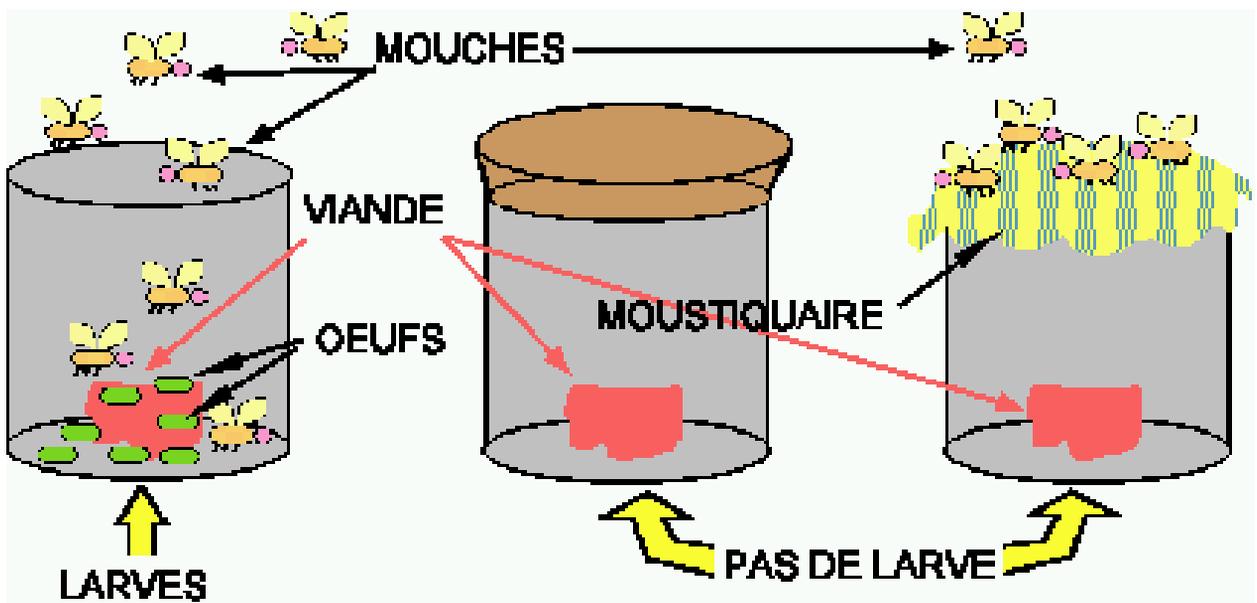
- Virgile: « Les juments andalouses portent la tête au vent et y respirent le Zéphyr au lever du soleil. De là, sans être accouplées, elles conçoivent par la seule influence du vent. »

- 1676 Claude Perrault: de petits êtres invisibles sont à l'origine de toute vie animale et n'attendent que le contact d'une liqueur subtile pour les vivifier.

Contre la génération spontanée

Redi s'attaque à la génération spontanée – père de la parasitologie

En 1667 il démontre la naissance de mouches à partir d'oeufs



Swammerdam: « *C'est le comble de l'absurdité d'imaginer que la pourriture soit capable d'engendrer des animaux aussi bien organisés que les abeilles* »

Cependant, le débat fait rage entre opposants et défenseurs de la GS

Et Pasteur...

Questionnement: d'où viennent les microbes qui contaminent les aliments?

Deux théories:

Germes présents: peu accepté

Apparition spontanée: largement accepté

Observation: des organismes filtrés de l'air sont similaires à ceux dans les aliments putréfiés!

Donc: si les aliments sont traités pour inactiver les microbes pas de putréfaction.

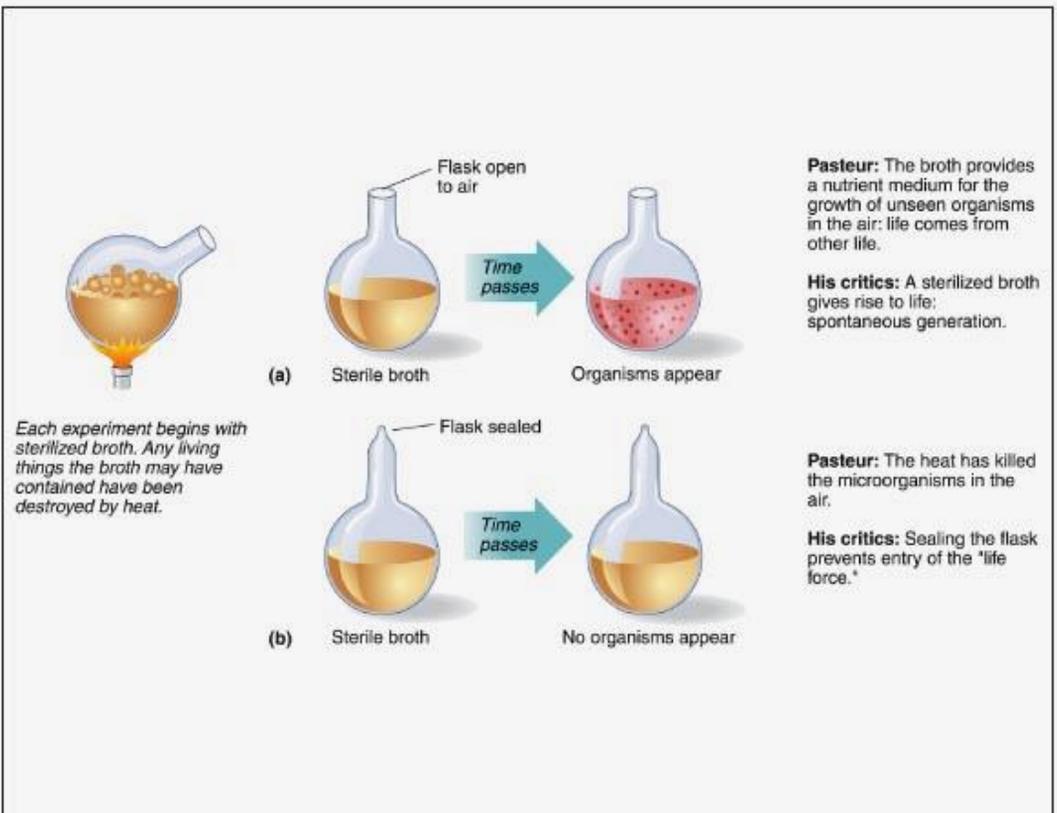
Chauffage des aliments --- pas de putréfaction

Critique: c'est le manque d'oxygène qui empêche la croissance microbienne et non le chauffage.

Pasteur refait l'expérience avec un ballon à col de cygne

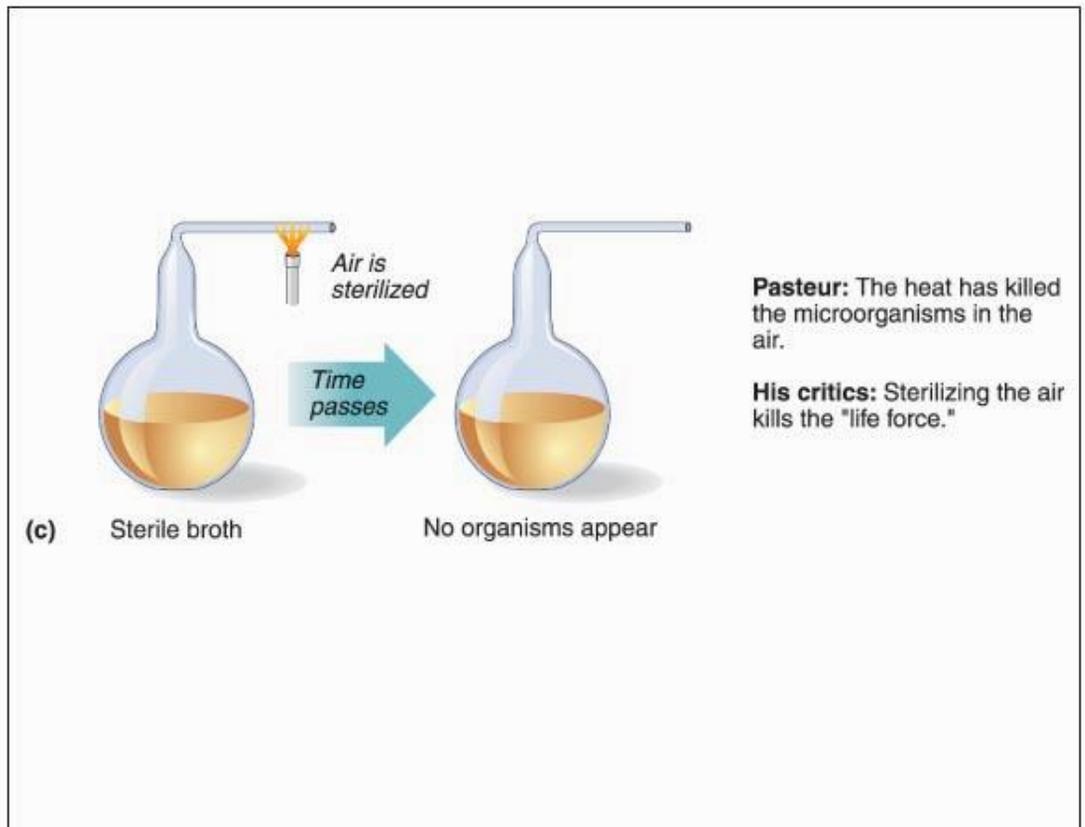
Pasteur and the Spontaneous Generation Controversy

Figure 1.7a



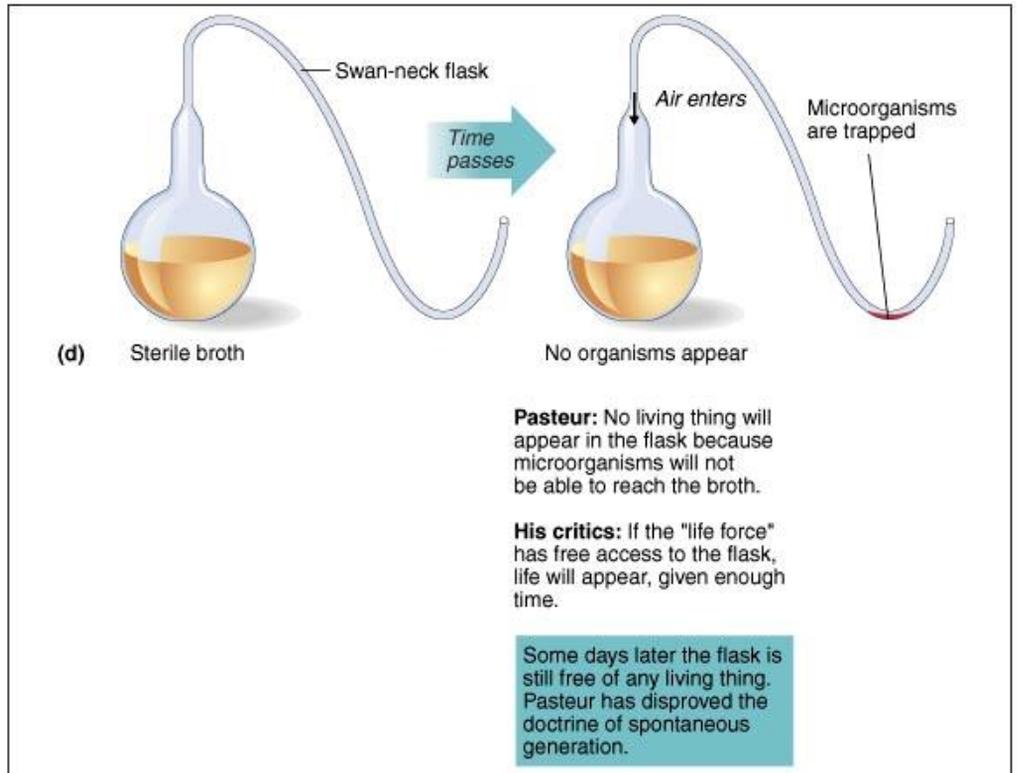
Pasteur and the Spontaneous Generation Controversy

Figure 1.7b



Pasteur and the Spontaneous Generation Controversy

Figure 1.7c



Take Home Message – Pasteur apporte les premières concepts de la sécurité alimentaire: les microbes peuvent être des agents qui transmettent des maladies.

Robert Koch (1843-1910) – médecin allemand

- Premier à avoir identifier l'agent responsable de la maladie du charbon - *Bacillus anthracis*

- Développe le **postulat de Koch**

- Développe la notion de **culture pure**

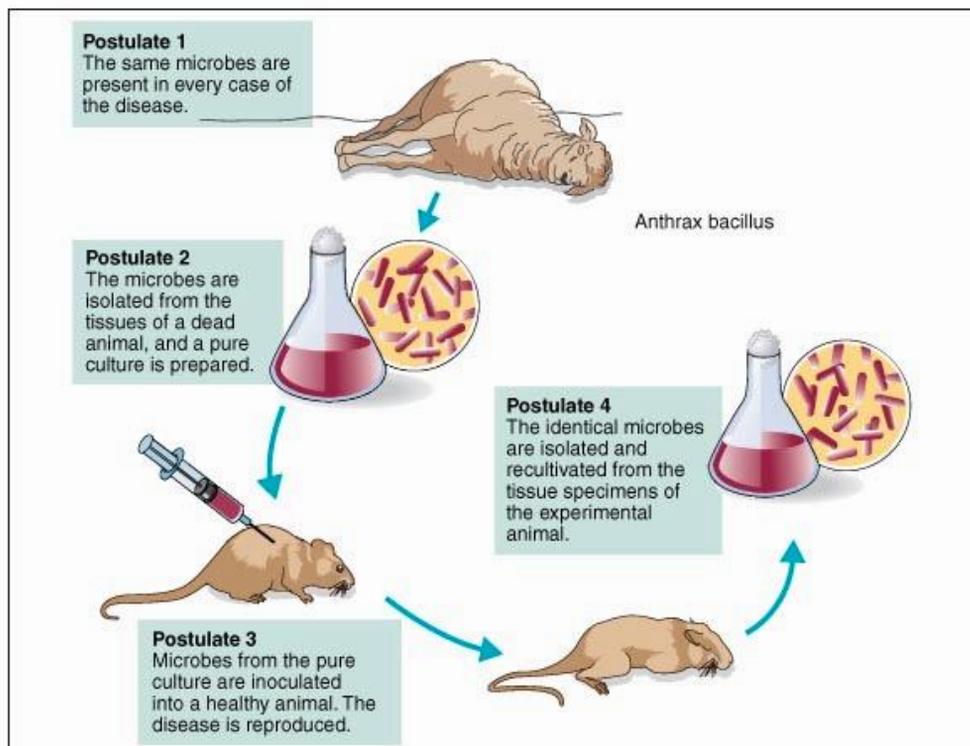
Découverte de l'agent responsable de la tuberculose: **Mycobacterium tuberculosis**

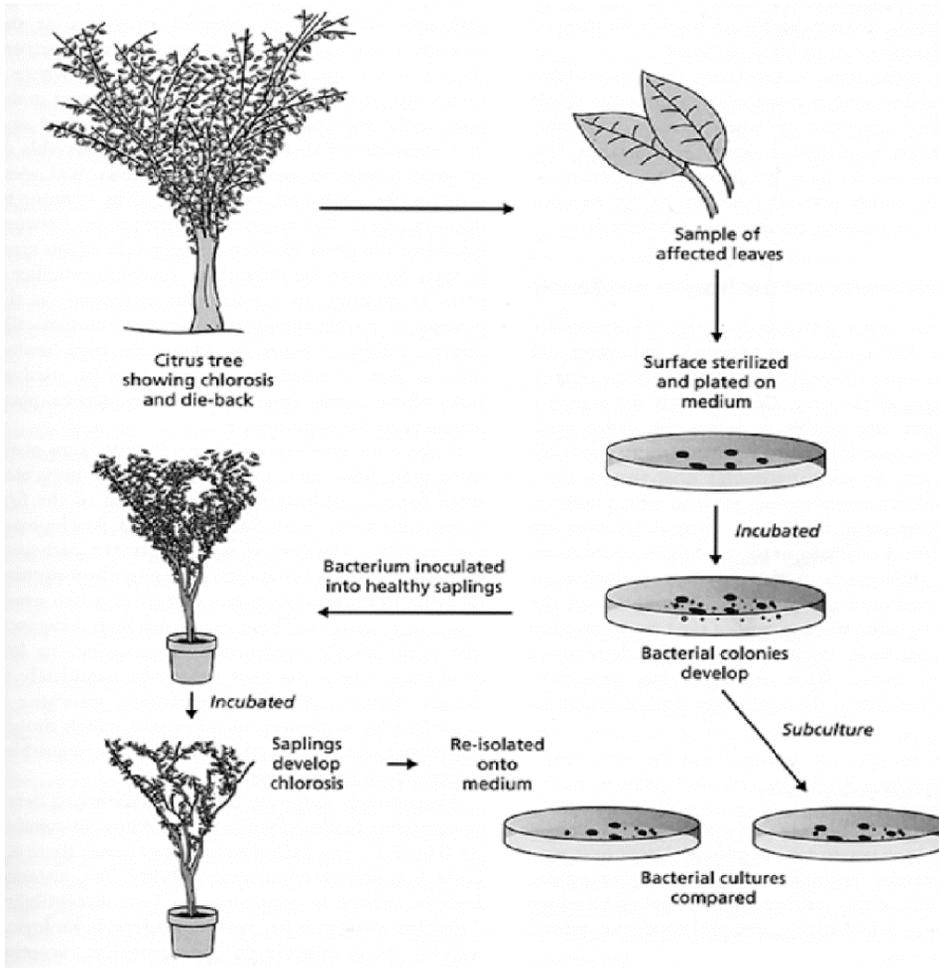


Prix Nobel en 1905 pour ses travaux

A Demonstration of Koch's Postulates

Figure 1.8a





Take Home Message: des microbes spécifiques ont des impacts spécifiques.

Martinus Beijerinck (1851 – 1931) – microbiologiste néerlandais.

Invente le concept de **culture d'enrichissement**

A l'origine: milieux non sélectifs --- croissance d'organismes par chance

Son approche: milieux sélectifs --- dicte ce qui doit pousser

A isolé de nombreux organismes de l'eau et des sols



• **Bactéries fixatrices d'azote** (Découvre le principe de fixation de l'azote chez les végétaux).

• Démontre (1898), par l'emploi de filtres extrêmement fins, que l'agent pathogène responsable de la maladie de la mosaïque du tabac est plus petit qu'une bactérie. Il nomme alors ce pathogène virus.

• Un des **fondateurs de la virologie**

Sergei Winogradsky (1856 – 1953) – microbiologiste
écologiste, science du sol.

Pionnier du concept « cycle de vie »

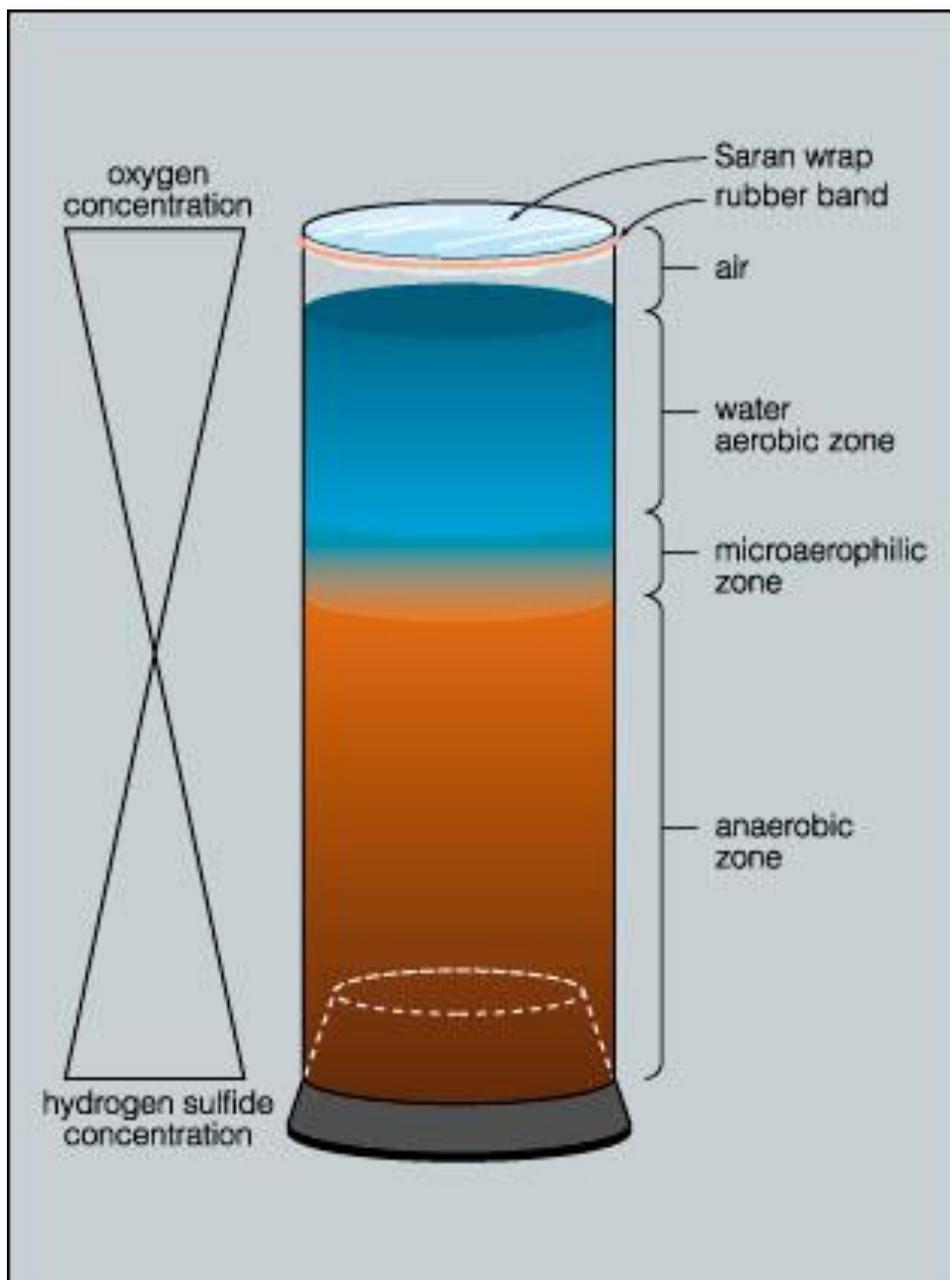
Identifie les genres *Nitrosomonas* qui
converti l'ammonium en nitrite et
Nitrobacter qui converti le nitrite en
nitrate.

Un des premiers a étudier les
microorganismes en-dehors du contexte
médical – écologie microbienne et
environnementale.

Renommé pour ses études sur les
bactéries sulfureuses.



Inventeur de la colonne de Winogradsky



Autres étapes importantes

1929 (Alexandre Fleming) : découverte de la pénicilline

1953 (Watson et Crick): structure de l'ADN

1966 (Nirenberg, Holley et Khorana): découverte du code génétique

1977 (Sanger, Niklen et Coulson): séquençage de l'ADN

1977 (Woese): découverte des Archae

1985 (Mullis): invention de la réaction de PCR

1995 (Venter et Smith): séquence complète d'un génome bactérien

2004...plusieurs centaines de génomes séquencés

Et la suite: l'ère de la microbiologie moléculaire, génomique, protéomique

Dans l'intervalle ...

Du fait de l'accroissement de la population

1. Conscientisation sur la santé publique (transmission des maladies)
2. Détérioration de l'environnement (pollution)

1962: « Silent spring » : livre qui expose et démontre les risques liés à l'utilisation du DDT

DDT = insecticide --- impact non ciblé
insectes non nuisibles
oiseaux

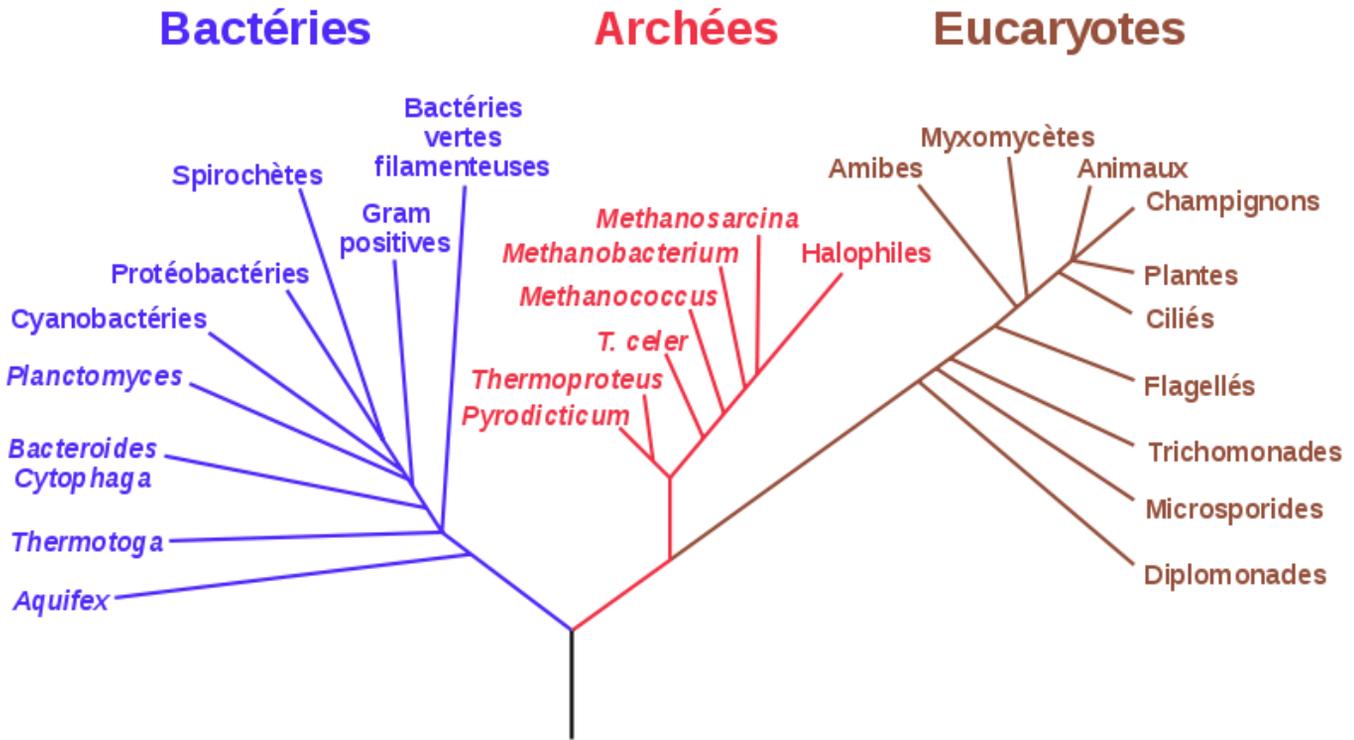
A changé la vision des hommes sur la durabilité des environnements et a stimulé la recherche sur la biodégradation des xénobiotiques.

1970s: Avancées en biochimie et dans la compréhension des acides nucléiques et de la synthèse des protéines.

Facile à cultiver
Croissance rapide
Manipulation facile

Le séquençage permet de comprendre comment les organismes sont reliés = phylogénie

Arbre phylogénétique de la vie



Woese (1990)

1990s – aujourd’hui – connaissances approfondies en biologie moléculaire, fingerprinting, métagénomique et méthodes de culture permettant l’analyse fine des communautés microbiennes.

4. La phylogénie microbienne

4.1. Quelques définitions

Taxinomie = science qui a pour objet de décrire et de définir les unes par rapport aux autres les espèces vivantes, et de les regrouper en entités appelées taxons, genres, ..., afin de pouvoir les nommer (nomenclature) et les classer (systématique).

Systématique = science qui a pour objet de dénombrer et de classer les taxons dans un certain ordre, selon des principes divers.

Taxons : Les groupes d'organismes définis par la taxinomie

Nomenclature binominale de LINNE (1750) composé de la combinaison du nom du genre (avec majuscule) et de l'épithète de l'espèce (avec minuscule) – le tout en italique

Exemple :

Espèce *Homo sapiens*

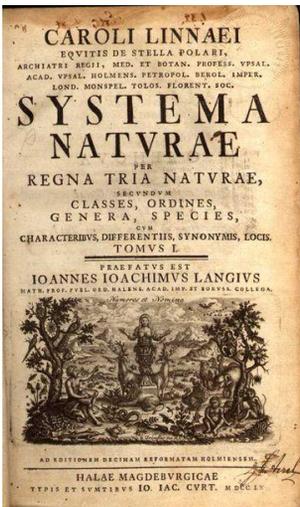
Genre Homo

Famille des Hominidae

Ordre des Primates

– Charles de Linné (1707-1778) suédois (Carl Linnéus)

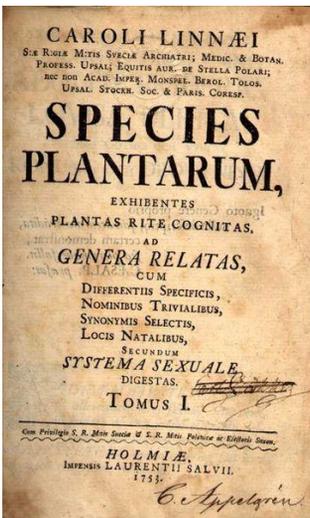
- fondateur de la systématique moderne



• L'ouvrage le plus important de Linné.

• 10 éditions

• Généralise le système de nomenclature binominale.

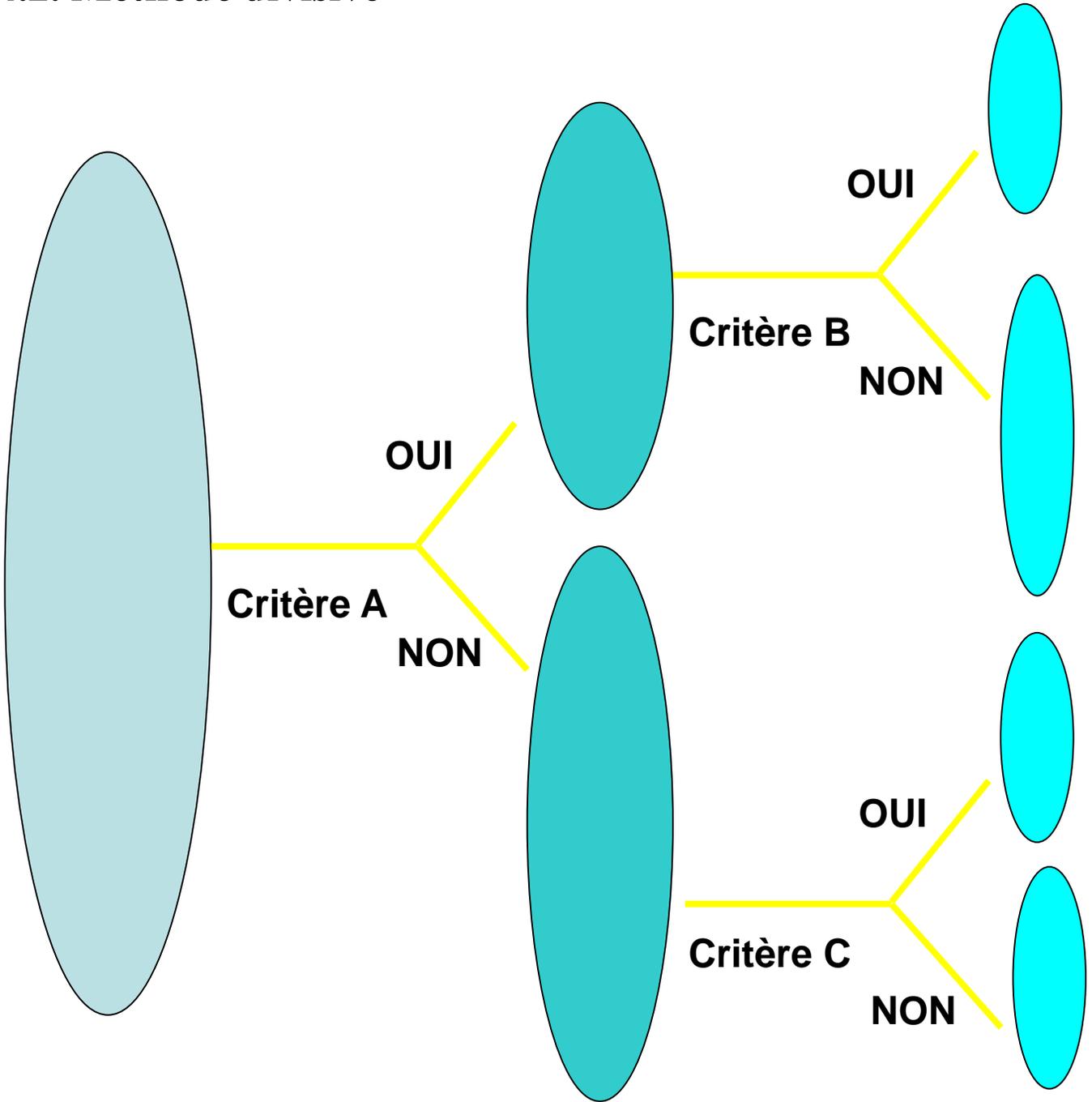


• 1753

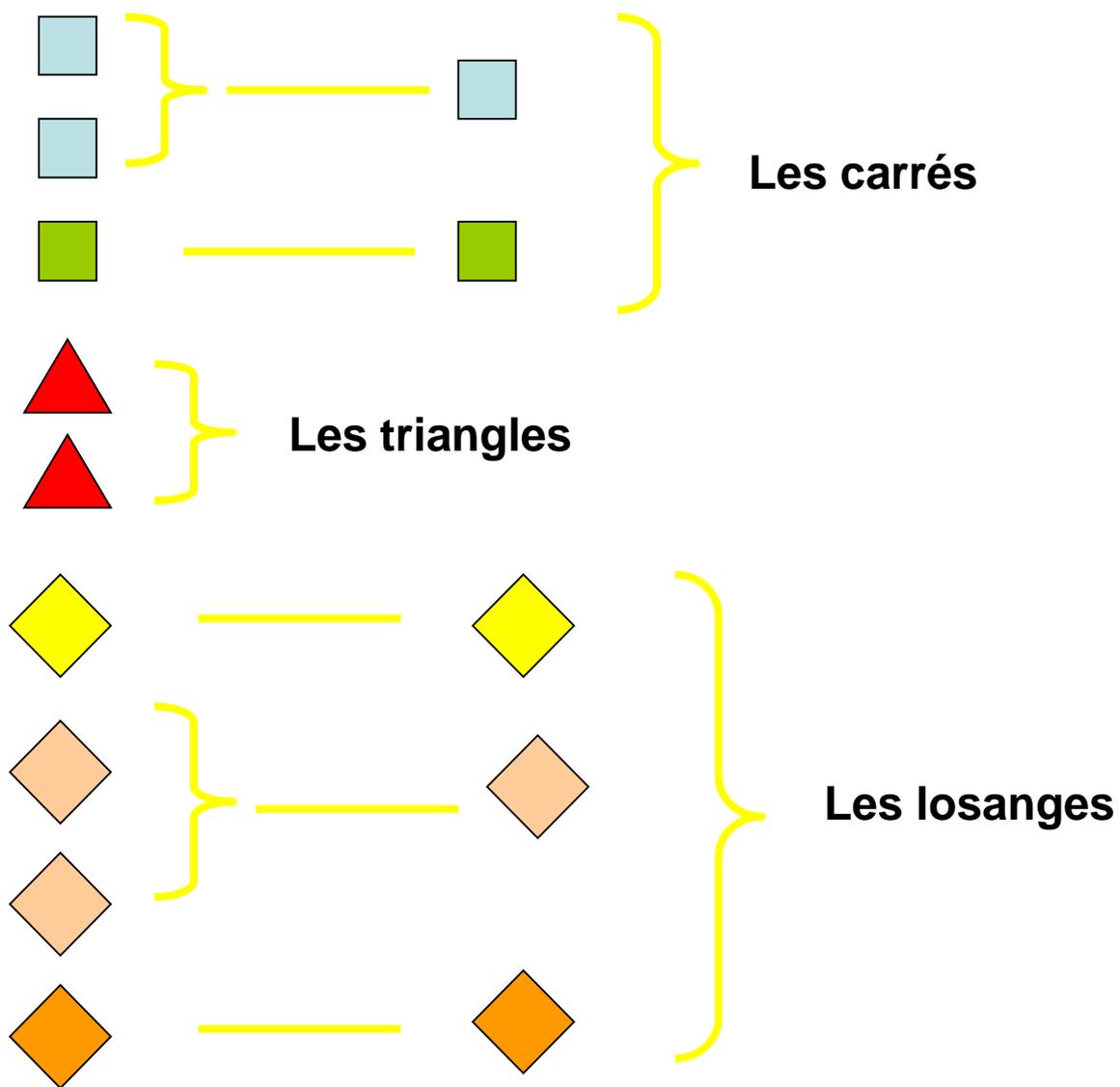
• Description de 8000 végétaux différents pour lesquels il met en application de manière systématique la nomenclature binomiale dont il est le promoteur.

• Ouvrage de référence en nomenclature

4.2. Méthode divisive



4.3. Méthode agglomérative



4.4. La phénétique

Méthode de classification basé sur le nombre de caractères communs (phénotype).

QUI SE RESSEMBLE S'ASSEMBLE

Permet de construire des arbres appelés phénogrammes (ou dendrogrammes). Méthode statistique numérique

Problèmes:

1. peu pertinent pour caractères morphologiques (si peu de caractères)
pertinent pour données moléculaires (ADN, ARN, protéines)

analogies – convergence évolutive

2. donne le même poids aux différents caractères pris en compte, ce qui dans la réalité peut conduire à des résultats aberrants.

Exemple: Si nous considérons les caractères suivants

A = 5 doigts différenciés à la patte antérieure

B = présence d'une queue

C = deux yeux

<i>espèce</i>	<i>caractère A</i>	<i>caractère B</i>	<i>caractère C</i>
<i>singe</i>	X	X	X
<i>lézard à c.</i>	X	X	X
<i>cheval</i>	O	X	X

Le singe est plus proche du lézard à collerette que du cheval !!!

4.5. La cladistique

Méthode de classification basé sur les relations de parenté. Repose sur la construction de **groupes monophylétiques (ou clades)**

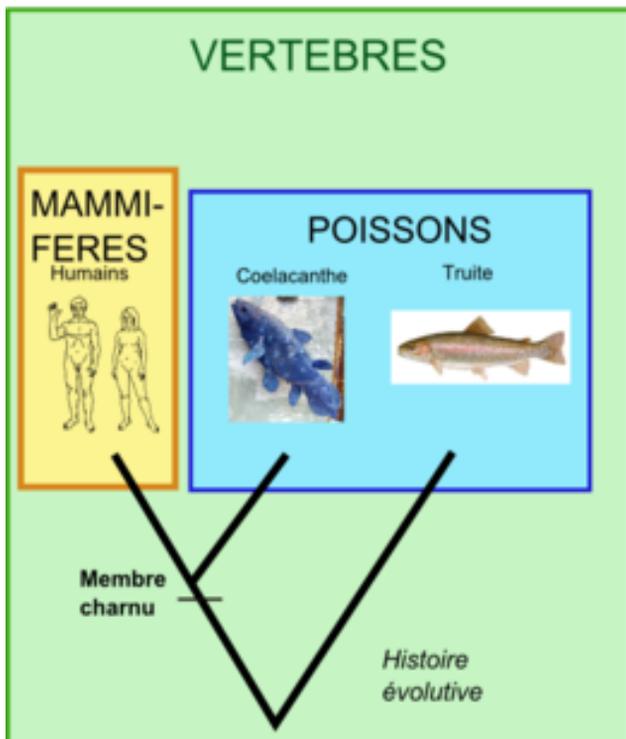
Un ancêtre et toute sa descendance

4.5.1. classification phylogénétique >< classification classique

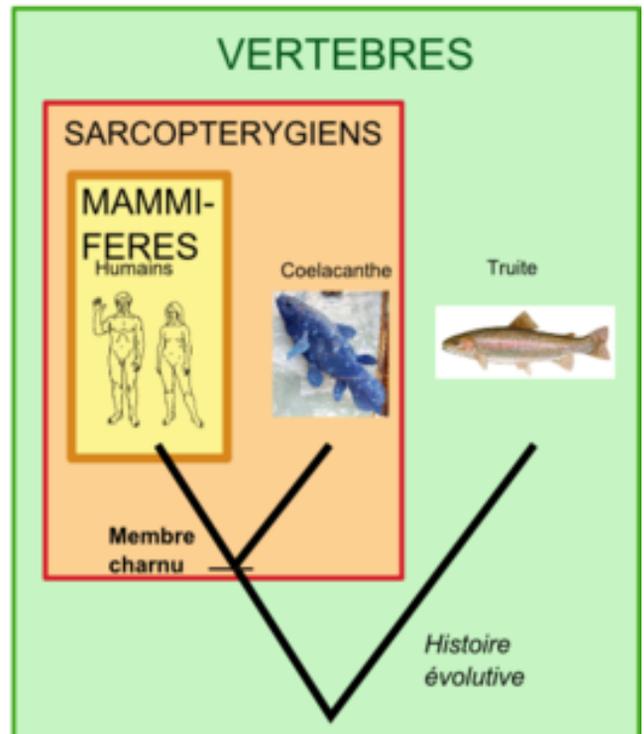
Classification classique: se base sur les ressemblances les plus évidentes. Facilement utilisable par le grand public (attention: ne reflète pas correctement les proximités évolutives entre espèces.

Classification phylogénétique: mesure le degré de parenté entre les espèces, et qui permet donc de comprendre leur histoire évolutive (ou phylogénie)

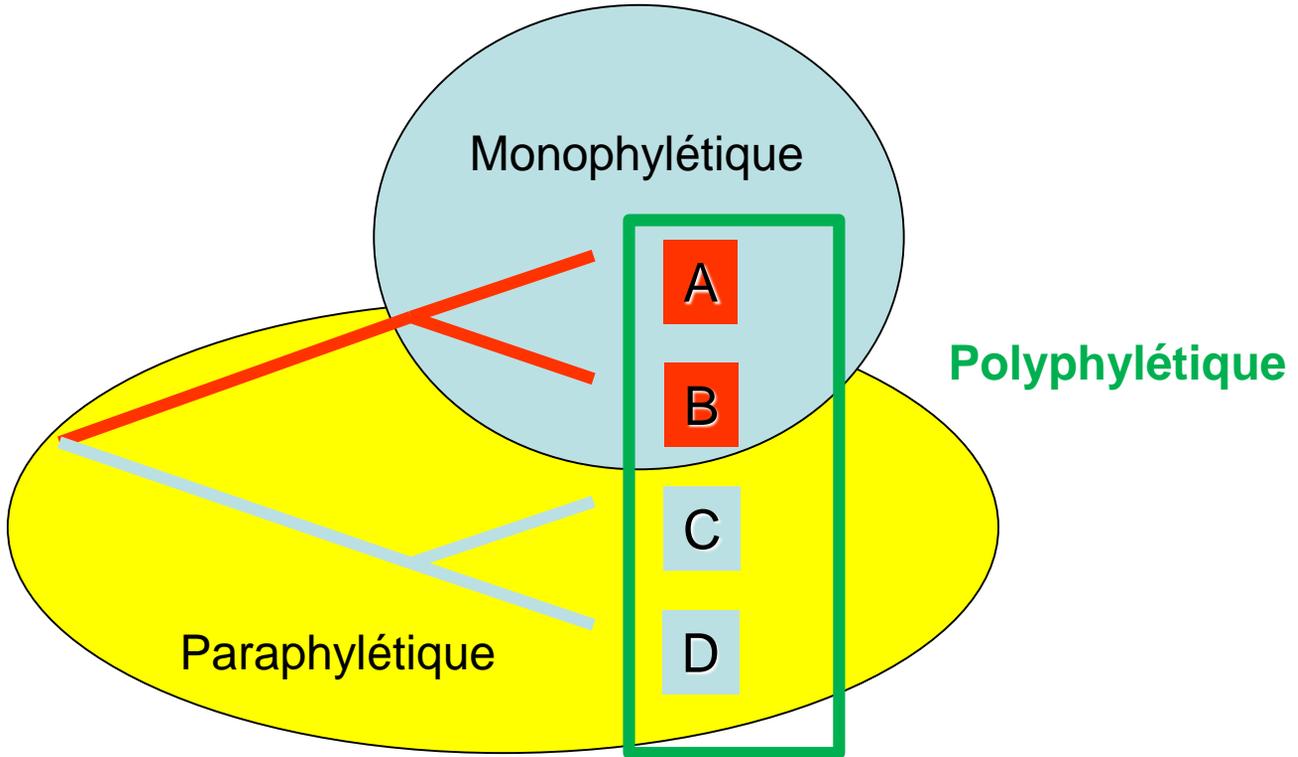
Classification classique



Classification phylogénétique



4.5.2. Groupes monophylétiques, paraphylétiques et polyphylétiques



Monophylétique = ancêtre et toute sa descendance

Paraphylétique = ancêtre commun et une partie des descendants

Polyphylétique = tous les descendants mais pas d'ancêtre commun

Les clades sont basés sur les **SYNAPOMORPHIES** =

caractères dérivés partagés entre les espèces (actuelles ou fossiles) connues. Ce sont les caractères que plusieurs espèces ont hérité d'un ancêtre commun.

4.5.3. Caractères utilisés en cladistique

La cladistique distingue les caractères dérivés (apomorphiques) des caractères primitifs (plésiomorphiques),

Apomorphie = caractère nouveau (ou dérivé) - qui est le résultat d'une modification d'un caractère ancestral au cours de l'évolution.

On parle de caractère synapomorphique (C'est un caractère que plusieurs espèces ont hérité d'un ancêtre commun – soit un caractère dérivé).

Plésiomorphie = caractère ancestral - qui n'a pas subi de modification au cours de l'évolution. Ce caractère a donc été conservé depuis le premier ancêtre du groupe le présentant.

On parle de caractère simplésiomorphique (C'est un caractère ancestral partagé par plusieurs taxons).

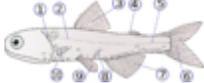
Comment distinguer un caractère ancestral d'un caractère dérivé ?

Ex: poissons ont 4 nageoires = **caractère ancestral**

Transformé en quatre membres marcheurs
chez les tétrapodes (reptiles) = **caractère dérivé**

Patte dérivée de nageoire! Pourquoi pas l'inverse ?

- Avec fossile:** le meilleur moyen puisque les fossiles peuvent être datés et donc l'ordre d'apparition des caractères peut être établi.
- Sans fossile:** intuition. En général l'état dérivé présente plus de complexité que l'état ancestral. En cas de difficulté, on applique le **principe de parcimonie**

Etat ancestral	Etat dérivé		
	Etat ancestral	Etat dérivé	
		Etat ancestral	Etat dérivé
Pas de nageoires paires (agnate)	Membres paires (poissons)	Pattes(lézard)	Membres régressés (serpent)
			

Principe de Parcimonie

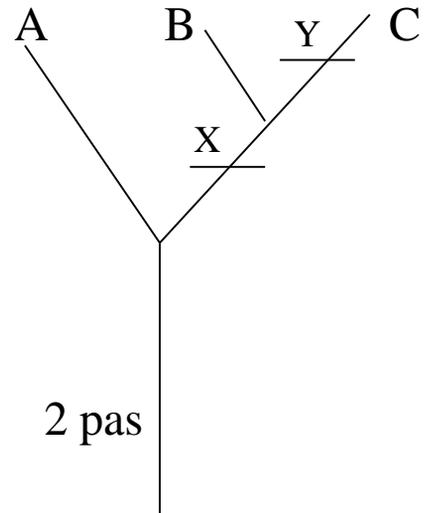
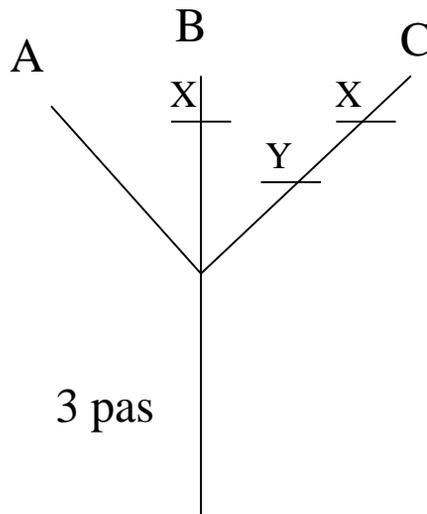
Lorsque deux hypothèses sont en concurrence, et qu'on ne peut pas les départager, par l'expérimentation par exemple, on doit choisir la plus simple, c'est-à-dire celle qui possède le moins d'hypothèses ou dont les hypothèses sont les plus facilement démontrables.

Les hypothèse les plus simples sont les plus vraisemblables

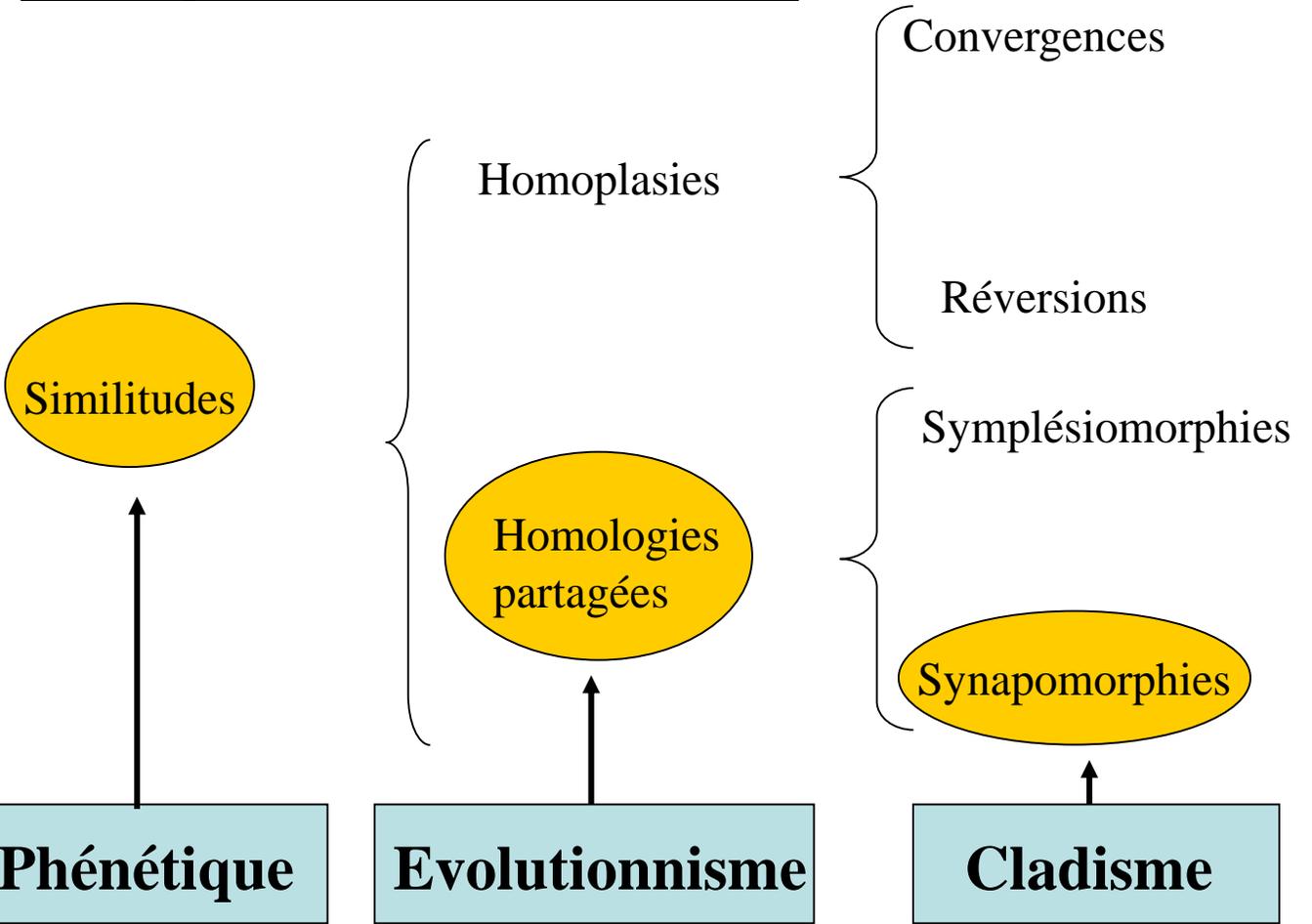
Principe de Parcimonie

On construit les arbres vraisemblables et on choisit celui qui a la longueur minimale

	A	B	C
X	0	1	1
Y	0	0	1



Phénétique, évolutionnisme et cladisme



5. L'arbre du vivant

5.1. Historique

Jusqu'au début du XIXème siècle les organismes étaient classés dans **deux règnes**

- Le règne animal: organismes mobiles – hétérotrophes
- Le règne végétal: organismes immobiles – autotrophes par photosynthèse

Problèmes:

parmi les êtres unicellulaires, comme les flagellés, certains possèdent de la chlorophylle et d'autres non.

Bactéries classées en tant que végétaux.

les champignons considérés comme des plantes car immobile mais pas de racines, tiges, feuilles, chlorophylle et se nourrissent à partir de matières organiques (comme les animaux). De plus, leurs parois cellulaires ne sont pas constituées de lignine et cellulose, mais de chitine, comme la cuticule des insectes.

1866: Haeckel, propose un **3ème règne** - les protistes (bactéries, protozoaires et fungi)

1937: Chatton propose une classification du monde du vivant en deux types cellulaires

Procaryotes (organismes à cellules sans noyau)

Eucaryotes (organismes à cellules avec noyau).

Deux Empires sont créés

1956: Copeland classe les organismes en quatre règnes:

Monères (algues bleu-vert et Bactéries)

Protistes (Algues eucaryotes, Champignons, Moisissures et Protozoaires)

Plantes (Embryophyte et Algues vertes)

Animaux (inclus les Éponges).

1969: Whittaker (botaniste américain) classe les organismes en cinq règnes:

Monères (Procaryotes)

Protistes (Eucaryotes unicellulaires)

Plantes (Eucaryotes pluricellulaires photosynthétiques),

Mycètes (Champignons) (Eucaryotes pluricellulaires non-photosynthétiques)

animaux (Eucaryotes pluricellulaires hétérotrophes).

classe les champignons dans un règne distinct des autres eucaryotes (végétaux et animaux) pour différentes raisons.

Parmi celles-ci, le mode d'ingestion des nutriments diffère foncièrement entre les trois règnes (animal, végétal et fungi)

Animaux: ingestion des aliments et digestion interne.

Plantes: ingestion de l'énergie lumineuse (du soleil) au niveau des chloroplastes.

champignons: digestion externe des composés nutritifs (par des enzymes) avant absorption.

1977: Woese et al. classe les organismes en 6 règnes

Eubacteria

Archaeobacteria

Protista

Fungi

Plantae

Animalia

1990: Woese et al. crée une nouvelle organisation du monde du vivant basé sur un niveau supérieur au règne, le domaine.

Bacteria

Archaea

Eukarya

1998: Cavalier-Smith classe les organismes en deux empires (procaryotes et eucaryotes) et six règnes (animal, végétal, champignon, chromiste, protozoaire et bactérie).

Les six règnes du vivant (Cavalier-Smith)

CHROMISTA

FUNGI

ANIMALIA

PLANTAE

absorptive heterotrophs with beta-glucan/chitin walls and chitinous spores; often with walled multinucleate hyphae; without plastids, phagotrophy or photosynthesis; AAA lysine pathway.

multicellular phagotrophs with collagenous tissue and epithelia; without lysine pathway, plastids or photosynthesis; predominantly possessing gut and nervous system: occasionally trophically unicellular

multicellular, or sometimes unicellular; loss of phagotrophy, having plastids, generally photosynthetic, DAP lysine pathway.

typically photosynthetic algae, DAP lysine pathway; tubular ciliary hairs; also a number of absorptive heterotrophs due to plastid loss; unicellular, or sometimes multicellular, generally walled, occasionally phagotrophic.

PROTOZOA

predominantly unicellular phagotrophs, most often non-photosynthetic, sometimes with plastids; typically naked.

EUKARYOTA

PROKARYOTA

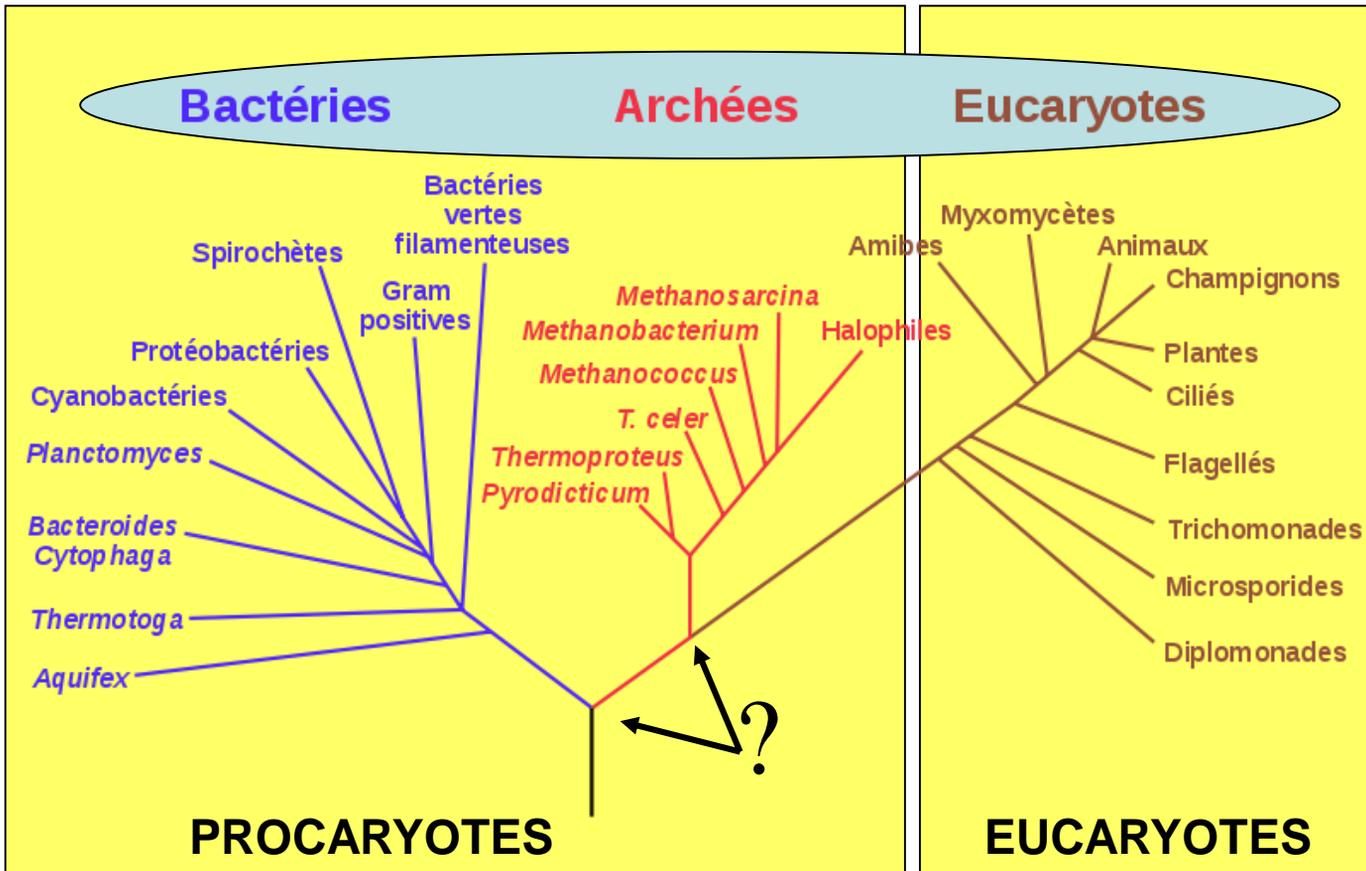
BACTERIA

predominantly absorptive heterotrophs, a few chimiotrophs or phototrophs - with circular strand of DNA - peptidoglycan wall - often with rotary flagellum.

RESUME

Linné (1735)	Haeckel (1866)	Chatton (1937)	Copeland (1956)	Whittaker (1969)	Woese et al. (1977)	Woese et al. (1990)	Cavalier-Smith (1998)
3 règnes (2 biologiques)	3 règnes	2 empires	4 règnes	5 règnes	6 règnes	3 domaines	2 empires – 6 règnes
Mineralia	Protista	Prokaryota	Monera	Monera	Eubacteria	Bacteria	Bacteria
					Archaeobacteria	Archae	
Plantae	Plantae	Eukarya	Protista	Protista	Protista	Eukarya	Protozoa
				Fungi	Fungi		Chromista
Animalia	Animalia	Eukarya	Plantae	Plantae	Plantae	Eukarya	Fungi
Animalia	Animalia		Plantae	Plantae	Plantae		Plantae
Animalia	Animalia	Animalia	Animalia	Animalia	Animalia	Animalia	Animalia

Arbre phylogénétique de la vie



Woese (1990)

- La classification de Woese en trois domaines (Bactéries, Archées et Eucaryotes) est privilégiée par les microbiologistes.
- Les classifications en cinq règnes ou 6 (Whittaker, Cavalier-Smith) ont généralement les faveurs des botanistes et des zoologistes.

5.2. Dernier ancêtre commun universel

LUCA: Last Universal Common Ancestor

•3,6 à 4,1 milliards d'années et dont est issu l'ensemble des espèces connues actuellement.

Hypothèse: tous les êtres vivants ont des ancêtres en commun, à une époque où la seule reproduction était la division cellulaire.

Cela implique, l'existence dans le passé lointain d'une cellule telle que :

- tous les êtres vivant actuellement en descendent
- chacune de ces deux cellules filles a au moins un descendant vivant aujourd'hui

LUCA \neq premier organisme vivant

Problème de la phylogénie à la racine du vivant:

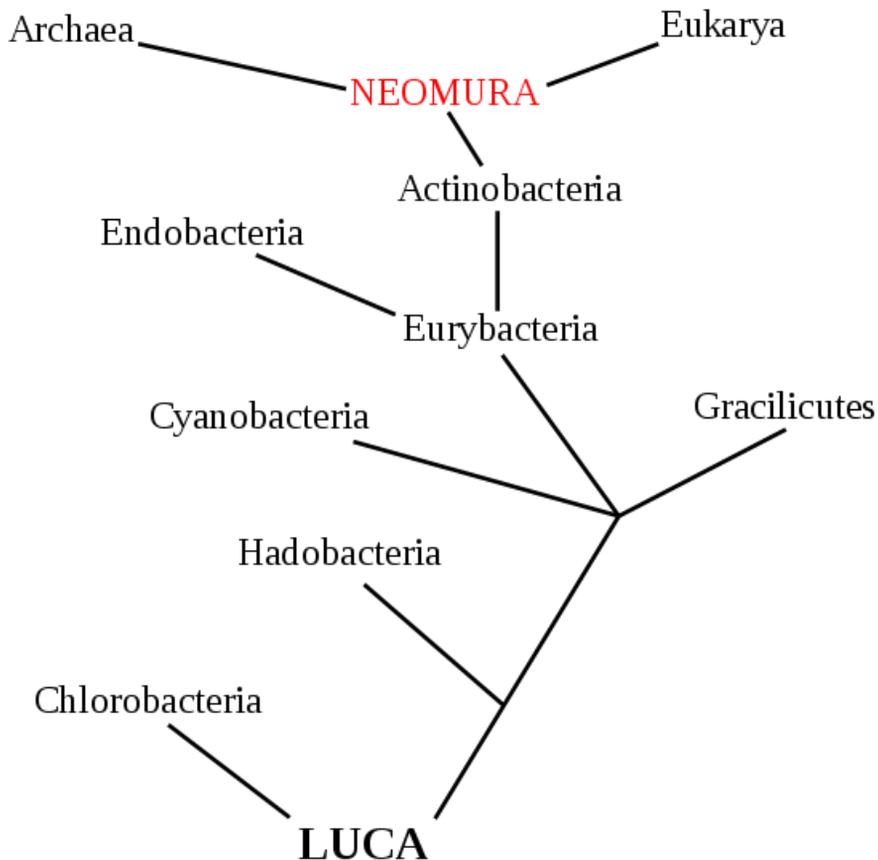
Est ce que les eucaryotes et les archées descendent de l'une des deux cellules filles de LUCA, et les bactéries de l'autre, ou est-ce une autre combinaison?

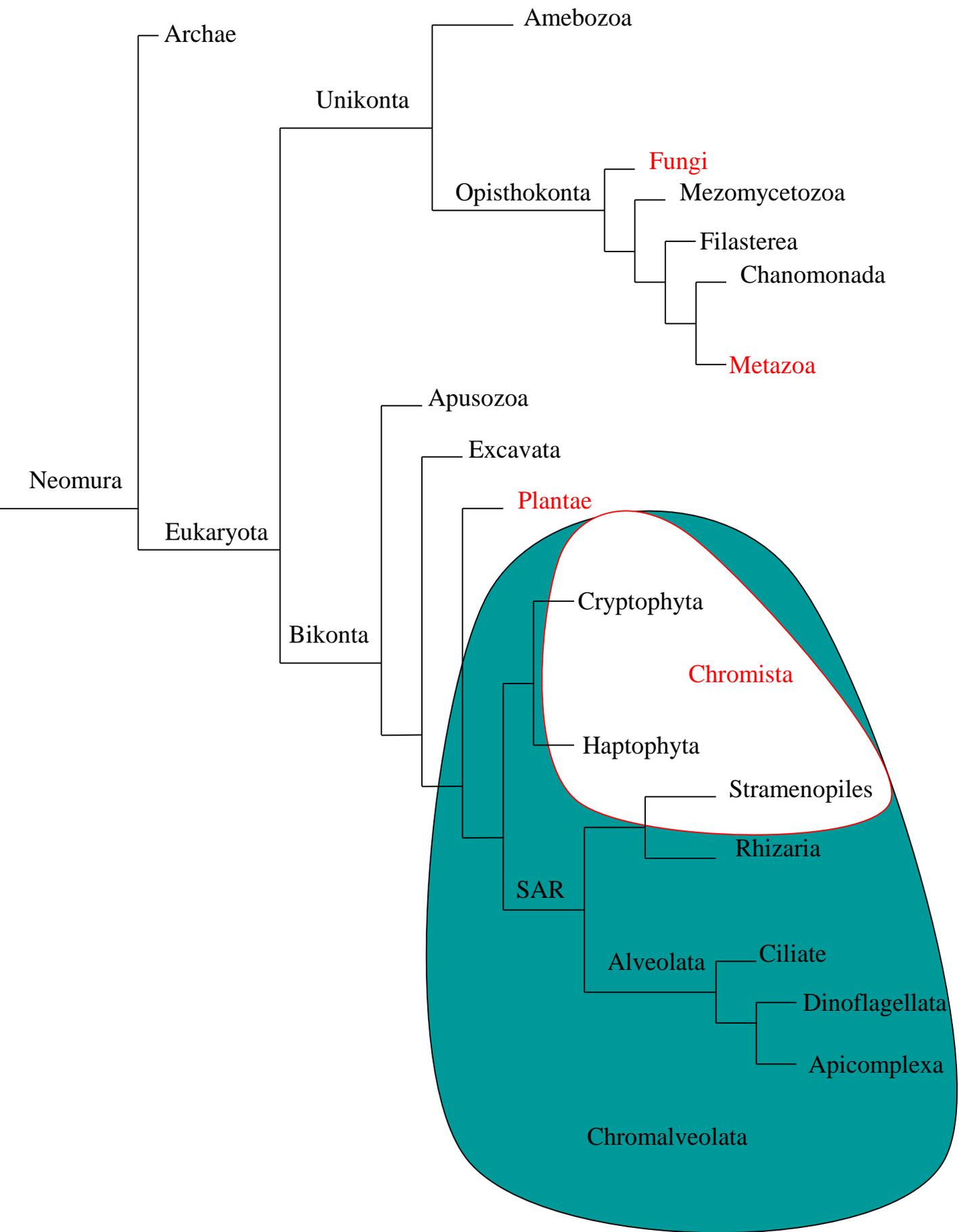
5.3. Neomura: à l'origine des Archées et Eucaryotes!

Clade composé des deux domaines: Archaea et Eukaryota.

Proposé par Cavalier-Smith

Son nom signifie "nouveaux murs"; prétendument parce que c'est la pensée d'avoir évolué par rapport aux bactéries, et un des principaux changements a été le remplacement de parois cellulaires constituées de peptidoglycane en d'autres glycoprotéines.





5.4. Caractéristiques majeurs différenciant Bacteria, Archae et Eukarya

Caractéristique	Bacteria	Archaea	Eukarya
Morphologie et génétique			
Structure cellulaire procaryotique	oui	oui	non
ADN circulaire	oui	oui	non
Noyau entouré d'une membrane	non	non	oui
Paroi cellulaire	Ac. muramique présent	Ac. muramique absent	Ac. muramique absent
Plasmide	oui	oui	rare
ARN polymérase	une	plusieurs	trois
Besoin de facteurs de transcription	non	oui	oui
Initiateur ARNt	formylméthionine	methionine	methionine
Sensibilité au chloramphenicol, à la streptomycine et la kanamycine	oui	non	non
Physiologie/ structures spéciales			
Méthanogenèse	non	oui	non
Nitrification	oui	non	non
Dénitrification	oui	oui	non
Fixation de l'azote	oui	oui	non
Photosynthèse (chlorophylle)	oui	non	oui
Métabolisme énergétique utilisant la rhodopsine	oui	oui	non
Chimioolithotrophie	oui	oui	non
Croissance au-delà de 80°C	oui	oui	non
Croissance au-delà de 100 °C	non	oui	non

6. La diversité microbienne

L'évolution a façonné la vie sur terre

4 milliards d'année d'évolution --- grande diversité

--- adaptation (niches)

Diversité étudiée sous angles multiples

critère morphologique

critère trophique (nutritionnel)

critère respiratoire

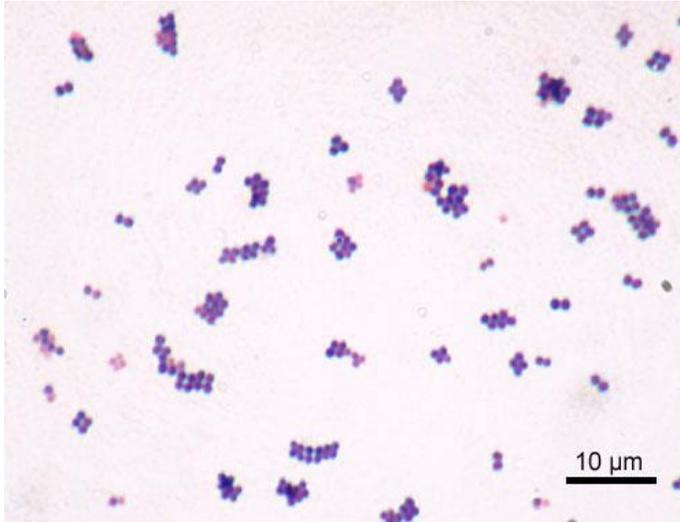
critère physiologique (écologique)

Habitats en environnements extrêmes

6.1. Critère morphologique (exemple bactéries)

- **Cocci** (0.5 μm diam)

des diplocoques, cocci regroupés deux à deux,
des cocci en chaînettes, des cocci en amas.



Staphylococcus aureus, staphylocoques dorés

- **Bacilles** (bâtonnets (0.5 μm diam 1-3 μm long)

en chaîne (ex : *Lactobacillus*)

en palissade (ex : *Corynebacterium*)

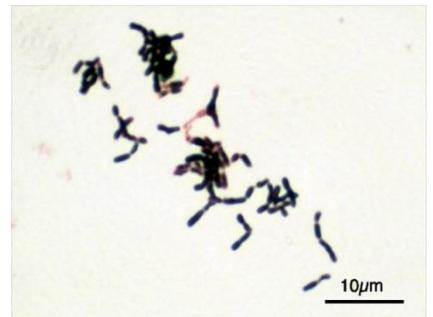
en Y (ex : *Bifidobacterium*)



Lactobacillus bulgaricus



Corynebacterium diphteriae



Bacillus subtilis

- **Vibrions** (bâtonnets incurvés – forme de virgule)

6.2. Critère trophique (nutritionnel)

Qu'est ce qu'un type trophique ?

Façon de classer les organismes en fonction de leur métabolisme

Basé sur deux besoins des organismes:

1. Une source de C: permet l'assemblage de molécules complexes (ADN, protéines, lipides, polysaccharides ...)
2. Une source d'énergie: pour assembler des molécules complexes

Sources de carbone (auto-hétéro-)

1. du carbone inorganique (CO₂)

Autotrophe (du grec *auto* (seul) et *trophos* (nutrition): autonome qui arrive à réduire le C très oxydé en Corg avec de l'hydrogène.

L'autotrophie désigne tout être vivant qui n'a pas besoin d'autres êtres vivants, pour se nourrir.

2. du carbone organique (glucose, acides gras...)

Hétérotrophe (du grec *heteros* (autre) et *trophos* (nutrition): à besoin de trouver du Corg dans son environnement pour être autonome.

Nécessitent de se nourrir de constituants organiques pré-existants d'origine animale ou végétale (prélèvement sur d'autres organismes).

Sources d'énergie

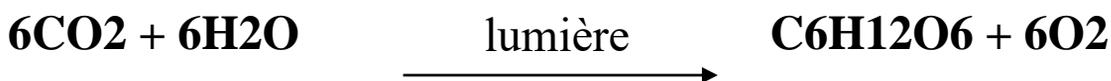
1. La lumière:

Certains organismes utilisent la lumière (photosynthèse) comme source d'énergie pour assembler leur source de C.

On les réunit dans les **PHOTOTROPHES**:

1) Les **photo-lithotrophes** (végétaux chlorophylliens, cyanobactéries, *bactéries sulfureuses* vertes (chlorobactériacées) ou pourpres (thiorhodacées).

Photosynthèse (oxygénique)



Source d'énergie = la lumière (photosynthèse grâce à des pigments photosynthétiques).

Source de carbone = inorganique

Photosynthèse (anoxygénique) : qui ne produit pas d'O₂



2) Les **photo-organotrophes** (bactéries photosynthétiques (bactéries pourpres non-sulfureuses – *Athiorhodacées*)

Source d'énergie = la lumière

Source de carbone = molécule organique (acétate, arginine, éthanol ...)

2) Energie chimique

Seuls organismes de la planète à ne pas dépendre de l'énergie solaire et qui utilisent l'énergie contenue dans la chaleur du manteau.

On les réunit dans les **CHIMIOTROPHES** (organismes qui tirent leur énergie de composés chimiques).

1) Les **Chimio-organotrophes** (animaux, mycètes (champignons, levures), *végétaux chlorophylliens* et *non chlorophylliens*, et des bactéries.

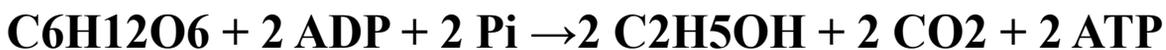
Ex. respiration



Source d'énergie = molécule organique

Source de carbone = glucose

Ex : fermentation éthylique (alcoolique)



Source d'énergie = molécule organique

Source de carbone = glucose

2) les **chimio-lithotrophes** (Bactéries et archae extrémophiles). Elles sont les productrices primaires des écosystèmes extrêmes tels que les grands fonds marins. Ce groupe se compose des méthanogènes et des thermophiles. On compte aussi des bactéries réductrices du soufre, les bactéries nitrifiantes, et les bactéries thermo-acidophiles)

Source d'énergie = molécule inorganique ($\text{NO}_3 \dots$)

Source de carbone = CO_2

Remarques :

1. Les végétaux chlorophylliens consomment de la matière organique qu'ils ont eux-mêmes produite : ils respirent aussi et consomment de l'oxygène, en présence comme en absence de lumière.

Ce sont donc à la fois des **chimio-organotrophes** et des **photo-lithotrophes**.

Un même organisme peut appartenir simultanément ou successivement à plusieurs de ces catégories.

Toutefois, on préfère souligner la source primaire d'énergie : on qualifiera donc les végétaux chlorophylliens de photo-lithotrophes, car ils ne sauraient être que chimio-organotrophes.

6.3. Critère respiratoire

La détermination du *type respiratoire* d'une bactérie consiste à déterminer le rapport qu'a cette bactérie avec l'oxygène (O₂ de l'air).

Il y a 4 types principaux détaillés ci-dessous:

- **Anaérobie strict:** ne se cultivent qu'à l'abri de l'O₂ (ex. *Methanobacter*)
- **Aérobie strict :** ne se cultivent qu'en présence d'O₂ (ex. *Pseudomonas, Micrococcus*).
- **Micro-aérophile:** beaucoup plus rares. Il s'agit de bactéries dont certaines enzymes (ex. catalase) ne fonctionnent correctement que sous une pression réduite d'oxygène. Elles ont besoin d'une concentration en oxygène inférieure à celle de l'air (ex. *Clostridium*).
- **Aéro-anaérobie facultatives:**
 - **aérobie facultatif:** peuvent utiliser toutes les voies énergétiques ou se limiter aux principales. (ex. *Staphylococcus*).
 - **anaérobies facultatives** ne peuvent utiliser que les fermentations (ex. *Streptococcus*)

6.4. Critère physiologique (écologique)

On peut regrouper des bactéries parfois très différentes mais capables d'une même biodégradation ou d'une même biosynthèse.

Dans le sol on trouve :

- les ammonifiants : groupe capable de transformer les composés organiques azotés en ammonium
- les fixateurs libres d'azote : bactéries hétérotrophes qui satisfont leurs besoins en azote par une fixation libre d'azote atmosphérique
- les sulfo-oxydants : groupe de bactéries capable d'oxyder le soufre et les sulfures jusqu'au stade du sulfate

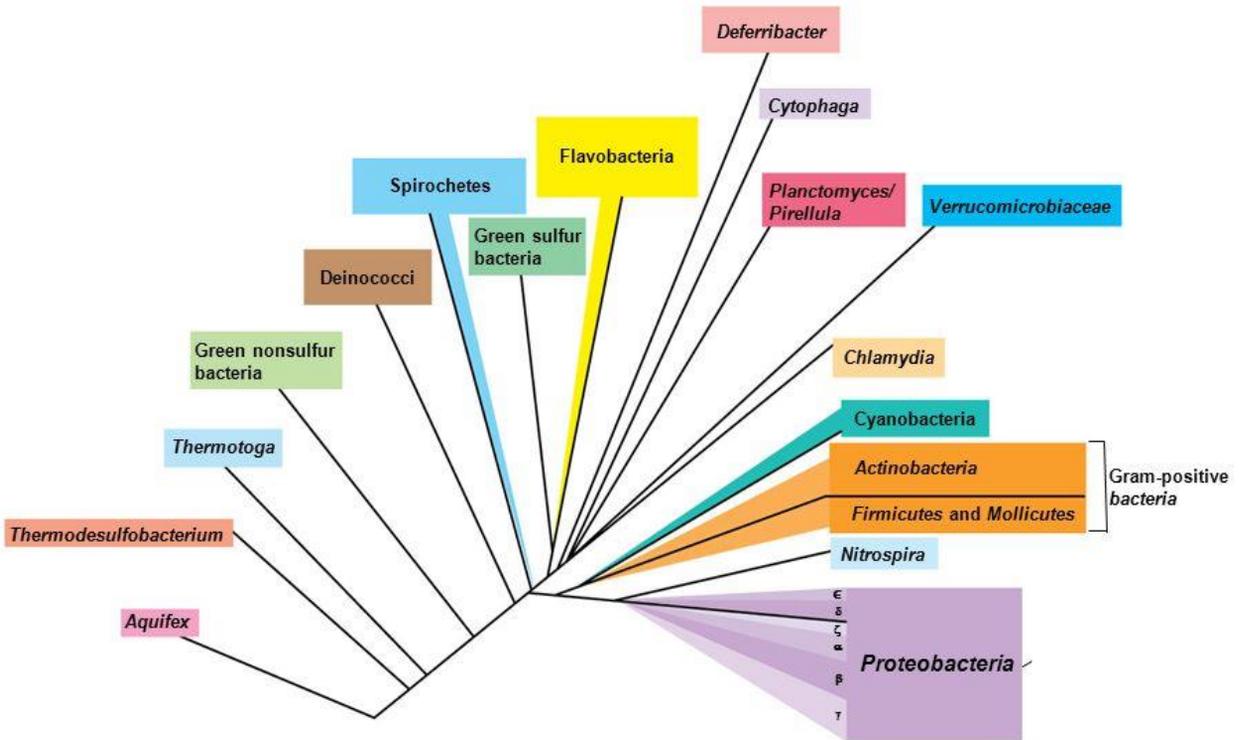
6.5. Habitats et environnements extrêmes

- Microorganismes présents dans tous les environnements.
- Certains de ces environnements microbiens peuvent s'avérer trop extrêmes pour la plupart des espèces.
- Les habitants de tels environnements sont appelés **extrémophiles**, un groupe remarquable constitué essentiellement de procaryotes.
- Ces procaryotes ne sont pas seulement *tolérants* à ces conditions extrêmes, mais celles-ci sont *requis*es pour leur croissance, ce qui explique l'appellation *extrémophiles* (le suffixe « -phile » signifiant « aimer »).

Cond extrême	Terme descriptif	Genres/espèce	Domaine	Habitat	Min	Optimum	Max
Température							
Elevée	Hyperthermophile	<i>Pyrolobus fumarii</i>	Archae	Source chaude hydrothermale marine	90	106	113
Basse	Psychrophile	<i>Polaromonas vacuolata</i>	Bacteria	Mer de glace	0	4	12
pH							
Faible	Acidophile	<i>Picrophilus oshimae</i>	Archaea	Sources chaudes acides	0.06	0.7	4
Élevé	Alcalophile	<i>Natronobacterium gregoryi</i>	Archaea	Lacs salés	8.5	10	12
Pression							
	Barophile	<i>Moritella yayanosiie</i>	Bacteria	Sédiments marins profonds	500 atm	700 atm	>1000 atm
Salinité (NaCl)							
	Halophile	<i>Halobacterium salinarum</i>	Archaea	Milieus salés	15 %	25 %	32 %

7. La diversité des procaryotes

7.1. Domaine des *Bactéria*



© 2012 Pearson Education, Inc.

Diversité: + de 9000 espèces

Taille: 0.05 μm (nanobactérie) à 600 μm

Métabolisme: phototrophe, chimiotrophe, hétérotrophe, aérobie,...

Ecologie: tous les milieux

cycles biogéochimiques (N, S)

à l'origine de l' O_2 dans l'atmosphère

recyclage des déchets organiques

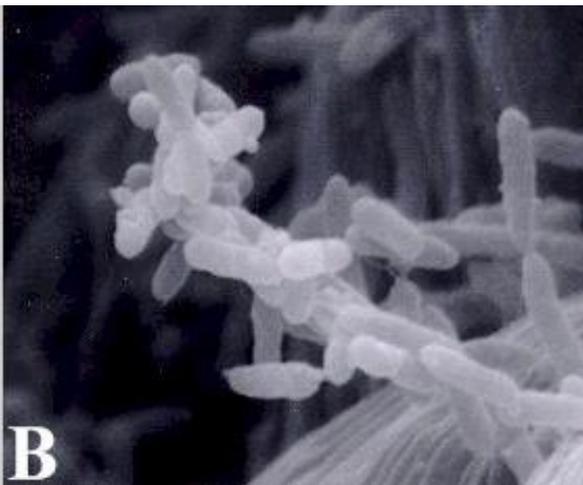
7.1.1. Proteobactéries

- Le plus important
- Tous Gram –
- Bactéries pathogènes à symbiotiques
- Du dieu grec Protée (divinité marine) qui avait la capacité de pouvoir se métamorphoser. Cela est dû à la grande variété de formes au sein de ce groupe.
- La plupart sont mobiles (flagelle)
- Quelques immobiles: myxobactéries
- Métabolisme: aérobie – anaérobie – hétérotrophes – photosynthétiques
- De grand intérêt médical, industriel et agroalimentaire

7.1.1.1. Exemples de Protéobactéries

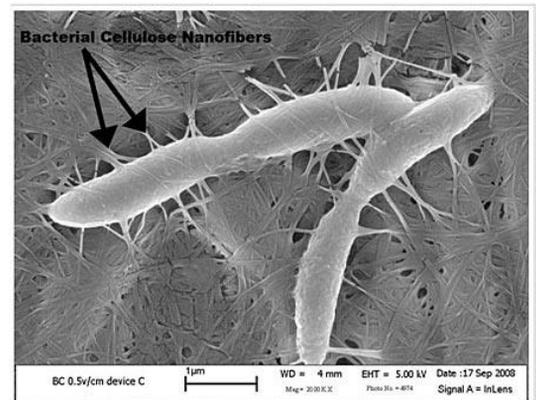
(1) *Rhodospirillales* – *Acetobacter*

- Bacilles mobiles, Gram négatif, aérobie strict, chimio-organotrophe.
- Ecologie: Présents dans fleurs, fruits, miel, boissons alcoolisées (vin, bière, cidre), le sol, les eaux.
- Certains sont symbiotiques de plantes (endophytes – *Acetobacter diazotrophicus*) – peut fixer l'azote atmosphérique
- Métabolisme: peuvent transformer l'éthanol en acide acétique. (fabrication du vinaigre à partir du vin – *Acetobacter aceti*)



Microscopie électronique de cellules d'*Acetobacter diazotrophicus* assemblées par un mucilage dans les tissus de canne à sucre (Université d'Arizona)

Endophytes chez canne à sucre, café, bananier, ananas, thé ...



(2) *Enterobacteriales* – (ex. *Escherichia coli*)

- L'une des plus importantes familles
- Fréquemment rencontrée en pathologie infectieuse ainsi que dans les bio-industries (fermentation de fromages et produits laitiers...)
- Bacilles Gram-
- Aéro-anaérobies

Ecologie: Ubiquistes

- **saprophytes** : milieux humides surtout, sols, eaux, végétaux, produits alimentaires

- **pathogènes**

-strictes: présence dans l'organisme anormale

Salmonella typhi responsable de la fièvre typhoïde

Escherichia coli responsable de gastro-entérite infantile

Yersinia pestis responsable de la peste.

-opportunistes: peu problématique chez individu sain – mais chez immunodéprimé --- septicémies (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*)

- **commensales** (la plupart), isolées dans l'intestin de l'homme et des animaux – dégradation des aliments (flore de fermentation)

E. coli: 80 % dans la flore aérobie avec une concentration avoisinant les 10^8 *E.Coli*/g de selles terminales

(3) *Legionellales* – *Legionella*

- La plupart pathogènes
- Mobiles (1 ou 2 flagelles polaires)
- Aérobie strictes
- *Legionella pneumophila*: la plus fréquemment rencontrée chez l'homme

Ecologie

- Présentes dans l'eau et dans les boues
- Responsables d'une maladie respiratoire, la légionellose.
- Colonisent les réseaux d'eau, notamment les réseaux d'eau chaude sanitaire ainsi que les tours aéro-réfrigérantes.



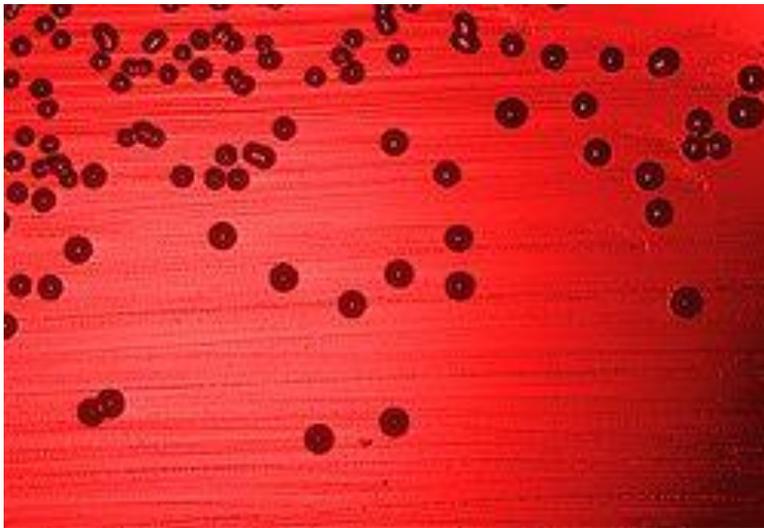
(4) *Pasteurellales* – *Haemophilus*

Haemophilus influenzae: coccobacilles ou petits bâtonnets immobiles à Gram négatif.

Découvert par Dr **Robert Pfeiffer** en 1892 pendant la pandémie de grippe (= influenza). On a longtemps cru qu'il était le responsable de la grippe, jusqu'à ce que l'on mette en évidence en 1933 la source virale de la grippe.

Isolée à partir des voies respiratoires chez l'Homme.

Haemophilus influenzae représente près de 40 % des causes bactériennes des otites moyennes



Haemophilus influenzae sur un milieu de culture au sang

(5) *Vibrionales* – *Vibrio*

- Petits bacilles, de formes fréquemment incurvées dites « en virgule », extrêmement mobiles.
- Aérobie de préférence
- +/- 20 espèces

Habitat

- Vivent dans l'eau, souvent en saprophytes dans les eaux douces, mais sont aussi commune dans les habitats aquatiques salés (eaux de mer, estuaires, intestins des animaux marins). Leur résistance aux sels marin s'explique par leur halophilie.
- Quelques espèces pathogènes.
- Symbiotes de poissons des eaux profondes.
- *Vibrio cholerae* : agent responsable du choléra.



Vibrio cholerae

(6) *Pseudomonadales* – *Pseudomonas*

Aérobies stricts

- plus d'une centaine d'espèces ubiquistes

Habitat

- Sol, eau, sur les plantes, dans les matières organiques non vivantes
- Chez les plantes (quelques espèces, dont *Pseudomonas syringae*, dont une souche tue de jeunes marronniers par milliers depuis le début des années 2000)
- Chez l'homme et l'animal (avec principalement *Pseudomonas aeruginosa*)

Rôle pathogène

- Chez l'homme, *Pseudomonas aeruginosa* intervient fréquemment comme pathogène opportuniste. Elle se retrouve en flore de transit sur la peau et les muqueuses et cause des surinfections de plaies ou brûlures.
- Chez des individus immunodéprimés elle peut être la cause de diverses infections cutanées et viscérales voire de septicémie. Elle comporte un risque particulièrement élevé d'infections nosocomiales

(7) *Rhizobiales* – *Rhizobia*

- **bactéries aérobies** du sol appartenant à la famille des *Rhizobiaceae*.

- Forment une **symbiose avec des plantes**, les Fabacées (anciennement appelée: Papilionacées ou Légumineuses)

- Les plantes sont incapables de fixer l'azote atmosphérique (représente 78% de l'air). Des symbioses se mettent en place entre des bactéries capables de fixer l'azote atmosphérique, dite **diazotrophes**, et les plantes (généralement des légumineuses).

- La symbiose se caractérise par une **nodulation**, c'est-à-dire la formation de nodules ou nodosités, contenant les bactéries.

- La plantes « infectée » fournit les **sucres et l'énergie** issus de la photosynthèse

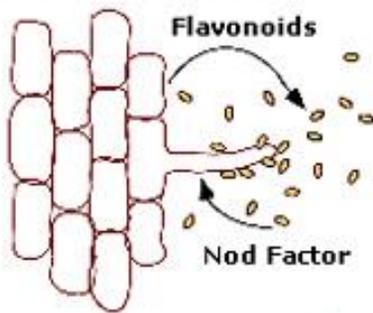
- La bactérie fourni le NH_3 issus de la fixation de l'azote atmosphérique.

- **Symbiose à bénéfice réciproque :**

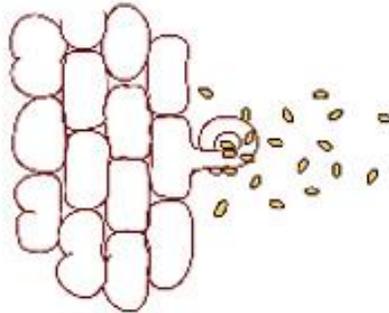
- pour bactéries : micro-habitat exceptionnellement favorable, les légumineuses leur procurant un apport en substrats carbonés issus de la photosynthèse.

- Pour les plantes : ammoniacque directement assimilable par les plantes.

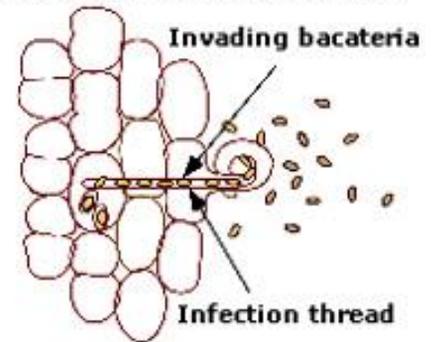
Chemical recognition.



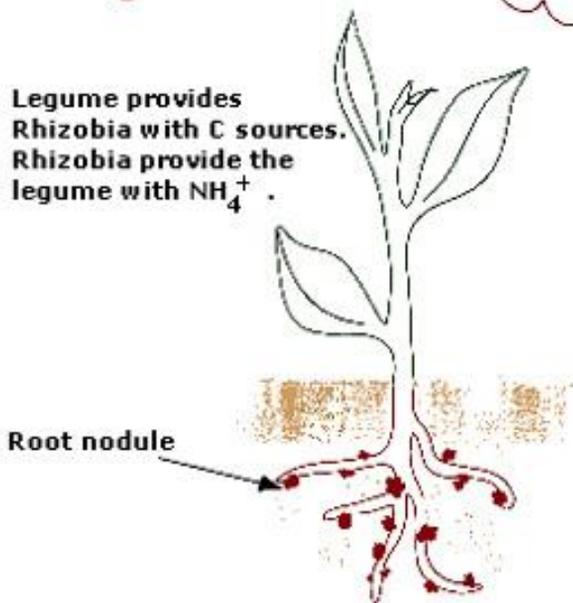
Deformation of root hair and root cell division.



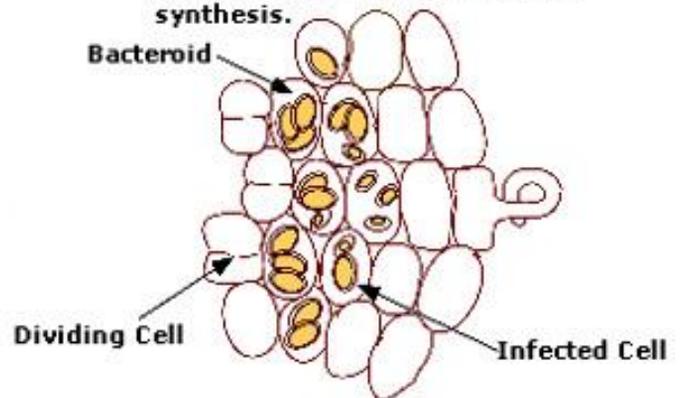
Formation of infection thread.



Legume provides Rhizobia with C sources.
Rhizobia provide the legume with NH_4^+ .



**Nodule tissue formation and bacteroid differentiation.
Nitrogenase and leghemoglobin synthesis.**



Première étape : l'infection

Les racines sécrètent des substances chimiques de type flavonoïdes et isoflavanoïdes, qui attirent les bactéries de type *Rhizobium* du voisinage. En réponse, les bactéries synthétisent et émettent des facteurs de nodulation, dits facteurs *nod*. Sous leur action, les poils absorbants changent leur direction de croissance et forment une structure en crosse de berger, qui enferme les rhizobiums. Les bactéries peuvent ainsi pénétrer dans l'écorce (parenchyme cortical), via un filet infectieux. Au même moment, la racine commence à répondre à l'infection par une division des cellules de l'écorce et du péricycle. Les vésicules contenant les bactéries bourgeonnent dans les cellules de l'écorce à partir de l'extrémité du filet infectieux ramifié.

Deuxième étape : développement de la nodosité

La croissance se poursuit dans les régions infectées de l'écorce et du péricycle, jusqu'à ce que ces deux masses de cellules fusionnent et forment la nodosité.

Troisième étape : maturation de la nodosité

La nodosité continue sa croissance, alors que le tissu conducteur reliant la nodosité au xylème et au phloème du cylindre central se développe. Ce tissu conducteur apporte à la nodosité les glucides et autres substances organiques nécessaires au métabolisme cellulaire. Il transporte aussi les composés azotés produits dans la nodosité vers le cylindre central, qui les distribuera dans toute la plante. 88

Le niveau de formation de l'azote est contrôlé par la protéine "leghémoglobine" (protéine fixatrice de O₂).

Leghémoglobine : hémoprotéine fixatrice d'oxygène présente chez les Fabacées et très proche de l'hémoglobine. On la trouve dans des nodosités de la racine lors de phénomènes de symbioses bactériennes, la partie globine est synthétisée par la plante hôte (essentiellement chez les légumineuses) et l'hème est produit par la bactérie. Cette protéine permet de protéger un complexe enzymatique (nitrogénase/hydrogénase) des effets de l'O₂ qui l'inactive.

Elle n'est synthétisée que dans les nodosités, où elle peut représenter 40% des protéines présentes. De couleur rouge, la leghémoglobine confère aux nodosités une couleur rose caractéristique.

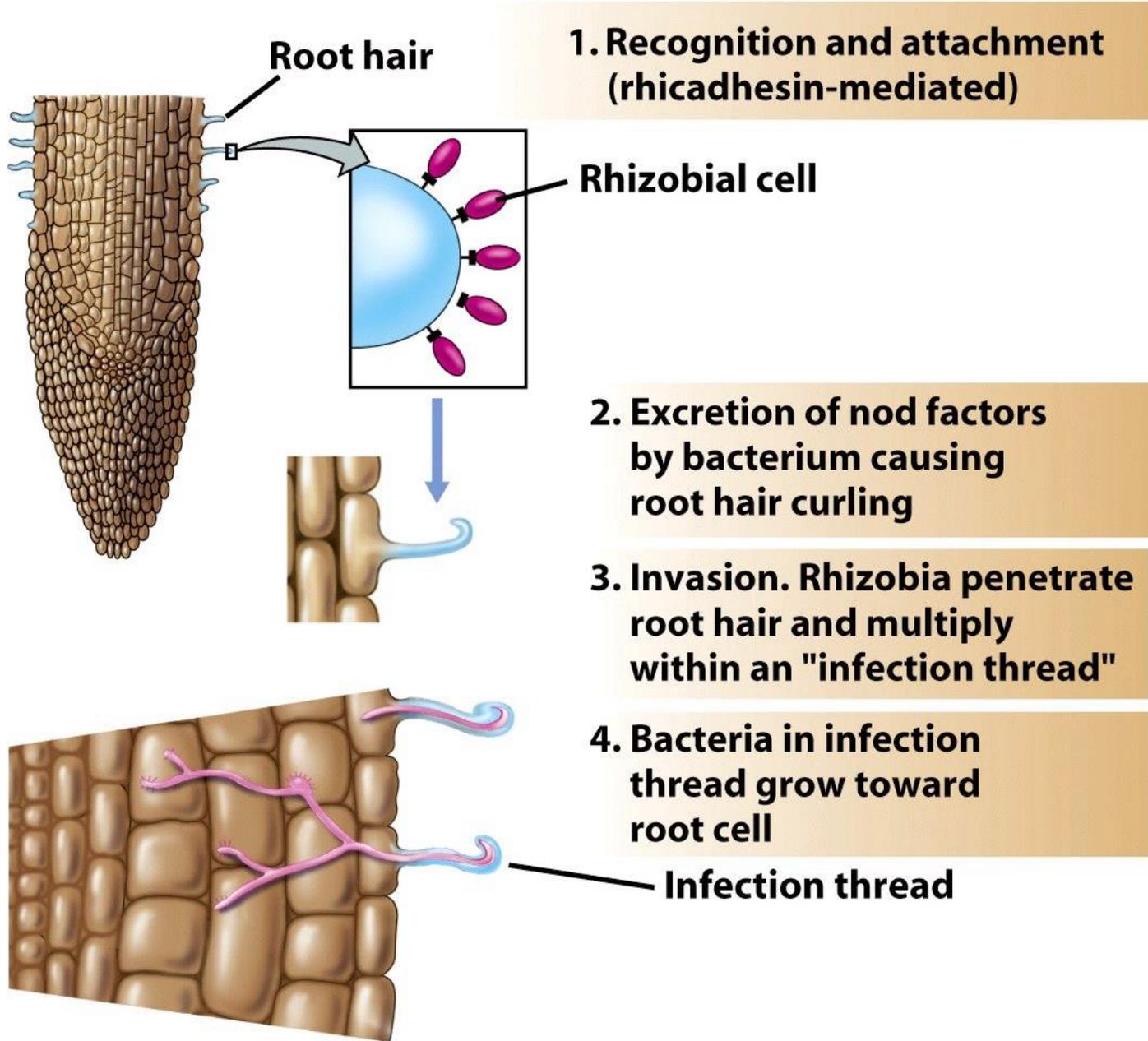
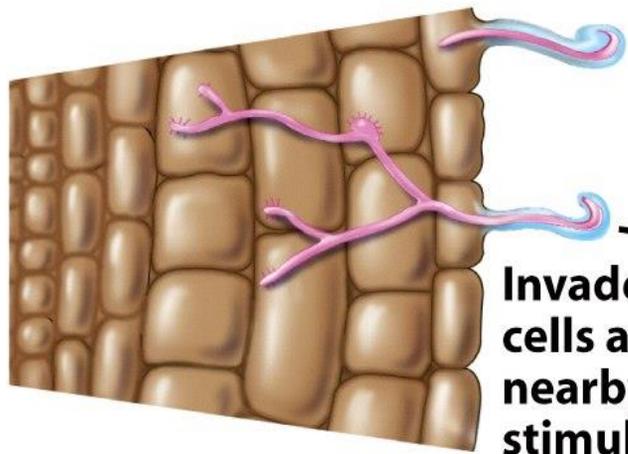


Figure 19-61 part 1 Brock Biology of Microorganisms 11/e
 © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

La colonisation initiale est réalisée par les apex des poils racinaires. Suivant la pénétration, le poil racinaire forme une boucle en réponse à la sécrétion par la bactérie d'une substance : le facteur nod.

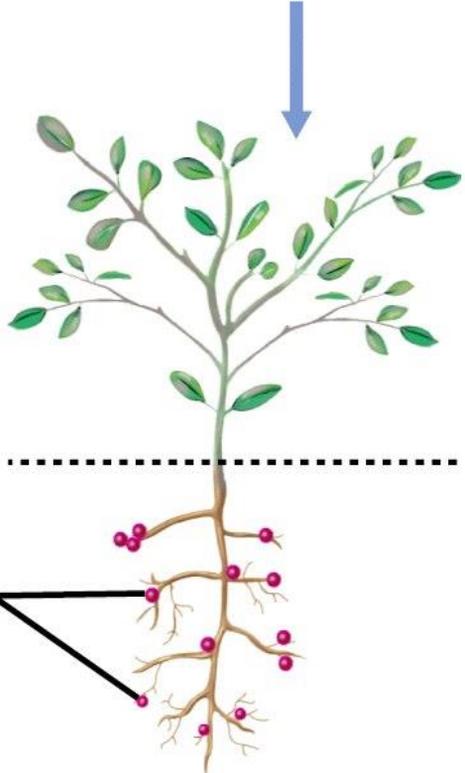
La bactérie entre ensuite dans le poil racinaire qui forme un tube cellulolitique appelé "**infection thread**" (filet infectieux).



4. Bacteria in infection thread grow toward root cell

Infection thread
Invaded plant cells and those nearby are stimulated to divide

5. Formation of bacteroid state within plant cell

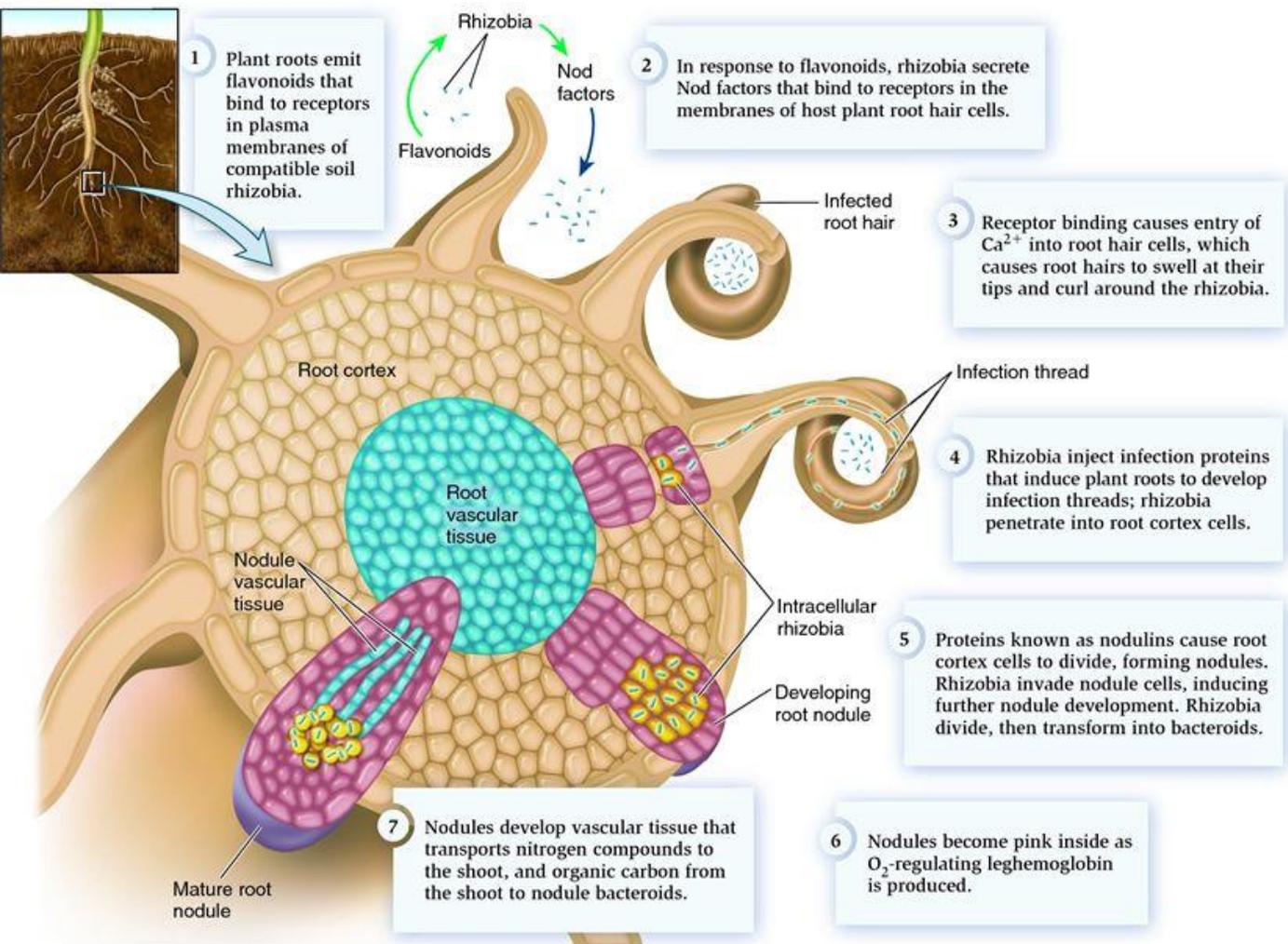


Nodules

6. Continued plant and bacterial cell division

Figure 19-61 part 2 Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Les bactéries se multiplient rapidement dans les cellules végétales et se transforment en bactéroïdes



<https://biology-forums.com/index.php?action=gallery;sa=view;id=1011>

(8) Rhizobiales – *Agrobacterium*

Agrobacterium rhizogenes.

Présents dans la rhizosphère. Attirés vers les racines de plantes qui présentent des lésions induites par des pathogènes ou autres sources. Il en résulte la sécrétion de composés phénoliques qui ont un effet chémo-attractant sur la bactérie.

A travers la blessure la partie T-DNA du plasmide Ri (root inducing) de la bactérie est transféré dans la plante. Il en résulte le phénotype « hairy root ».

Agrobacterium tumefaciens

Cause la galle du collet

La maladie se caractérise par une croissance tumorale souvent à la jonction entre la racine et la tige.

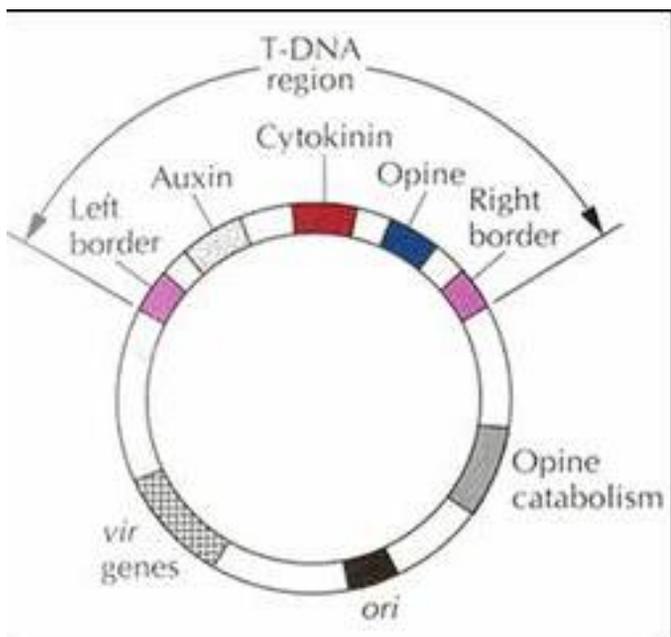
La tumeur est induite par le transfert de la partie T-DNA du plasmide Ti (tumor inducing).



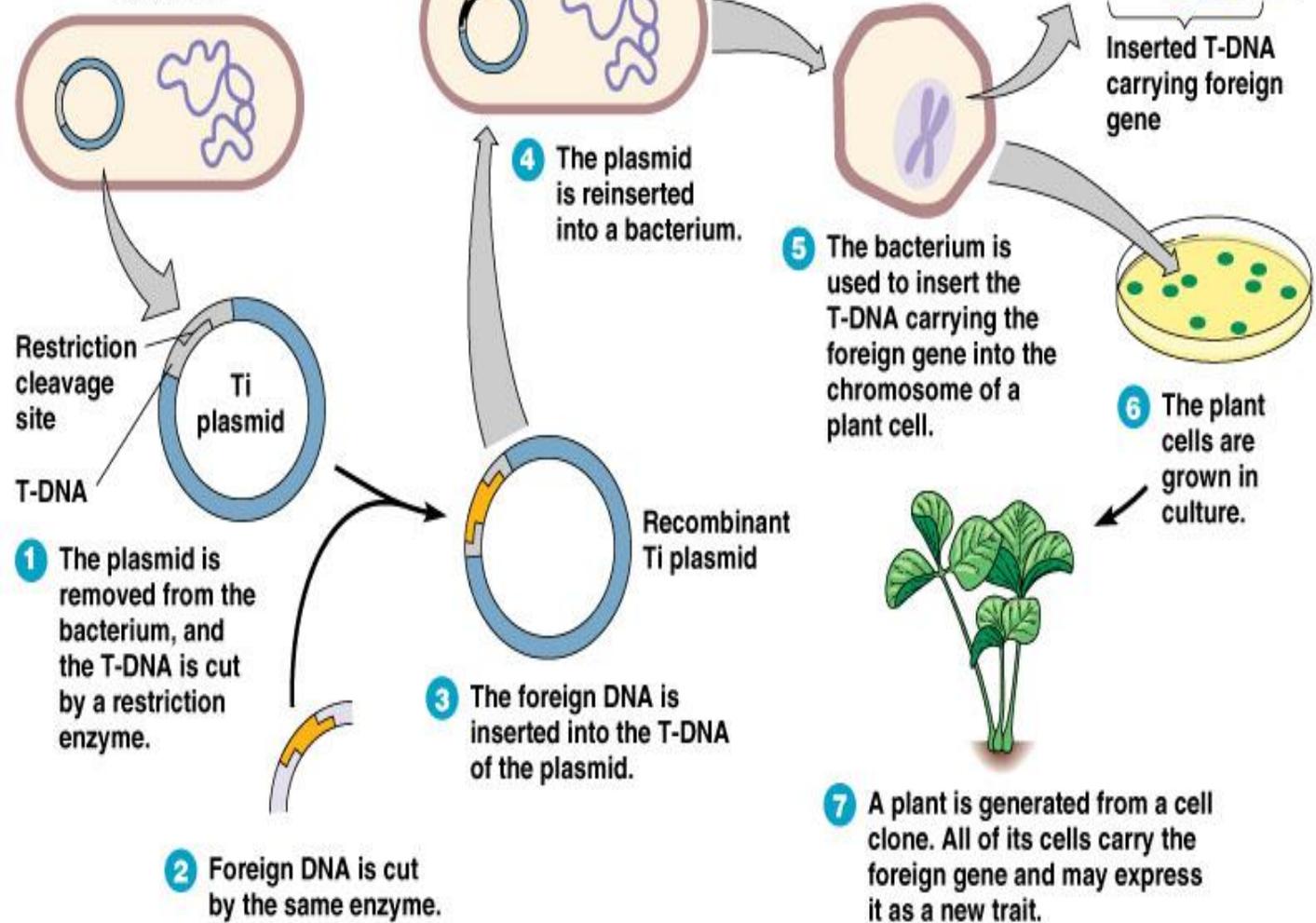
Utilisés en biotechnologie pour transférer des gènes d'intérêt vers les plants (Schell et Van Montagu pionniers).

1. Retirer les gènes virulents sans affecter la capacité de transfert
2. Insérer un gène d'intérêt

Plasmide = molécule d'ADN séparée de l'ADN chromosomique et capable de répllication autonome. Typiquement circulaire.



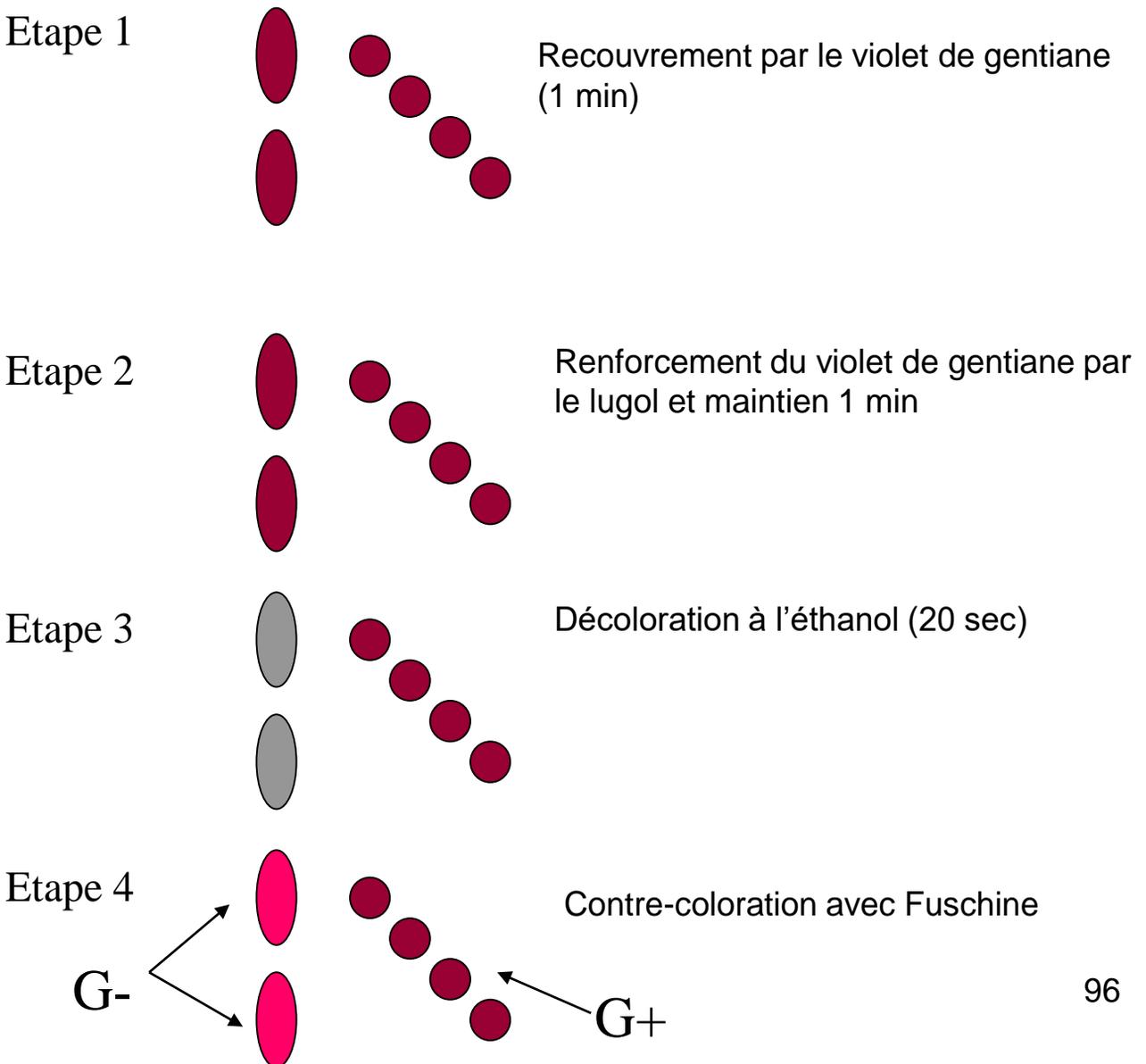
Agrobacterium tumefaciens
bacterium



7.1.2. Bactéries Gram positives

Les bactéries Gram positif sont pour la plupart des germes non exigeants, qui se cultivent facilement dans les milieux de base. La plupart des coques sont des Grams positif mais de nombreux bacilles sont aussi des Gram positif.

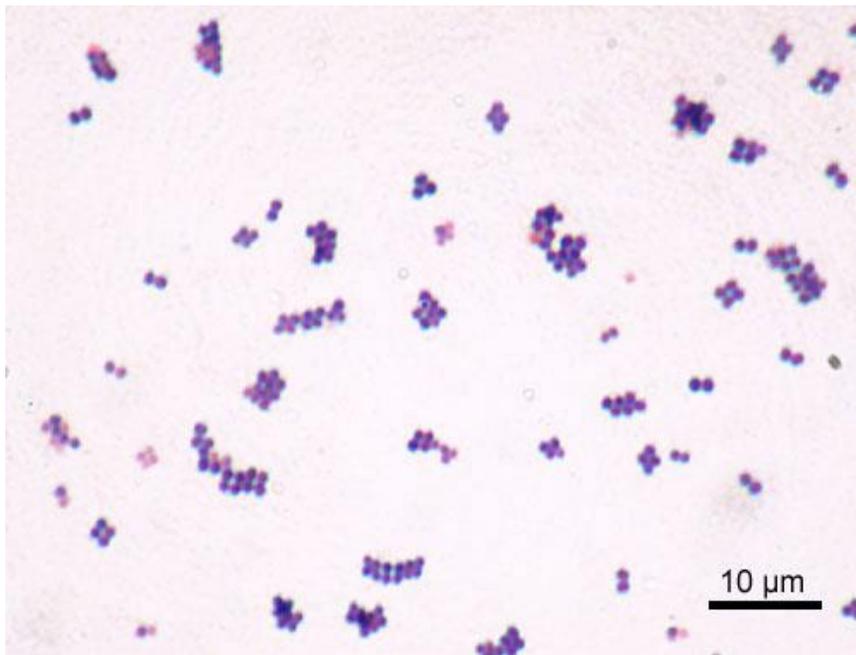
Critère en taxonomie: coloration de gram basé sur les propriétés de la paroi bactérienne.



7.1.2.1. Exemples de bactéries Gram positives

(1) *Staphylococcus*

- Coques arrondis, en amas réguliers (grappes de raisin) ou par deux, de 0,7 à 1 μm de diamètre.



Staphylococcus aureus

Ecologie

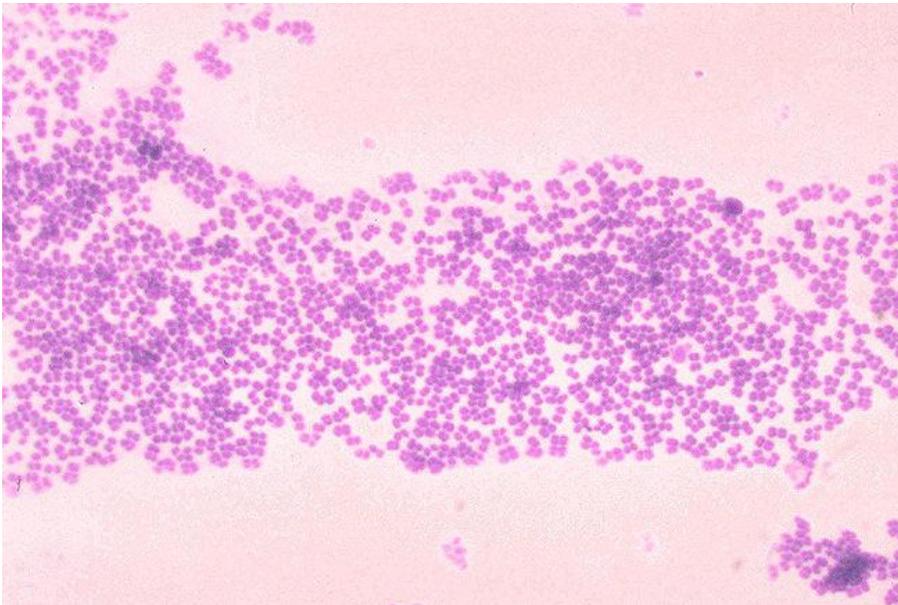
- Saprophytes (dans l'environnement extérieur).
- Commensal sur les épithéliums de l'homme et des animaux.
- Responsable d'intoxications alimentaires (entérotoxines), d'infections localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes, de septicémies

(2) *Micrococcus*

- Coques de 0,5 à 2 μm de diamètre, souvent groupées en paire ou en tétrade, généralement immobile.
- Aérobie

Habitat

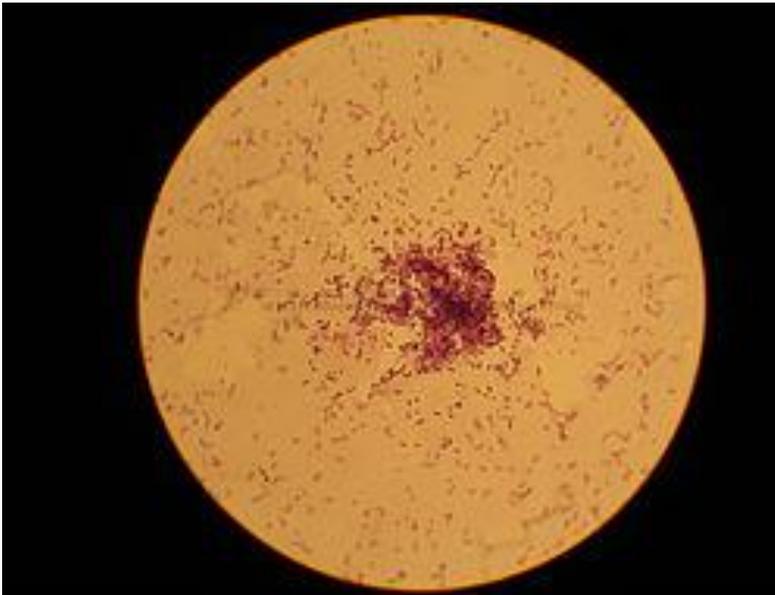
- sol, eaux douces, aliments. Fréquentes sur la peau de l'Homme et des animaux.



Micrococcus mucilaginosus _

(3) *Lactococcus*

- Anaérobie facultatif.
- Largement utilisées dans l'industrie alimentaire comme souches « starter » dans la production des fromages, des laits fermentés, de la caséine.
- Rôle dans la production du caillé (prise en masse du lait par acidification dû à la fermentation du lactose en acide lactique) servant à la fabrication du fromage.
- Grâce à leur équipement enzymatique, elles participent à la protéolyse de la caséine en acide aminé précurseur de nombreuses molécules aromatiques.



Lactococcus lactis

(4) *Lactobacillus*

Anaérobies facultatives.

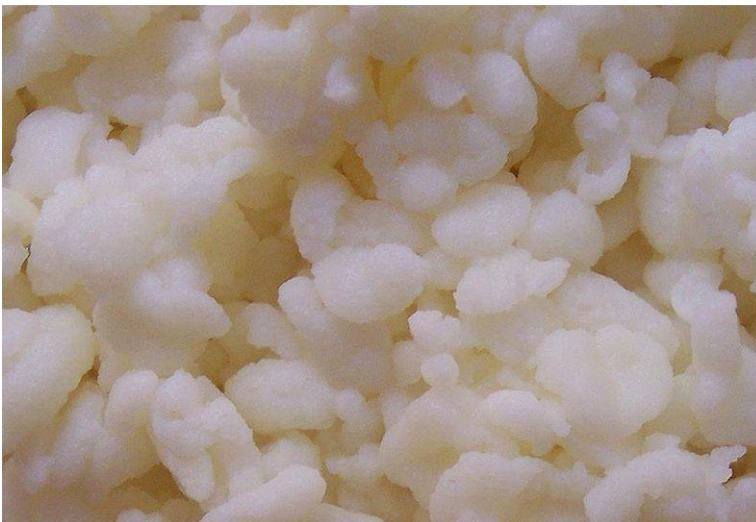
Convertissent le lactose et d'autres sucres simples en acide lactique
élément important de la flore intestinale.

Les lactobacilles n'exercent aucun rôle pathogène

Quelques espèces sont utilisées industriellement pour la production
du yaourt, de la choucroute et d'autres aliments fermentés, ainsi
que pour l'ensilage.

Le pain au levain est fabriqué en utilisant une « culture de départ »
qui est une culture symbiotique de levures et de bactéries
lactiques cultivées dans un milieu constitué de farine et d'eau.

Certains lactobacilles, particulièrement *L. casei* et *L. brevis*, sont
parmi les plus communs des organismes qui altèrent la bière.



Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus

(5) *Clostridium*

- Genre bactérien regroupant des bacilles anaérobies ou micro-aérophile pour la plupart, mobiles en général par l'intermédiaire de *flagelles* péritriches.
- Le genre *Clostridium* comporte de nombreuses espèces dont certaines hautement pathogènes pour l'homme.
- Les espèces les plus marquantes:
 - *Clostridium tetani* — l'agent du tétanos
 - *Clostridium botulinum* — l'agent du botulisme
- Beaucoup d'espèces sont présentes dans le sol qui est leur habitat naturel (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium butyricum*...).

(6) *Bacillus*

- De forme bacilles, elles sont aérobies ou aéro-anaérobies, et tirent leur énergie par respiration ou fermentation.
- Très résistantes grâce à la production d'endospores.
- Hétérotrophes, saprophytes et ubiquistes.
- Présentes dans le sol (rôle dans le cycle du carbone et de l'azote). Certaines espèces sont trouvées dans l'eau douce, d'autres dans l'eau de mer.
- Il existe des espèces thermophiles, acidophiles, psychrophiles, alcalinophiles.
- Les espèces saprophytes sont responsables de multiples dégradations de produits alimentaires (sûrissement et caillage du lait ...).
- Certains d'entre eux ont des rôles utiles comme producteurs d'antibiotiques (bacitracine).
- *Bacillus anthracis*, responsable de la maladie du charbon.

Bacillus thuringiensis

Bacille Gram positif, aérobie, sporulé.

Présent dans pratiquement tous les sols, l'eau, l'air et le feuillage des végétaux.

Isolé en 1901 par le bactériologiste japonais S. Ishiwata à partir de vers à soie. La **première description** scientifique est due à l'allemand E. **Berliner en 1911.**

Dans sa forme sporulée, **Bt produit un corps cristallin**, formé de multiples protéines à **propriétés insecticides** sur les lépidoptères, les coléoptères et/ou les diptères.

Elles agissent en **détruisant les cellules de l'intestin** de la larve d'insecte atteint par ces toxines, ce qui aboutit à la mort de l'insecte.

Grand intérêt commercial.

Les premières applications datent de **1933**. Elle a été utilisée dès les années **1950** dans les forêts, les champs et les vignobles. Jusqu'au milieu des années **1970**, sa principale application était l'éradication des **lépidoptères** dans les forêts et les grandes cultures.

En **1976**, la découverte des **sérotypes israelensis (Bti) et tenebrionis** a permis l'ouverture de nouveaux marchés, grâce à une **action larvicide sur les moustiques, les simulies et les coléoptères.**

(7) *Streptococcus*

- vaste ensemble de microorganismes ubiquistes, qui comprend de nombreuses espèces.
- Pathogènes, commensales et saprophytes.

Saprophytes:

- Notamment dans le lait.
- Utilisés en industrie laitière et en fromagerie, et dans pratiquement toutes les industries de transformation du lait.

Ex: *S. lactis*, *S. cremoris* et *S. diacetylactis*: sont regroupées sous l'appellation de *Lactococcus lactis*. Leur action modifie les qualités organoleptiques du lait

S. thermophilus sert à la fabrication de yaourts

Commensales:

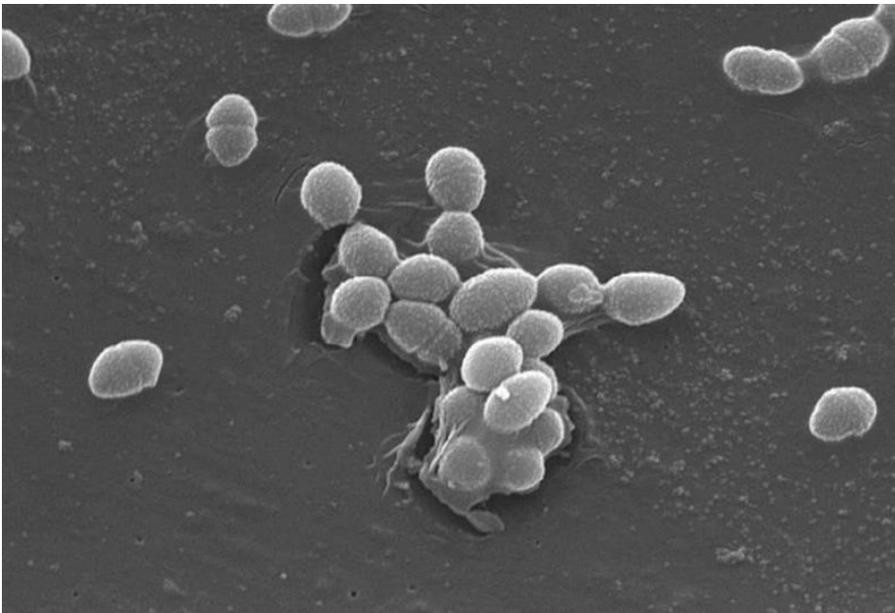
- bouche (*S. Salivarius*), intestin (*enterococcus*)

Pathogènes:

- *S. Pyogenes* est à l'origine d'une forme minoritaire d'angines rouges), d'infections cutanées (impétigo), d'infections broncho-pulmonaires.
- *S. pneumoniae* (ou pneumocoque) est un des principaux responsables de mortalité d'origine infectieuse dans les pays industrialisés (infections broncho-pulmonaires chez nourrisson et personnes âgées).

(8) *Enterococcus*

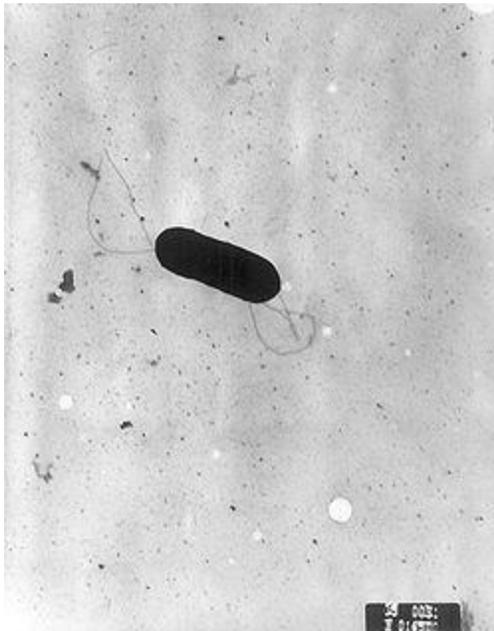
- Anaérobie,
- Se présentent sous forme de coques en chaînettes.
- Pathogènes opportunistes causant des septicémies, infections urinaires, ou abdominales d'origine intestinale. Ils sont la cause de plus de 10% des infections nosocomiales.
- Les deux principales espèces sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*.
- Ils sont assez résistant aux acides, ce qui leur permet de passer la barrière stomacale.
- Dans l'eau potable, ce sont des indicateurs de contamination fécale.



Enterococcus faecalis

(9) *Listeria*

- Bacilles de petite taille, mobiles grâce à des flagelles.
- Anaérobies facultatives.
- Ubiquistes qu'on trouve presque partout ; dans le sol, en épiphyte sur les végétaux, l'eau
- Très résistantes, elles peuvent survivre aux traitements de nettoyage-désinfection et ainsi persister dans les ateliers de production de l'industrie agro-alimentaire.
- La seule espèce pathogène pour l'homme est *L. monocytogenes*, qui cause la listériose. Elle peut traverser la barrière intestinale et la barrière placentaire, pouvant alors provoquer des infections – éventuellement mortelles – du fœtus, du nouveau-né, ou des accouchements prématurés.



L. monocytogenes

7.1.3. Actinobactéries

Groupe de bactéries ramifiées à allure de moisissures.

Bactéries autrefois assimilées aux micro-champignons du sol en raison de leurs formations filamenteuses

Mais différences avec les champignons :

- Appareil nucléaire primitif
- Parois cellulaires composées de sucres et acides aminés (champignons : chitine)
- Filament (1-1.5 μm) plus proche d'un bâtonnet que d'un filament de champignon.

La plupart se retrouvent **dans les sols**. Jouent un rôle essentiel dans la **décomposition de la matière organique** (cellulose, chitine,...). Ils participent activement à **l'humification** en s'attaquant à la lignine. Mais surtout, ils sont capables de s'attaquer aux humus et libèrent à la fois l'azote qu'ils contiennent et les éléments échangeables qu'ils avaient fortement adsorbés. Les actinobactéries ou plus exactement, divers produits de leur métabolisme, **sont responsables des odeurs de la terre**.

Les principaux genres sont :

Actinomyces

Arthrobacter

Corynebacterium

Frankia

Micrococcus

Micromonospora

Mycobacterium

Nocardia

Propionibacterium

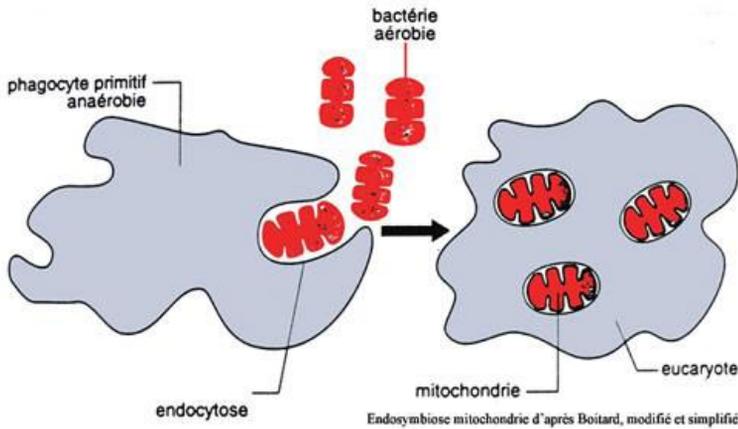
Streptomyces (70-90% de l'ensemble des actinobactéries du sol)

1. **Mycobacterium** : certains sont des pathogènes humains : Ex. les agents de la tuberculose (*M. tuberculosis*) et de la lèpre (*M. leprae*).
2. **Arthrobacter** : L'habitat est constitué par le sol mais certaines espèces peuvent être isolées d'eaux usées, d'humus, d'animaux. Dans l'environnement, ces micro-organismes interviennent dans la biodégradation des hydrocarbures, les tannins, la cellulose, la lignine. Ils peuvent même dégrader certains herbicides et pesticides.
3. **Corynebacterium** : *C. diphtheriae* est une bactérie pathogène responsable de la diphtérie.
4. **Streptomyces** : La plupart vivent dans le sol. Beaucoup produisent de nombreux composés d'intérêt pharmaceutique (antibiotiques, anti-tumoraux) ou agricoles (herbicides, facteurs de croissance). Ex. en 1940 Selman Waksman découvre l'**actinomycine** et la **streptomycine** et reçoit le prix Nobel. En mai 2005, les laboratoires Merck & Co. Inc. ont annoncés dans le revue *Nature*, la découverte d'un nouvel antibiotique nommé **platensimycine** issu de la souche bactérienne *Streptomyces Platensis*

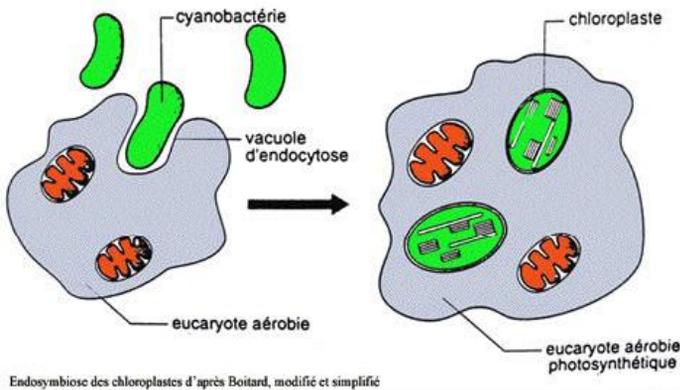
7.1.4. Cyanobactéries

- **Cyanophycées:** sous-classe de bactéries (procaryotes), autrefois appelées algues bleues.
- **Réalisent la photosynthèse oxygénique :** peuvent transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique utilisable par la cellule en fixant le dioxyde de carbone et en libérant de l'oxygène.
- Apparues il y a environ **3,8 milliards d'années.**
- Seraient à l'origine de **l'expansion de la vie sur terre** par leur production d'oxygène par photosynthèse.
- Elles possèdent de la **chlorophylle et d'autres pigments**, d'où leur couleur qui peut varier beaucoup, mais qui est en principe bleue, ce qui explique leur nom.
- Jouent un rôle important dans le **cycle de l'azote** : transforment l'azote atmosphérique en ammonium ou en nitrates, substances assimilables par les plantes.
- En mourant, elles libèrent des sels nutritifs produits par la fixation de l'azote et **augmentent ainsi le rendement agricole** (rizicultures).
- On les utilise ainsi comme **engrais « vert »** pour amener un apport d'azote directement assimilable par les plantes.

Théorie endosymbiotique



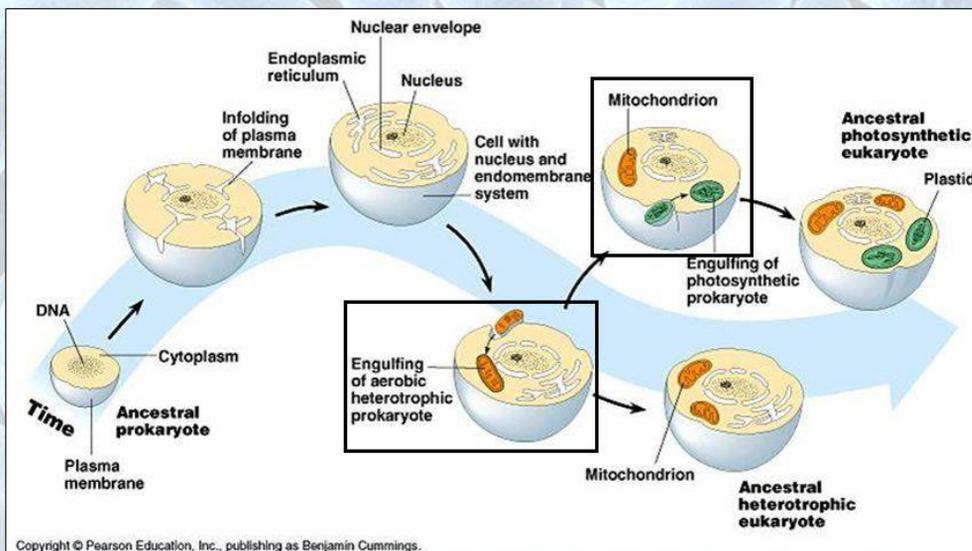
Incorporation par un eucaryote primitif de bactéries aérobies hétérotrophes (protéobactéries) à l'origine des mitochondries



Incorporation par certains eucaryotes primitifs de cyanobactéries (photosynthétiques) à l'origine des chloroplastes

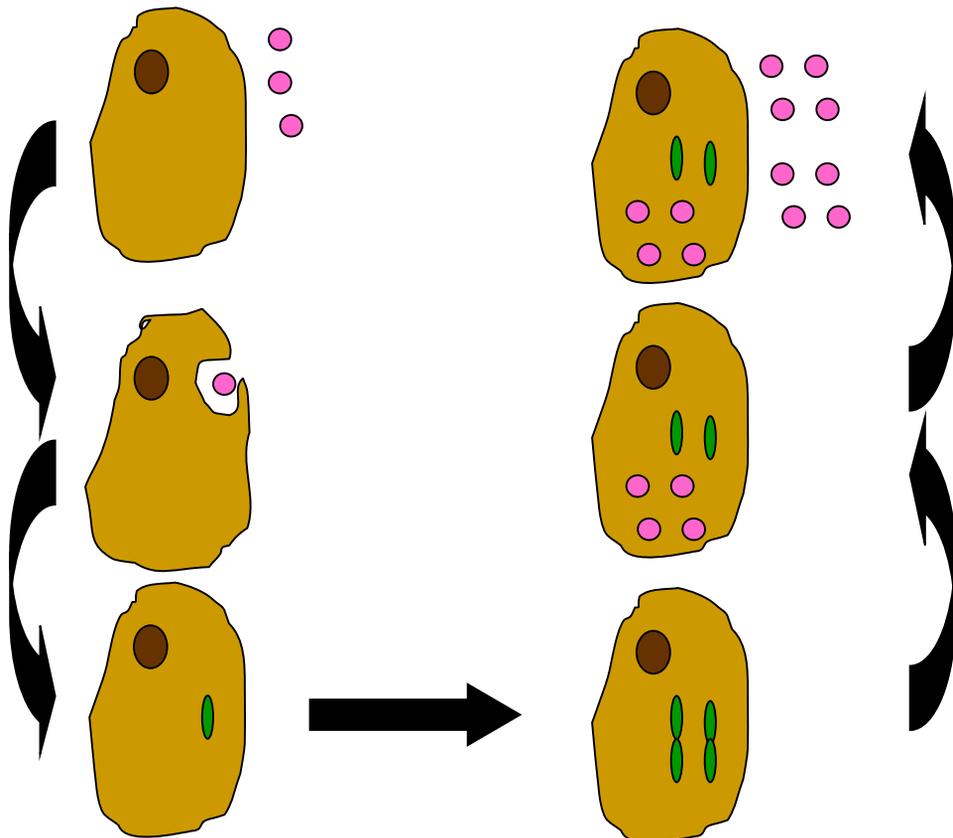
Il y a +/- 1 milliard d'années

Théorie endosymbiotique



7.1.5. Chlamydia

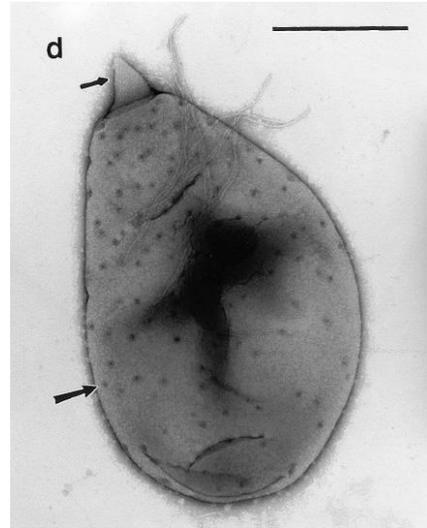
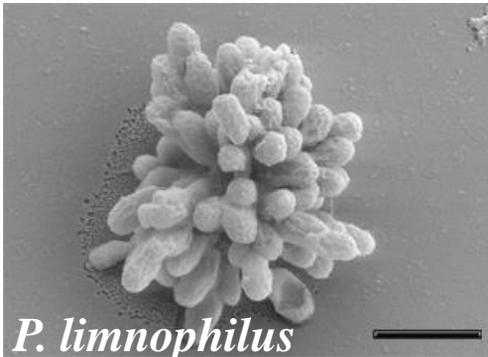
- Bactéries parasites obligatoires
- Nombreuses maladies humaines
 - *Chlamydophila psittaci* – psittacose
 - *Chlamydia trachomatis* – trachome
 - *Chlamydophila pneumonia* – syndromes respiratoires
- Cycle cellulaire via deux types cellulaires
 - Corps élémentaires (0.3 μm)
 - Paroi rigide, pas de croissance, stade infectieux
 - Corps réticulaires (1 μm)
 - Paroi cellulaire fragile, forme reproductrice, non infectieux



7.1.6. Planctomyces

Bactéries pédonculées

Pédoncule peut avoir un rôle d'attachement



Phylum de bactéries aquatiques: terrains saumâtres, marins ou d'eau douce.

Se reproduisent par bourgeonnement.

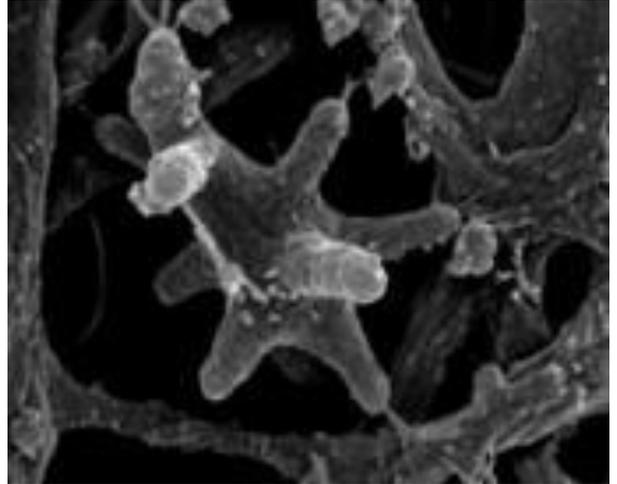
Les seules bactéries sans peptidoglycane dans la paroi.

Cycle de vie

Deux phases où alternent une cellule sessile (immobile, accrochée à une paroi) et une cellule à flagelle. Les cellules sessiles bourgeonnent pour former des cellules à flagelle, qui iront nager un certain temps avant de se rattacher à leur tour à une paroi et commencer leur reproduction.

7.1.7. Verrucomicrobia

- Peu d'espèces à ce jour
- Isolées d'eau douce et de sol
- Bactéries à prosthèques:
 - = extrusion du cytoplasme formant des appendices distincts
- Aérobie ou aérobie facultative
- Capable de fermenter de nombreux sucres



Verrucomicrobium spinosum

- Se divise de façon symétrique avec présence de prosthèques chez cellule fille et mère.

7.1.8. Flavobactéries

Deux genres principaux: *Bacteroides* et *Flavobacterium*

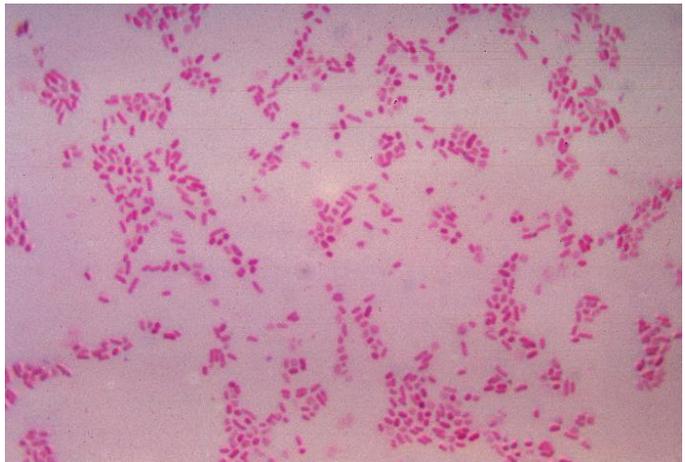
Bacteroides:

Anaérobies strictes, Gram négatif, non sporulées

Commensales du tube digestif humain ou animal

Certaines sont pathogènes

Les *Bacteroides* sont régulièrement résistants à la Pénicilline



Bacteroides fragilis

Flavobacterium:

En forme de bâtonnet, à coloration de gram négatif, non fermentantes et aérobies strict.

Eaux douces ou marines, aliments et usines de transformation des aliments

Rarement pathogènes

7.1.9. Cytophaga

- Rassemble des bactéries en forme de bâtonnets, aérobies strictes ou aéro-anaérobies.
- Bactéries communes dans le sol, les eaux douces et marines, les eaux usées, les matières organiques en décomposition, les déjections animales.
- Dégradent un grand nombre de molécules organiques (protéines, polysaccharides, cellulose, chitine, amidon...) et représentent un groupe bactérien très important impliqué dans la transformation aérobie de la matière organique.

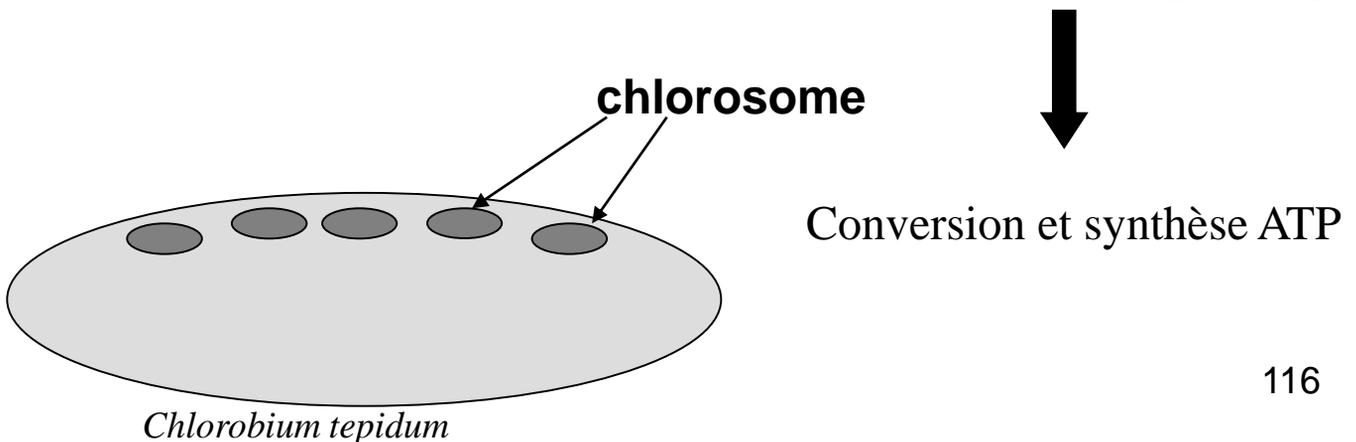
7.1.10. Bactéries vertes sulfureuses

- Bactéries phototrophes anoxygéniques, non mobiles
- Diversité morphologique limitée: bacilles courts à long
- Utilisent H_2S comme donneur d'électron, l'oxydant en S puis SO_4^{2-}
- Pigments et écologie
 - Bactériochlorophylle a et c, d ou e
 - c, de ou e capturent les photons – localisés dans **chlorosome**

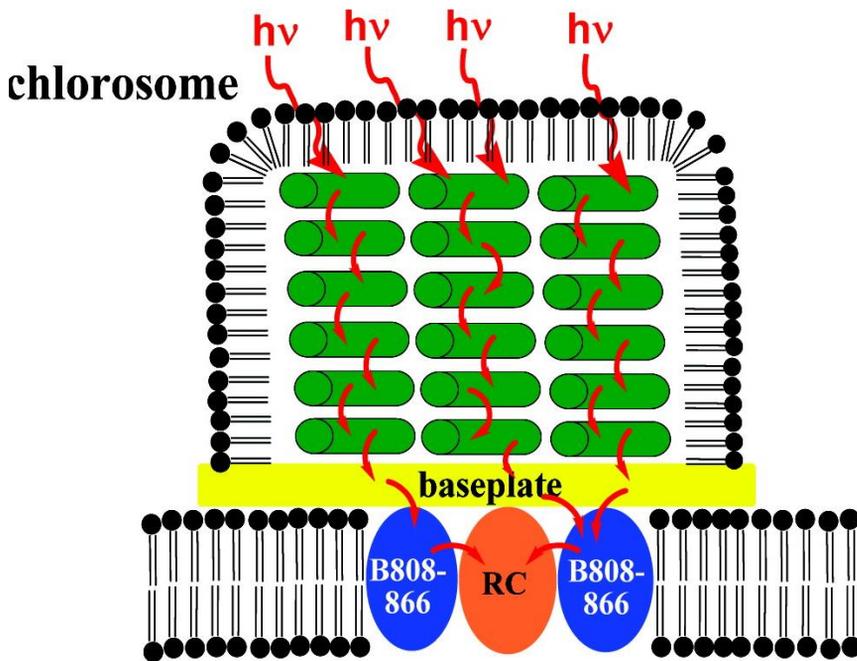
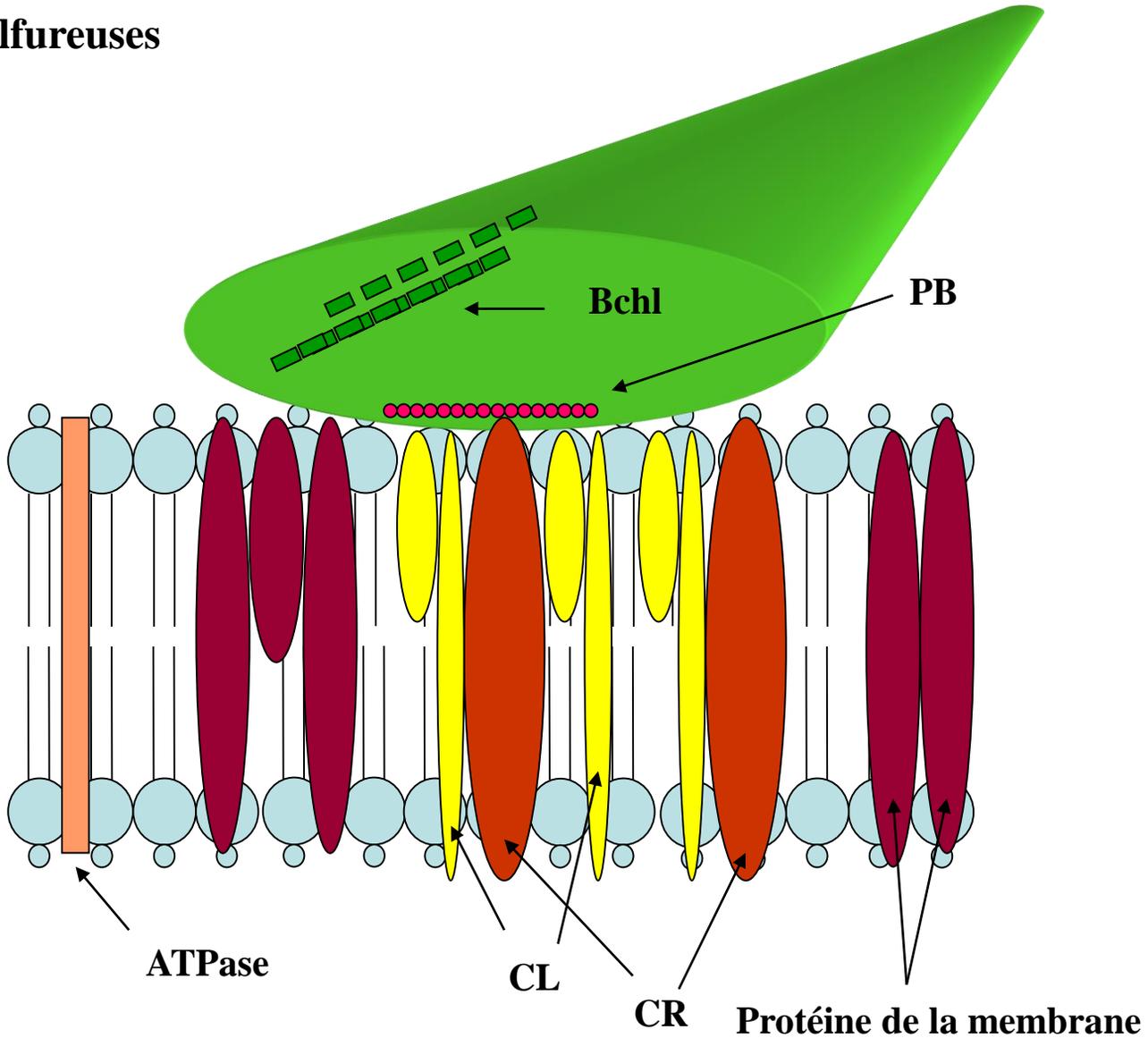


- Fonctionne a de très faibles intensités lumineuses

↓
Bactériochlorophylle c, d ou e dans chlorosome → Bactériochlorophylle a dans membrane cytoplasmique



Chlorosome des bactéries vertes sulfureuses et vertes non-sulfureuses



- Se développent dans des milieux aquatiques anoxiques riches en H₂S
- *Chlorobium tepidum*: thermophile - forme des tapis microbiens dense dans les sources d'eau chaude sulfureuses

Consortium des bactéries vertes sulfureuses

- Association entre bactérie verte sulfureuse et bactérie chimio-organotrophe ... bénéfiques réciproques
- Le phototrophe (épibionte) est fixé aux cellules non-phototrophes
- Cellule centrale non-phototrophe entourée de 12 à 20 épibiontes.

Ex: *chlorochromatium aggregatum* (vert)
Pelochromatium roseum: brun

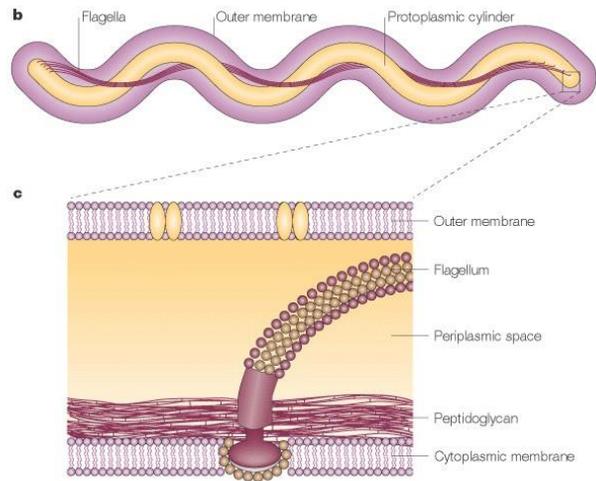
- Division synchronisée ... communication intercellulaire entre partenaires

Rôle: Reste spéculatif.

Cellule centrale permettrait à l'épibionte de se positionner de manière optimale dans la colonne d'eau pour photosynthèse optimale. La cellule centrale reçoit des éléments nutritifs issus de la photosynthèse et excrétés par l'épibionte

7.1.11. Spirochètes

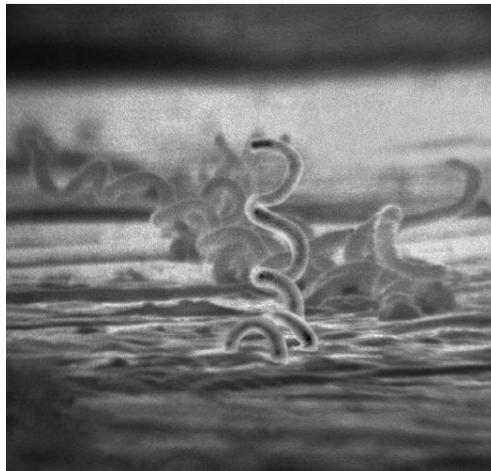
- Gram négatif.
- Cellules longues de forme hélicoïdale (en « tire-bouchon »).
- Environnements aquatiques et chez animaux
- Se distinguent par la présence de flagelles internes, courant en longueur entre la membrane cytoplasmique et la membrane externe. Ces flagelles leur confèrent une mobilité et rapidité exceptionnelles dans les milieux visqueux.



Nature Reviews | Microbiology

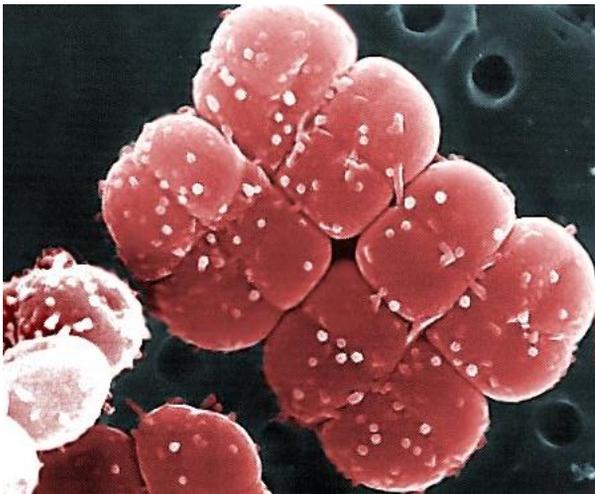
- Ex. *Borrelia burgdorferi*, agent de la maladie de Lyme
- *Treponema pallidum*, agent de la syphilis.

Treponema pallidum



7.1.12. Deinococci

- Peu de genres
- Chimio-organotrophe, thermophile.
- Comprends l'espèce *Thermus aquaticus* : Taq DNA polymérase
- Généralement de couleur rouge ou rose (présence de caroténoïdes)
- De nombreuses souches très résistantes aux radiations ionisantes et à la dessiccation
- *D. radiodurans* résiste à une exposition de 15 000 Gr. 10 Gray peut être létale pour l'homme.



D. Radiodurans (cellules en forme de coques souvent associées par deux ou en tétrades. Non mobiles

7.1.13. Bactéries vertes non sulfureuses

- Quelques genres. Le plus connu *Chloroflexus*
- Forme des tapis microbiens dans des sources chaudes (avec cyanobactéries)
- Contient la bactériochlorophylle c et des chlorosomes
- D'un point de vue phylogénique: le plus ancien phototrophe

7.1.14. Thermotoga, Thermodesulfobacterium, Aquifex

- Thermophile, anaérobie et hétérotrophe.
- Cellule en forme de bâtonnet entourée d'une membrane cellulaire externe (la "toga").
- Les enzymes de Thermotoga sont connues pour être active à des températures élevées
- *Thermotoga maritima* vit dans des conditions anaérobies dans des sédiments marins près des cheminées géothermales au large de l'Italie (Volcano). Elle peut se développer jusqu'à 90°C.



Thermotoga maritima

Aquifex

Deux espèces principales: *A. pyrophilus* et *A. aeolicus*.

Thermophile: poussent a température de 85° à 95 °C.

Longueur: 2 à 6 µm et diamètre 0.5 µm.

Gram négatif et microaérophiles.

Forme des agrégats contenant jusqu'à 100 cellules.

A proximité des volcans, sources chaudes



A. aeolicus

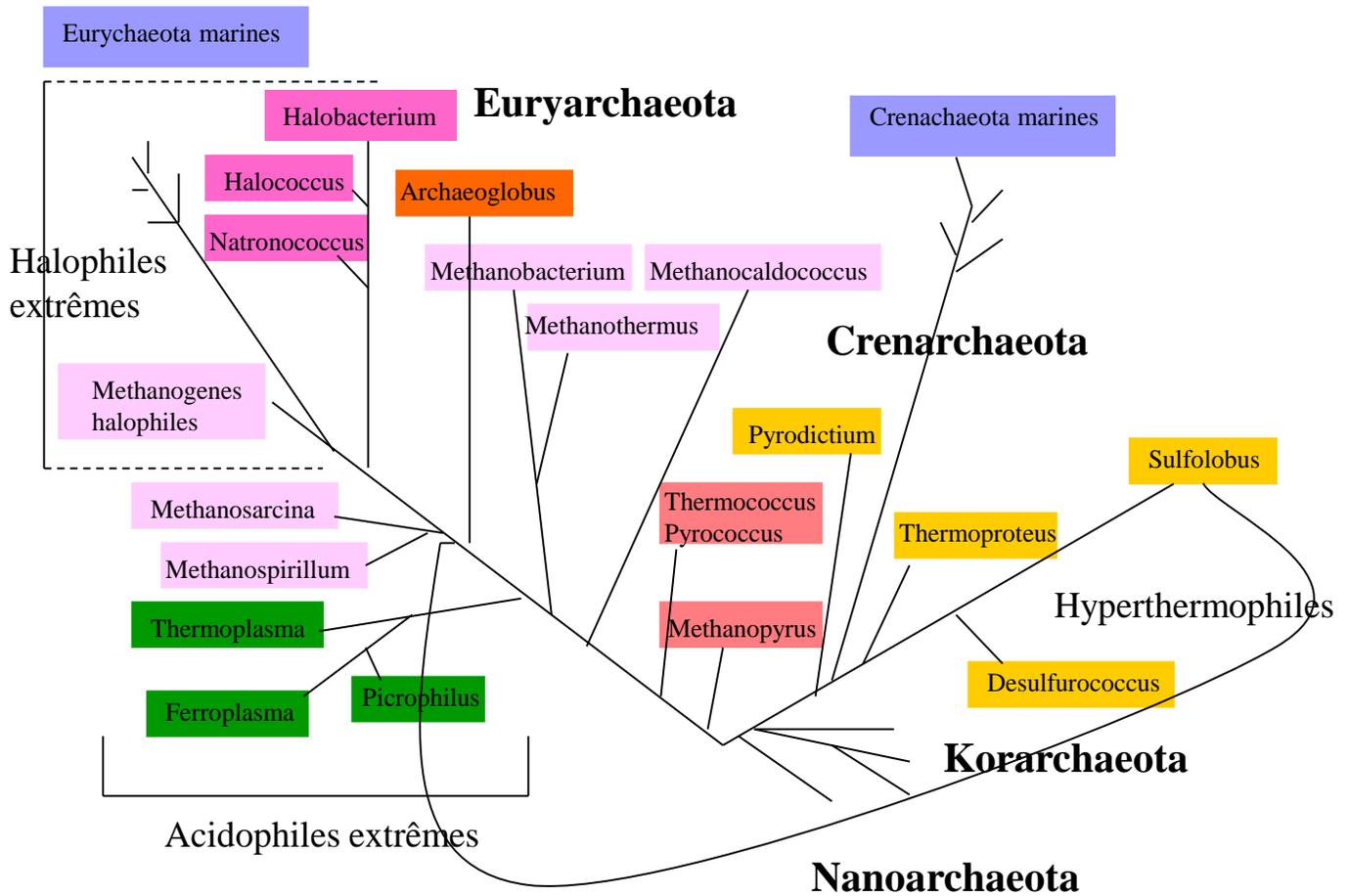
7.1.15. Nitrospira

- Chimiolitotrophes ou chimioorganotrophes
- Mésophiles à thermophiles
- Nitrospira oxyde le NO_2 en NO_3 et est autotrophe
- Capacité physiologiques proche des protéobactéries nitrifiantes mais phylogéniquement distant.
 - Il a été suggéré un transfert horizontal des capacités physiologiques depuis les protéobactéries nitrifiantes (ou vice versa).

7.1.16. Deferribacter

- Anaérobies
- Très versatiles. Peuvent utiliser différents accepteurs d'électrons comme les métaux Fe^{3+} et Mn^{4+}

7.2. Domaine des *Archaea*



Diversité: 259 espèces

Forme: sphériques, spirales, bâtonnet. Leur taille varie entre 0,1 et 15 μm (filaments jusqu'à 200 μm).

Ecologie: environnements extrêmes et normaux (sols...) – cycles – mutualiste - commensalisme

Pathogénicité: aucune connue – sauf nanoarchaeum

Modes de reproduction: division binaire, bourgeonnement ou fission multiple.

7.2.1. Phylogénie

Deux embranchements principaux

Crenarchaeota

- Essentiellement hyperthermophiles
- Producteurs primaires

Euryarchaeota

- Groupe divers
- Comporte les méthanogènes – métabolisme lié à la production de méthane – anaérobies stricts
- Comporte beaucoup d'halophiles – aérobies obligatoires
- Certains hyperthermophiles (thermococcus, Pyrococcus) et méthanogènes (Methanopyrus)

Deux autres embranchements

Korarchaeota

- Découvertes dans une source d'eau chaude (Yellowstone)
- Pas encore reconnus taxinomiquement – proche de la racine – probablement primitif

Nanoarchaeota

- Un seul genre (Nanoarchaeum) - parasite

7.2.2. Euryarchaeota

7.2.2.1. Archae halophiles extrêmes

- Halobacterium, Halococcus, Natronococcus

Ecologie:

- Environnements à forte concentration en sel (marais salants, lacs salés...poissons et viandes salées)
- Organismes halophiles MAIS besoins en sels très élevés
 - Min 9% de NaCl pour la croissance
 - 12-23%: optimal
 - 32% possible (limite de saturation du NaCl)

Les environnements hypersalés

- Environnements hypersalés fréquents mais extrêmes rares
- Situés dans des zones chaudes et sèches.
- **Lacs salés:** chimie (concentration en anions et cations) très variable entraîne une grande diversité des microorganismes halophiles
 - Certains endémiques
 - D'autres sont répandus dans divers habitats

Les marais salants = petits bassins fermés remplis d'eau de mer - produit le sel de mer par évaporation.

Souvent coloration rouge liée à l'efflorescence (bloom) des Archae halophiles qui contiennent des pigments (caroténoïdes, bactériorubérines...).

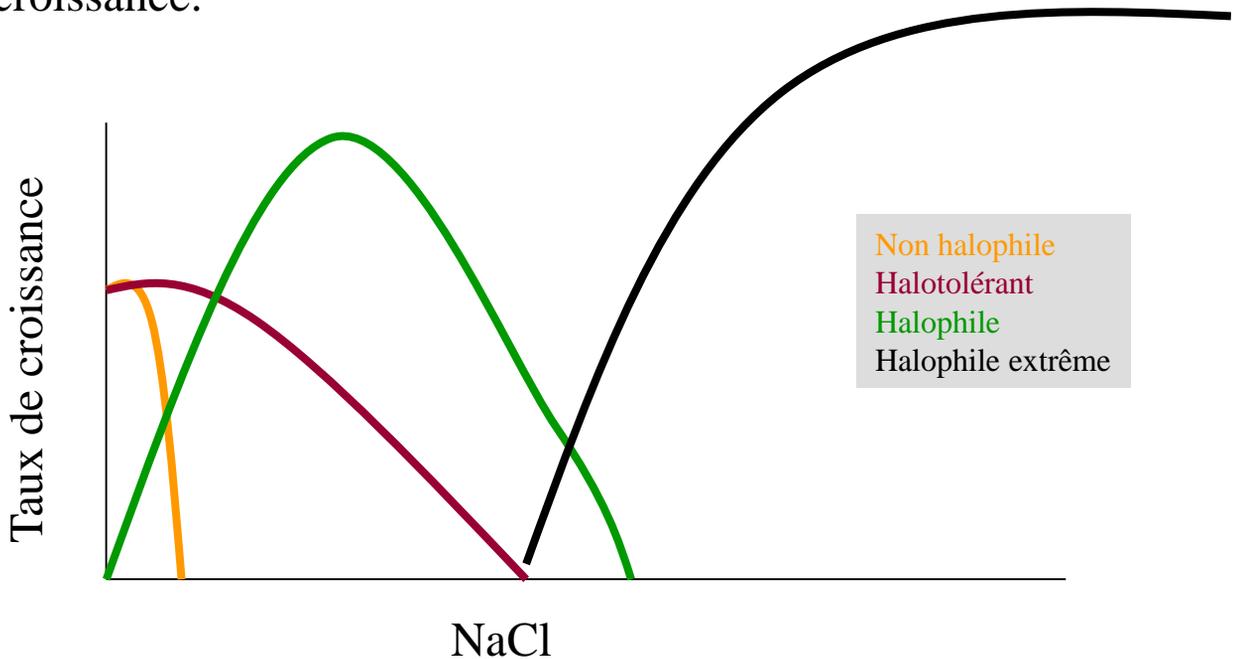
Les salaisons: poisson, saucisson.



Marais salant (baie de San Francisco)

Equilibre hydrique chez les halophiles extrêmes

Les halophiles extrêmes ont besoin de beaucoup de Na pour leur croissance.



Cependant, ils doivent maintenir leur équilibre osmotique. Pour ce faire, les organismes accumulent ou synthétisent des solutés intracellulaires = **solutés compatibles**!

Halobacterium utilise le K^+ en grande quantité qu'il transporte dans son cytoplasme depuis l'extérieur.

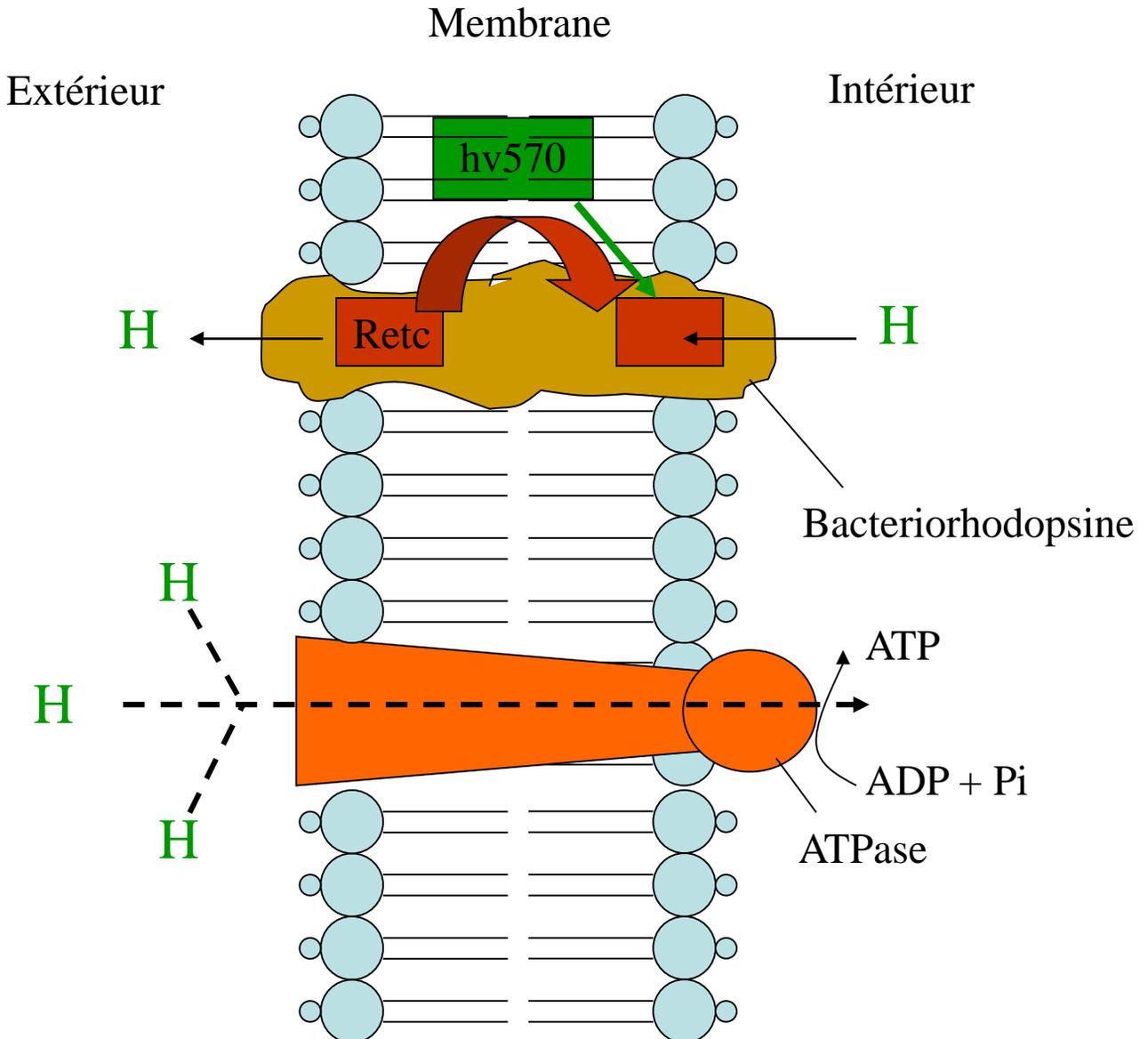
$$\text{conc } K^+ \text{ intra} > \text{conc } Na^+ \text{ ext}$$

La paroi est riche en glycoprotéines stabilisée par les ions Na^+ .

Si Na^+ diminue, la paroi se rompt et la cellule se lyse car les glycoprotéines de la paroi sont riches en glutamate et aspartate (aa chargés négativement). Les charges négatives sont neutralisées par le Na^+ . Si Na^+ diminue, les charges négatives se repoussent ce qui conduit à la lyse des cellules.

Bactériorhodopsine et synthèse d'ATP photodépendante chez les halobactéries

Bactériorhodopsine = protéine membranaire contenant du rétinol, capable de générer une force proton-motrice photodépendante



Modèle de fonctionnement de la bactériorhodopsine

Autres rhodopsines

Halorhodopsine: pompe à chlorure photodépendante

importe des ions Cl^- dans la cellule

Rhodopsines sensorielles: contrôlent la phototaxie (mouvement vers la lumière).

Modifie la rotation des flagelles provoquant la migration des cellules vers la lumière où la bactériorhodopsine pourra fonctionner pour fabriquer l'ATP.

7.2.2.2. Archae productrices de méthane

- *Methanobacterium, Methanocaldococcus, Methanosarcina*
- Organismes méthanogènes = produisent du CH₄ au cours de leur métabolisme énergétique
- Méthanogenèse = processus de formation de méthane
- Méthane : « air combustible » (Alessandro Volta) – gaz inflammable

Habitats des méthanogènes:

- Sédiments anoxiques
- Tractus digestif d'animaux
- Sources géothermiques de H₂ et CO₂
- Stations d'épuration
- Endosymbiotes de divers protozoaires anaérobies

Diversité des méthanogènes

- Morphologies très variées
- Critères morphologiques et physiologiques:
 - Méthanobacterium : paroi de pseudopeptidoglycane
 - Methanosarcina: paroi avec methanochondroïtine
 - Methanocaldococcus: glycoprotéines

Physiologie:

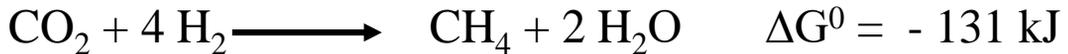
- Tous anaérobies obligatoires
- La plupart sont mésophiles et non halophiles mais il existe quelques extrêmophiles (optimum à température très élevée ou basse) ou même halophiles (qui se développent à concentration élevée en sel).

Substrats de la méthanogénèse

- Trois grandes classes de substrats peuvent être converti en méthane

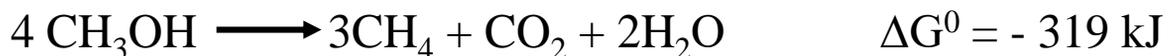
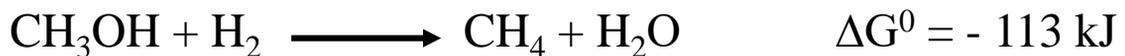
Substrats de type CO₂

- Dioxyde de carbone, formiate, monoxyde de carbone



Substrats de type méthylés

- méthanol**, méthylamine, diméthylamine, triméthylamine, méthylmercaptan, diméthylsulfure



Substrats de type acétotrophes

- acétate**, pyruvate



- Très peu de méthanotrophes sont acétotrophes MAIS les production en méthane (boues de station d'épuration) sont pour 2/3 produit de l'acétate.

- Toutes les réactions sont exergoniques – peuvent servir à la production d'ATP.

7.2.2.3. Termoplasmatales – Acidophiles extrêmes

- Thermoplasma, Ferroplasma, Picrophilus
- Acidophiles extrêmes et certains thermophiles

Archae sans paroi

- Thermoplasma et Ferroplasma n'ont pas de parois ... ressemblent aux mycoplasmes

Thermoplasma: chimioorganotrophe (optimum à pH: 2 et 55°C)

T. acidophilum – isolées de terrils: contiennent des débris de charbon, de la pyrite et sont le siège d'une combustion autonome = favorable

T. volcanium – isolée à partir de sols acides chauds.

- L'absence de paroi est compensée par une membrane riche en lipoglycane qui confère à ces espèces une résistance aux conditions chaudes et acides.

Ferroplasma: chimio-litotrophe. Acidophile mais pas thermophile (°T optimale: 35°C).

- Oxyde le Fe^{2+} en Fe^{3+} pour produire de l'énergie.
- Se développe dans les résidus miniers qui contiennent de la pyrite.
- Peut entraîner des eaux acides à pH de 0.

Picrophilus: acidophile le plus extrême.

Pousse à pH optimum de 0.7.

Espèce modèle pour l'étude de la tolérance aux conditions d'acidité extrême.

La membrane cytoplasmique est particulière:

A pH optimal: membrane imperméable à l'acide

A pH plus élevé (+/- 4) : la membrane devient fluide et se désagrège.

Ne survit donc que dans des environnements extrêmement acides.

7.2.2.4. Euryarchaeta hyperthermophiles: Thermococcales et methanopyrus

- Thermococcus, Pyrococcus, Methanopyrus
- Quelques uns vivent dans des environnements chauds et certains sont hyperthermophiles

Thermococcus

- Hyperthermophile des sources thermales anoxiques.
- Très mobiles via touffe de flagelles polaires
- Anaérobie strict

Composé organique + S⁰ → H₂S + CO₂ (chimioorganotrophe)

- Température optimale: 75 à 95 °C.

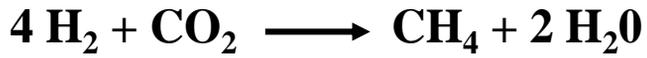
Pyrococcus

- Assez semblable à Thermococcus mais pousse à une °T plus élevée (entre 70 et 106 °C. Optimal: 100 °C).

Pyruvate → CO₂ + H₂ + acétate (chimioorganotrophe)

•Methanopyrus

- Hyperthermophile isolé de cheminées hydrothermales (fumeur noir).



- °T de croissance maximale = 110 °C et optimale = 100 °C.
- Produit du méthane à partir de l'H₂ et du CO₂.

7.2.2.4. Euryarchaeta hyperthermophiles: Archaeoglobales

- Archaeoglobus, Ferroglobus

Archaeoglobus = organisme sulfato-réducteur (SO_4^{2-} en H_2S).

Composé organique + SO_4^{2-} \longrightarrow H_2S + CO_2
(chimioorganotrophe)

- Isolé de sédiments marins à proximité de sources hydrothermales.
- A des propriétés communes avec les méthanogènes. Sont capable de produire de petites quantités de méthane.

Ferroglobus: n'est pas sulfato-réducteur malgré sa position très proche de Archaeoglobus

Chimiolitotrophe, oxyde le fer pour produire son énergie



Croissance optimale à 85 °C.

7.2.3. Crenarchaeota

- Vivent aux deux extrémités des conditions de °T: eau en ébullition et eau glacée.
- Toutes les espèces cultivées sont hyperthermophiles (> 80 °C)

7.2.3.1. Habitat et métabolisme énergétique

Deux environnements: **les solfatares et les sources hydrothermales**

	Zones thermales		Zones non thermales
Caractéristiques	Terrestre	Marines	
Localisation	Solfatares (sources chaudes, fumeroles, sources de boues, sols surchauffés) croûte terrestre profonde, installation de production géothermique	Sources thermales sous-marines, sédiments chauds, sources hydrothermales (fumeurs noirs), puits de pétrole profonds	Plancton de l'océan mondial, eaux antarctiques côtières et profondes, glace des mers, symbiotes d'éponges marines
Température	En surface, jusqu'à 100 °C. En subsurface au-delà de 100 °C	Jusqu'à 400 °C	De -2 à +4°C
Salinité/pH	Généralement moins de 1% de NaCl. pH de 0.5 à 9	Modérée, environ 3% de NaCl. pH de 5 à 9	De 3 à 8% de NaCl, pH de 7 à 9
Gaz et autres nutriments	CO ₂ , CO, CH ₄ , H ₂ , H ₂ S, S ₀ , S ₂ O ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , NH ₄ ⁺ , N ₂	Comme pour les espèces terrestres	Pour les chimio-litotrophes, substrats inorganiques tels que NH ₄ ⁺

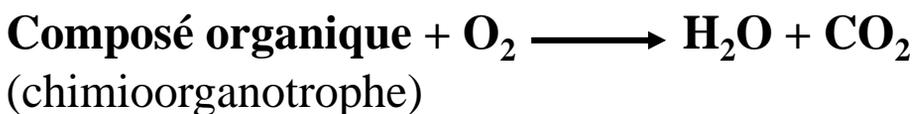
- Il existe également des **Crenarchaeota psychrophiles**
- Colonisent les eaux très froides et les glaces de mer (ex océan antarctique).
- Organismes planctoniques: concentration $> 10^4$ /ml dans des eaux très froides (2-4 °C dans eau de mer et moins de 0°C dans la glace de mer).

7.2.3.2. Hyperthermophiles des habitats volcaniques terrestres

- Sulfolobus, Acidianus, Thermoproteus, Pyrobaculum
- Les habitats volcaniques peuvent présenter des °T de 100 °C.
- Deux organismes s'y développent: Sulfolobus et Acidianus (ordre Sulfolobales)

Les Sulfolobales

Sources chaudes (°T $> 90^\circ\text{C}$) , acides (pH entre 1 et 5) et riches en soufre.



Peut aussi oxyder le Fe²⁺ en Fe³⁺ : application possible dans la lixiviation à haute °T des minerais de fer. 141

Les Thermoprotéales

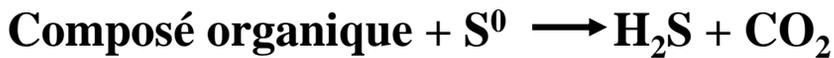
Thermoproteus, Thermophilum, Pyrobaculum

Thermoproteus, Thermophilum

Sources chaudes neutres ou légèrement acides

Anaérobies stricts. Sensibilité à l'O₂.

Chimioorganotrophe sur substrat carbonés complexes (amidon, glucose éthanol...).



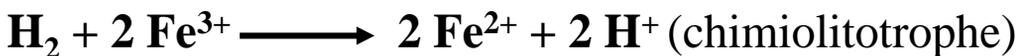
Chimio-litotrophes sur substrat H₂



Pyrobaculum

Hyperthermophile (°T optimale : 100°C)

Capables de respiration aérobie ou anaérobie (NO₃⁻, Fe³⁺ comme accepteur d'e⁻ et H₂ comme donneur d'e⁻).



7.2.3.3. Hyperthermophiles des habitats volcaniques sous-marins

Pyrodictium, *Pyrolobus*, *Ignicoccus*, *Staphylothermus*

Les plus thermophiles des Archae

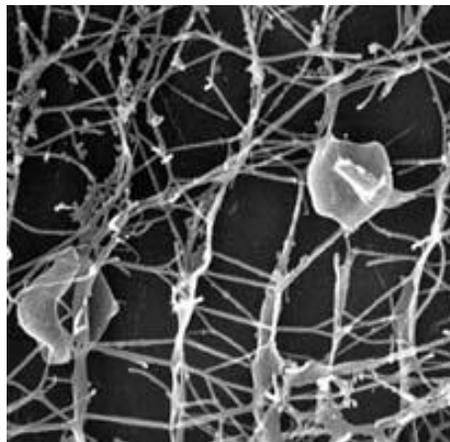
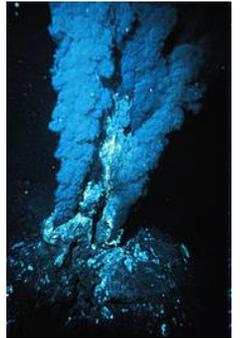
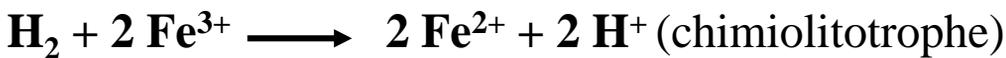
Sources thermales sous-marines côtières et sources hydrothermales océaniques profondes.

Pyrodictium

°T optimale: 105 °C

En forme de disque irrégulier. La biomasse se compose d'un réseau de fibres auxquelles sont attachées les cellules. Ces filaments n'ont pas de rôle dans la mobilité mais servent d'organe de fixation.

Anaérobie strict

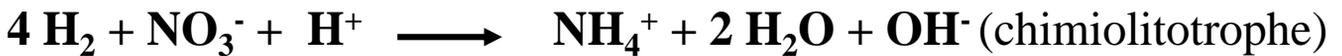


Pyrodictium archaee

Pyrolobus

Pyrolobus fumarii: le plus thermophile - °T max de croissance = 113°C. Isolée de fumeur noir.

Peut aussi résister à 121°C (autoclave) pendant une heure.



Desulfurococcus

Anaérobie strict sulfo-réducteur

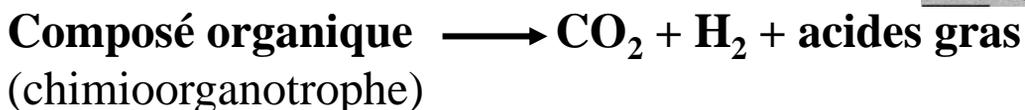
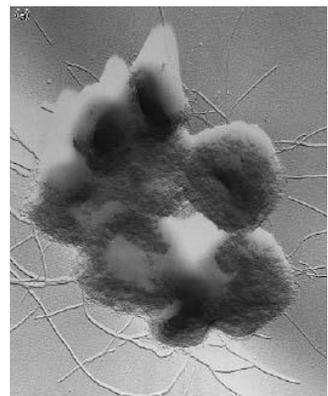
°T optimale de croissance: 85 °C.



Staphylothermus

Cellules sphériques assemblées par groupes de 100.

°T optimale de croissance: 92 °C



7.2.4. Nanoarchaeota

Petites cellules parasites

Le plus petit génome procaryote connu

7.2.4.1. Nanoarchaeum

Vivent comme parasites ou peut être symbiotes d'autres Archées (Ignicoccus).

Ne se multiplie que lorsqu'elles sont attachées à la surface des cellules d'Ignicoccus.

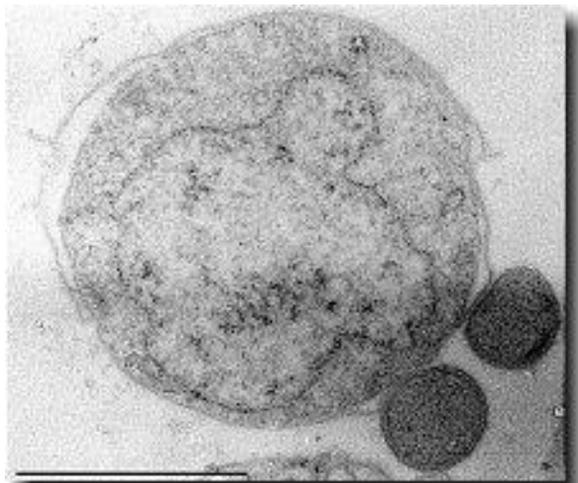
Ne peut se développer en culture que en présence d'Ignicoccus.

°T optimale de croissance: 90 °C.

Sources hydrothermales sous-marines et terrestres.

Cosmopolite dans les environnements chauds.

Métabolisme non connu!



7.2.5. L'évolution et la vie à haute température

7.2.5.1. Stabilité thermique des molécules biologiques

- La stabilité des protéines et de l'ADN est un point crucial de la survie à haute température.
- Protéines se dénaturent à haute °T !!!

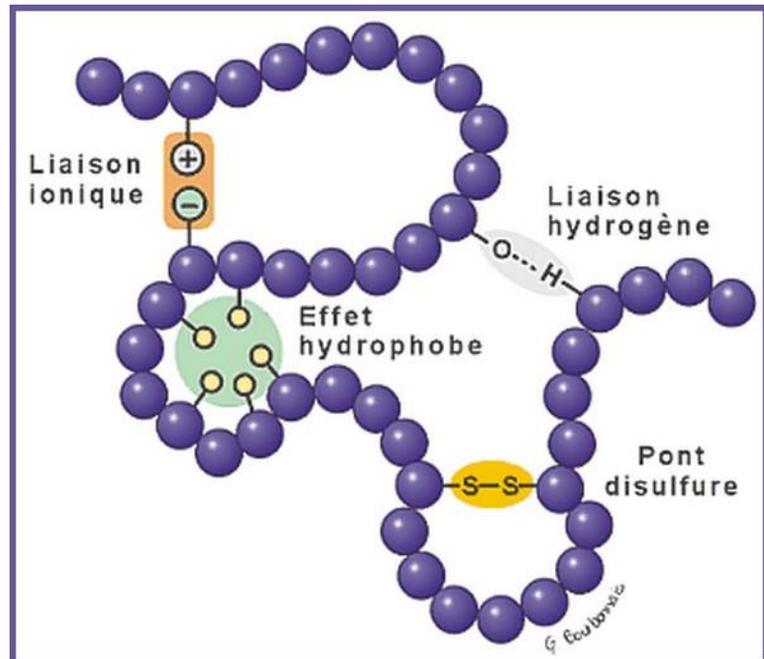
Stabilité des protéines à haute température

Repliement des protéines et thermostabilité

La composition en aa des protéines thermostables n'est pas inhabituelle

MAIS:

- Présence de centres très hydrophobes qui diminuent la tendance de la protéine à se déplier.
- Interactions ioniques plus nombreuses à la surface de la protéine – agissent contre le dépliement et maintiennent les protéines entre-elles.



Le REPLIEMENT de la protéine va la protéger de la chaleur

1. Les protéines chaperon: auxiliaires du maintien des protéines dans leur état natif

Chaperon = « protéine de choc thermique » qui intervient en repliant les protéines partiellement dénaturées.

Chez les hyperthermophiles, certaines protéines chaperones n'agissent qu'aux températures les plus élevées.

Ex: le **Thermosome** chez *Pyrodictium*.

A la °T optimale (105°C), beaucoup de thermosomes produits.

Si choc thermique (ex °T de 121°C), les cellules replacées ensuite en conditions de °T optimale (105°C) le thermosome permet de ramener dans leur état initial suffisamment de protéines dénaturées pour permettre aux cellules de croître et de se diviser à nouveau.

2. La stabilité de l'ADN à haute température

Mécanismes

1. Augmentation des composés cellulaire solubles (**soluté**)

1. Ex chez *Methanopyrus*, le cytoplasme contient du 2,3 diphosphoglycérate de potassium cyclique

Empêche les dépurinations et les dépyrimidinations

2. Présence de l'ADN **gyrase reverse**

Protéine uniquement présente chez les espèces thermophiles.

Pourrait être responsable de l'absence de dénaturation de l'ADN

Formation d'un surenroulement **positif** de l'ADN.

Attention: normalement surenroulement négatif dans les ADN gyrases présentes chez tous les procaryotes non-thermophiles.

Stabilise l'ADN vis-à-vis de la chaleur et empêche la dénaturation de la double hélice de l'ADN

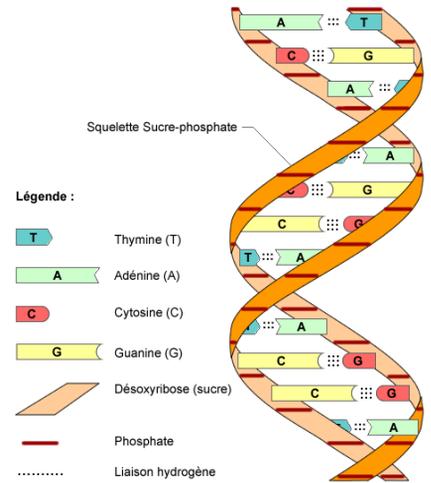
Note: ADN gyrase réverse est absente de tous les organismes dont la °T optimale de croissance est < 80°C.

3. Les protéines de liaison à l'ADN

La **protéine Sac7d** augmente l'intégrité de l'hélice de l'ADN.

Se fixe dans le petit sillon de l'ADN.

Peut ainsi augmenter la ΔT de dénaturation de 40°C.

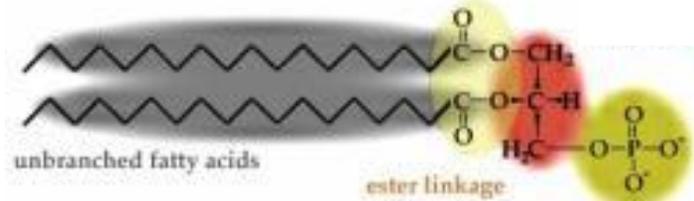


La stabilité des lipides à haute température

Archées



Bactéries

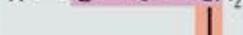
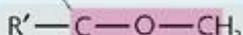


membranes d'Archées

membranes de Bactéries

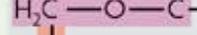
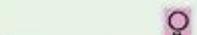
liaison ether

liaison ester



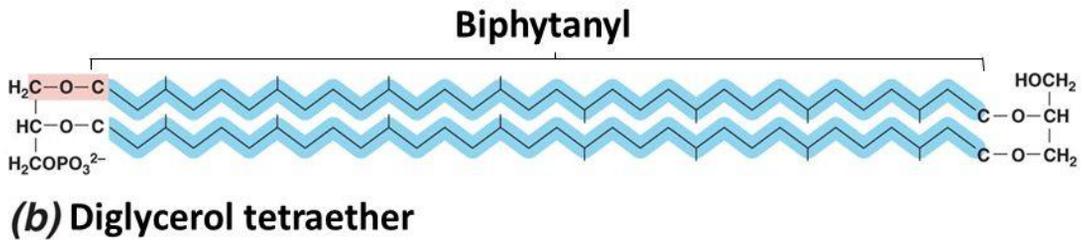
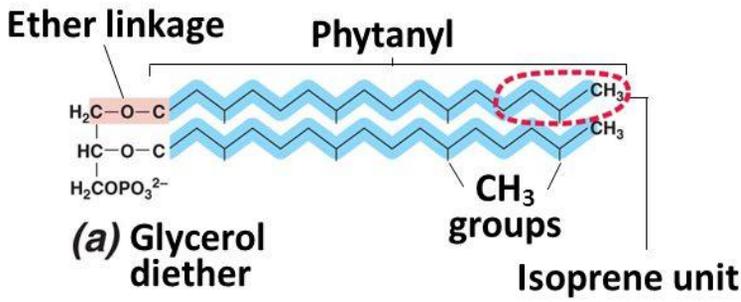
groupements polaires

2,3-sn-glycerol



1,2-sn-glycerol

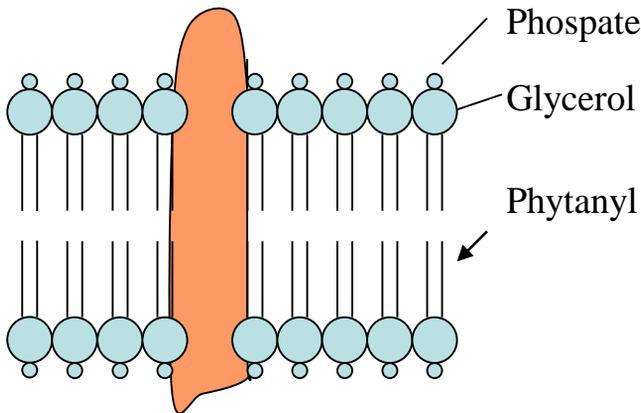
n-alkyles méthylés, insaturés et autrement modifiés



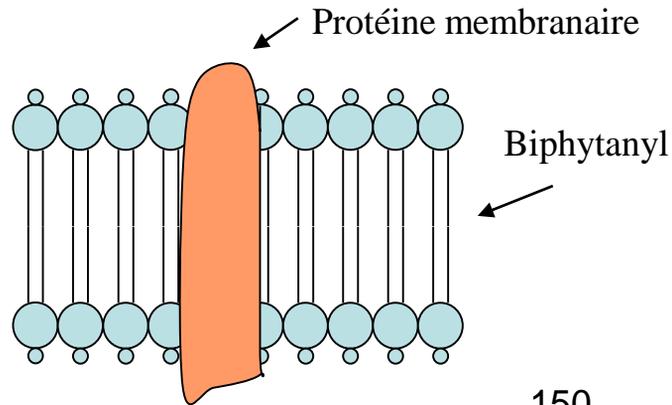
Copyright © 2009 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

Les Archae hyperthermophiles produisent des membranes construites sur le modèle tétraéther de biphytanyl

Naturellement résistants à la température du fait d'une liaison covalente entre les unités phytanyles. Formation d'une membrane monocouche.



Bicouche lipidique



Monocouche lipidique

La stabilité des monomères à haute température

ATP et NAD⁺ (molécules clés du métabolisme énergétique) détruites à 120°C (hydrolyse).

La demi-vie à cette température est de 30 min et décroît rapidement au-delà de 120°C.

La résistance de ces molécules dans le cytoplasme pourrait être accrue grâce à la présence de molécules inconnues à ce jour!

Température limite pour la présence de microorganismes

La vie nécessite de l'eau sous forme liquide.

Donc la vie au-delà de 100°C doit se faire dans des environnements sous pression (fonds des océans)!

Toutes les Archae hyperthermophiles capable de croître à des °T > 100°C vivent dans ces environnements surchauffés.

Jusqu'à quelle °T ces habitats peuvent abriter la vie?

Des expériences en labo sur la stabilité des molécules désigne la °T de 140-150 °C comme étant la °T max permettant la vie (comme nous la connaissons).

ATP détruit instantanément à 150°C. Donc si vie au-delà de 150°C, il faut une autre source d'énergie que l'ATP.

7.2.5.2. Archae hyperthermophiles, H₂ et évolution microbienne

Pourquoi existe-t-il autant d'Archae dans les environnements extrêmes?

Les Archae se retrouvent dans tous les environnements (également non-extrêmes).

Facteur commun aux Archae cultivés: adaptation aux extrêmes environnementaux.

Donc: tant que les autres ne peuvent pas se cultiver – la nature extrême comme facteur commun est questionnable.

Si c'était le cas, que peut-on conclure?

Terre primitive: différents types d'environnements extrêmes.

La terre sûrement plus chaude

Probablement favorable aux hyperthermophiles.

Les hyperthermophiles actuels sont-ils dès lors des vestiges d'une forme de vie primitive sur terre?

Les hyperthermophiles et leur horloge moléculaire lente

Le séquençage des gènes de l'ARN ribosomal (16S) suggère que les Archae hyperthermophiles ont une évolution plus lente que les autres organismes.

Idem pour les bactéries hyperthermophiles!

Les habitats chauds peuvent expliquer pourquoi l'horloge évolutive est lente chez les hyperthermophiles:

Dans un environnement extrême tout changement (séquence en aa) peut être létal car peut affecter la thermostabilité. Ceci n'est pas le cas pour les organismes qui ne vivent pas dans les environnements extrêmes.

Hypothèse: au-delà d'un certain point, la survie des hyperthermophiles ne pourrait pas être récupérable après des changements évolutifs additionnels, dans la mesure où toute tentative d'amélioration doit être accompagnée par la nécessité pour chaque molécule de maintenir sa thermostabilité.

L'hydrogène: une source d'énergie primitive

H₂ se rencontre fréquemment dans le métabolisme des hyperthermophiles.

Le métabolisme de H₂ est probablement un vestige des schémas métaboliques anciens. Ces schémas se seraient développés chez les organismes primitifs en raison de la disponibilité de H₂ et du fait que la catabolisme de H₂ est un processus simple.

Trois sources de production d'énergie connue:

1. photosynthèse:

le plus sensible à la chaleur

Probablement lié à l'instabilité des gros complexes multiprotéiques impliquées dans les phosphorylations.

2. chimio-organotrophie

A lieu jusqu'à au moins 110°C

Ex: *Pyrodictium occultum* capable de fermenter certains composés organiques

3. chimio-litotrophes

Au-delà de 110°C – Archae hydrogéo-oxydantes.

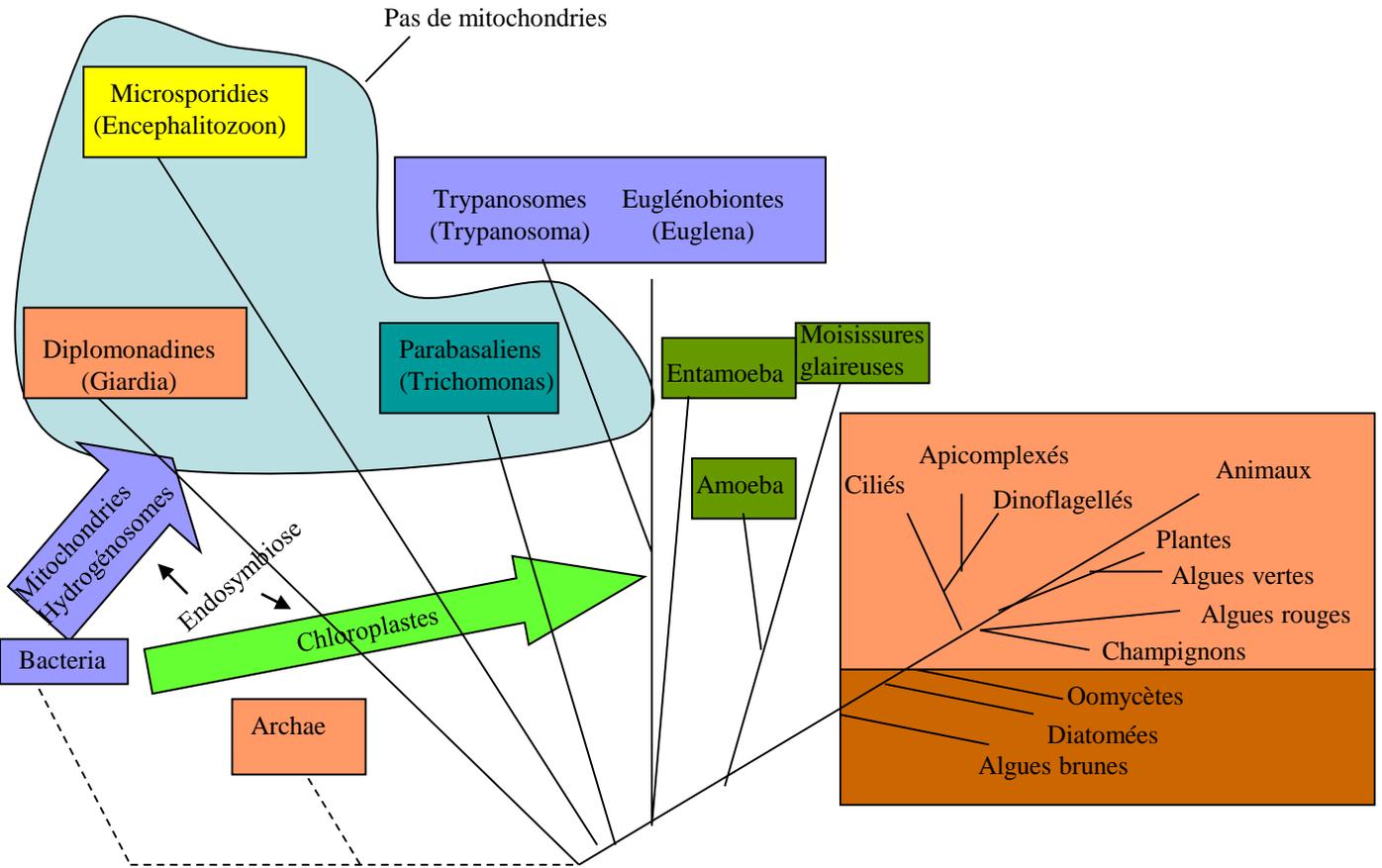
Ex : *Pyrolobus* ($4 \text{ H}_2 + \text{NO}_3^- + \text{H}^+ \longrightarrow \text{NH}_4^+ + 2 \text{ H}_2\text{O} + \text{OH}^-$)

Les sources hydrothermales océaniques (habitats des plus extrêmes des hyperthermophiles) **ont souvent été considérés comme des endroits où la vie aurait pu apparaître.**

Ces environnements renferment de grands quantités de H_2 !

Si hypothèse OK alors les hyperthermophiles hydrogéo-oxydants sont probablement les vestiges de la vie primitive de la terre. 154

8. La diversité des eucaryotes



Eukarya microbiens

Protozoaires

Moisissures glaireuses

Champignons

Algues

8.1. Phylogénie des Eukarya

Eukarya plus proche des Archae que des Bacteria

Phylogénie basée sur le séquençage de l'ARN ribosomique 18s
(petite sous-unité SSU)

Attention, il existe aussi une phylogénie basée sur des gènes de protéines qui profilent un arbre différent !

Pas de consensus actuel.

Présentation de l'arbre 18S pour être en accord avec les arbres des Procaryotes et Archae.

Cinq éléments introductifs:

1. Mitochondries et chloroplastes ont une origine chez les bactéries
2. Les Archae ressemblent plus au Eukarya que les bactéria
3. Animaux et plantes forment une couronne au sommet de l'arbre
4. Les algues sont dispersées dans l'arbre phylogénique
5. Les champignons : groupe plutôt récent.

Les Eucaryotes primitifs

L'arbre phylogénique montre un échelonnement depuis les « microbiens » les plus primitifs vers les espèces de la couronne.

Eucaryotes primitifs:

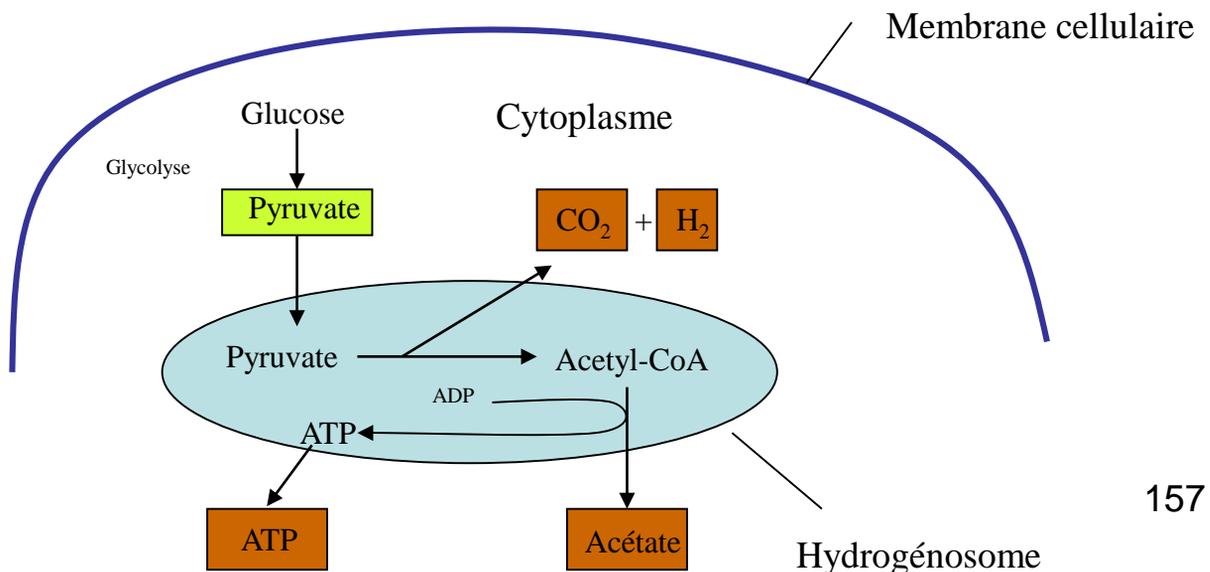
Diplomonadines (Giardia)
Microsporidies (Encephalotizoon)
Parabasiliens (Trichomonas)

Absence de mitochondries

Point commun : absence de mitochondrie!

D'autres (Trichomonas) possèdent des « hydrogénosomes »

Hydrogénosome = organelle d'origine endosymbiotique présente chez certains microorganismes eucaryotes qui sert à oxyder le Pyruvate en H_2 , CO_2 et Acétate avec production d'une molécule d'ATP.



ATTENTION:

Les analyses moléculaires montrent que les eucaryotes sans mitochondries ont des gènes d'origine bactérienne.

Ils sont analogues aux gènes mitochondriaux dans les eucaryotes aérobies actuels.

Hypothèse:

Les eucaryotes sans mitochondries ont hébergé à un moment donné des endosymbiotes dont ils se sont par la suite débarrassés!

AUTRE PREUVE:

Découverte de **mitosomes**: reliques de mitochondries.

Mitosomes pourraient être des mitochondries hautement dégénérées qui ne possèdent que quelques protéines utiles pour la génération d'énergie.

CONCLUSION: des organismes que l'on pensait être sans mitochondries ne l'on en fait jamais été !

Si de tels organismes existaient ils ne devraient posséder ni organelles ni preuve de l'existence de gènes dérivant de bactéries dans leur noyau.

Découvrir de telles cellules (si elles existent) est un défi! (environnements anoxiques modérément chauds – conditions de vie dans la terre primitive!

8.2. Protozoaires

Genres principaux: Amoeba, Paramecium, Trypanosoma...

Microorganismes unicellulaires, pas de paroi, généralement mobiles.

Très divers phylogéniquement et apparaissent dans plusieurs lignées

Habitats:

Eau douce et marines

Beaucoup sont parasites d'animaux et d'hommes

Certains se développent dans les sols ou habitats aériens (ex: surface des arbres).

Nutrition par phagocytose. Certains peuvent avaler des cellules bactériennes grâce à une structure le « cytostome ».

Organismes mobiles pour 'attraper' leur nourriture.

Mobilité = critère taxinomique

Mastigophora = flagelles

Sarcodina = mouvement amibien

Ciliophora = Cils

ATTENTION: Apicomplexa = non mobiles et tous parasites d'animaux supérieurs.

Mastigophora : les flagellés

Très grande diversité (dispersés sur l'ensemble de l'arbre phylogénique): Giardia, Euglènes, Dinoflagellés, Trypanosome, Trichomonas

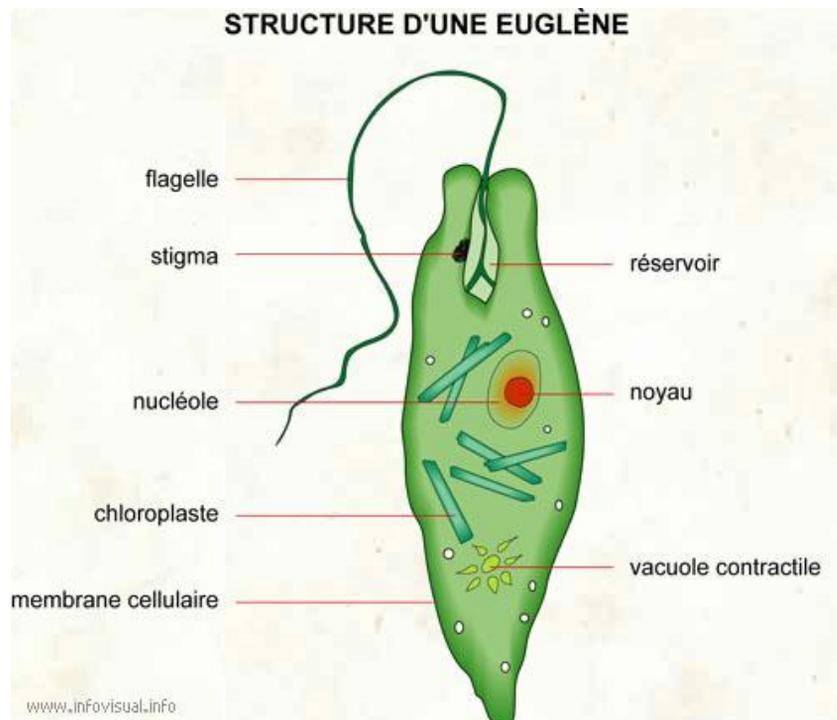
Certains sont libres dans le sol. D'autres sont parasites ou pathogènes d'animaux (et homme).

Pathogène le plus important: **Trypanosome**

T. Brucei : maladie du sommeil – maladie chronique et mortelle – transmis par la mouche tsé tsé.

Trichomonas: parasite de l'homme sexuellement transmissible.

Euglènes: flagellé – phototrophe – croissance photosynthétique – aquatiques vivant dans les eaux douces – ne sont pas pathogènes.



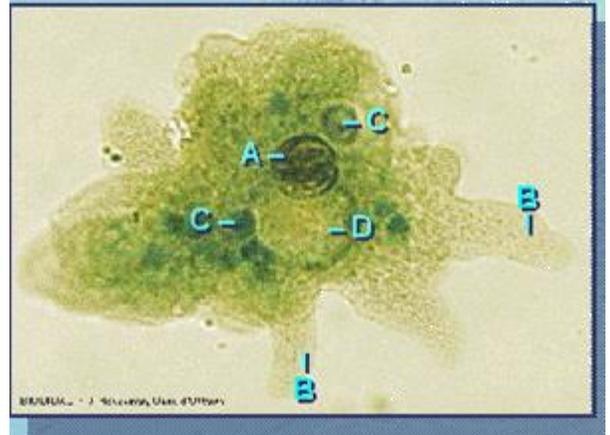
Sarcodina : les amibes

Amoeba et Foraminifères

Amoeba: absence de parois pendant croissance végétative

Organismes vivant en eau douce

- A-Noyau
- B-Pseudopodes
- C-Vacuoles alimentaires
- D-Vacuole pulsatile

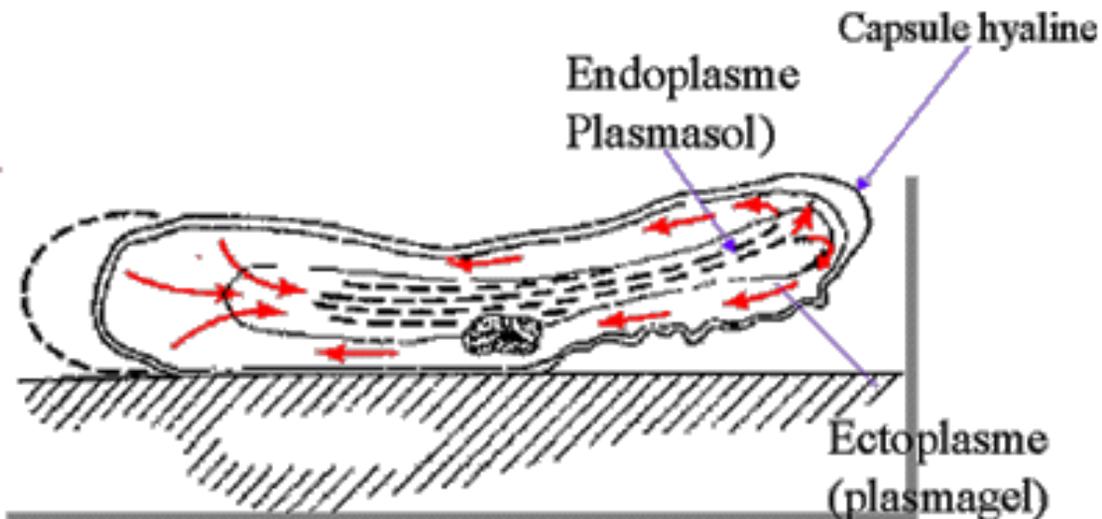


Amibes pathogènes:

Parasites de l'homme et autres vertébrés

Cavité buccale et intestin. Elles s'y déplacent par **mouvement amiboïde**.

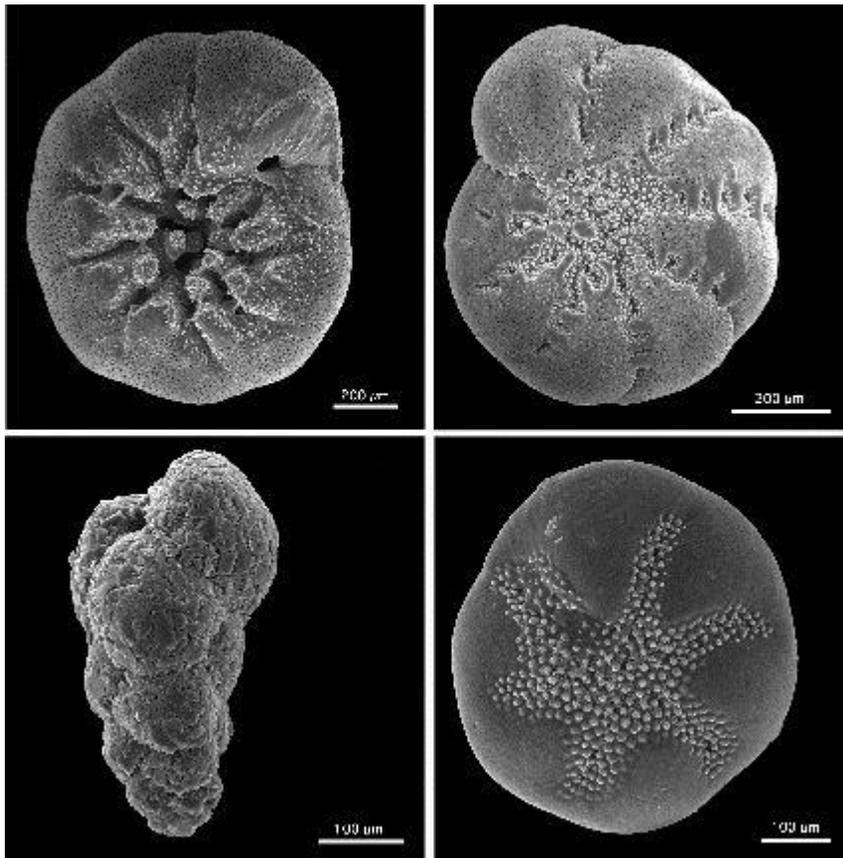
Contamination fécale, eau et nourriture



Foraminifères: secrètent une coquille (test) pendant leur croissance végétative

Organismes marins vivant dans les eaux côtières.

Tests (CaCO_3) résistants à la décomposition – facilement fossilisés



La cellule n'est pas fermement attachée au test. Elle peut donc s'étendre en partie en-dehors du test pour se nourrir.

Tests résistants à la décomposition: fossilisation (falaises de Douvre)

Ciliophora: les ciliés

Possèdent des cils pour se mouvoir

Présence de deux types de noyaux:

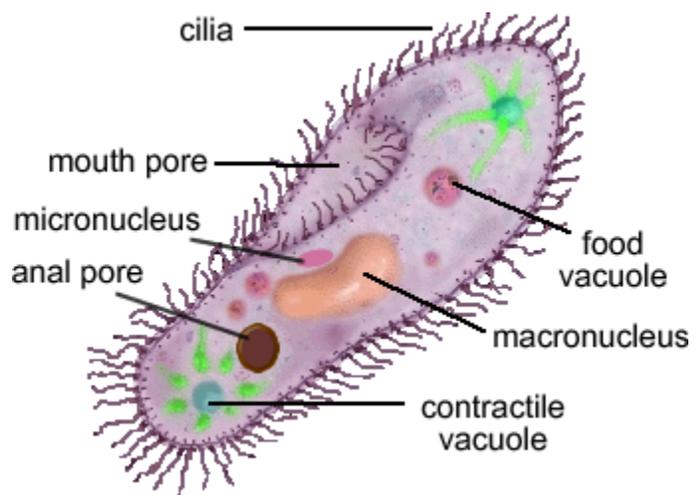
micronoyau – héritage génétique et fonction sexuelle

macronoyau – production d'ARN (transcription), croissance et fonctionnement cellulaire

Paramecium

Se nourrit par filtration de petites particules, bactéries et levures.

L'ingestion a lieu dans une zone spécialisée de la cellule appelée le cytostome (bouche de la cellule). Le matériel ingéré est inséré dans une vacuole alimentaire ou digestive. L'élimination des éléments non digestibles se fait dans une zone spécialisée: le cytoprocte

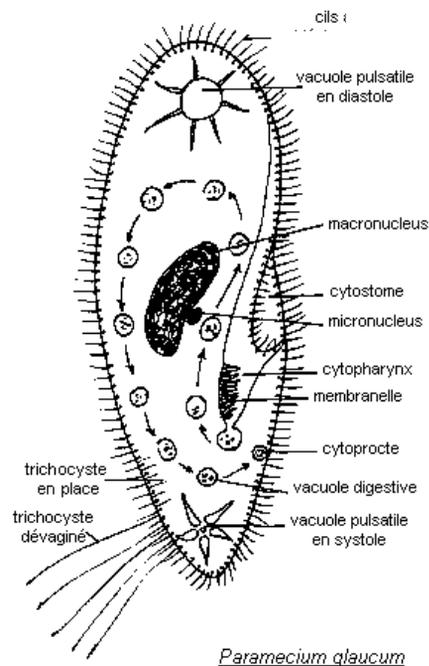


Présence de Trichocystes:

filaments longs et fins, contractiles, ancrées sous la surface de la cellule.

Permet à la cellule de s'attacher à une surface ou de participer à la défense de la cellule.

Chez les ciliés prédateurs, ils s'accrochent à la proie, la paralysent et l'ingèrent.



Beaucoup de Paramécies vivent en association avec des endosymbiotes. Rôle nutritionnel en synthétisant des vitamines et facteurs de croissance.

Se retrouvent dans la panse des bovins: digestion et fermentation

Quelques-uns sont parasites: intestin de l'homme (dysenterie).

Les apicomplexés (sporozoaires)

Grand groupe de protozoaires obligatoirement parasites

Responsables de la malaria (*Plasmodium*), toxoplasmose (*Toxoplasma*), coccidiose (*Eimeria*).

Pas de stade adulte mobile

Nutrition par absorption sous forme soluble à travers la membrane (idem champignons).

Forment des sporozoïtes: cellules qui infectent de nouveaux hôtes.

Contiennent un apicoplaste = chloroplaste dégénéré qui ne possède ni pigments ni d'activité photosynthétique. Mais à son propre génome et exprime quelques gènes.

8.3. Moisissures glaireuses

Ex: Dictyostelium, Physarum

Quatre groupes:

1. Plasmodial slime molds

1. moisissures glaireuses acellulaires – plasmodes
2. Myxomycetes (ex, Physarum)

2. Cellular slime molds

1. amibes isolées
2. Acrasiomycetes & dictyosteliomycetes (ex. Dictiostelium)

3. Slime nets

1. Labyrinthulomycetes (chromiste)

4. Parasitic slime molds

1. Plasmodiophoromycetes (chromiste)

Présentent des similitudes avec les champignons.

peuvent produire des spores

mais sont mobiles et se nourrissent par phagocytose

1. Moisissures glaireuses acellulaires

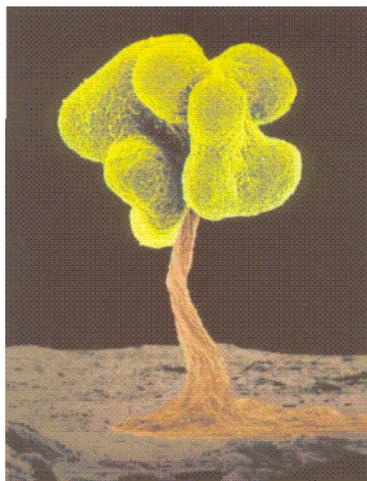
Masses protoplasmiques en expansion dont la taille est non définie.

Grande mobilité par mouvements amiboïdes.



Physarum polycephalum

L'organisme est diploïde. Le plasmode peut générer un sporangie où des spores haploïdes peuvent se former. Les spores germent et donnent naissance à de nombreuses cellules haploïdes qui peuvent fusionner et redonner un plasmode.



Sporangium of *Physarum polycephalum*

2. Moisissures glaireuses cellulaires

Dictyostelium discoideum utilisé comme modèle d'étude des communication intercellulaires et de coopération entre micro-organismes.

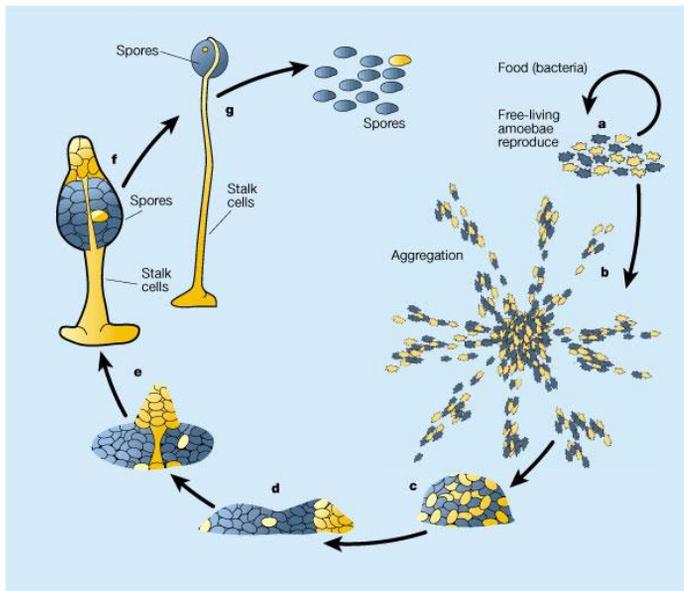
Cycle vital: (<https://www.youtube.com/watch?v=vjRPla0BONA>)

Cellules végétatives s'agrègent, migrent en une masse cellulaire , produisent des organes de fructification et redonnent des spores

En cas de carence nutritionnelle:

Cellules s'agrègent en pseudoplasmode (cellules perdent leur individualité mais ne fusionnent pas)

1. Les premières cellules deviennent des centres d'attraction pour les autres
2. Masse visqueuse en mouvement appelé 'limace' ou slug.
3. Après immobilisation de la limace, formation des fructifications (tige et tête).
4. A maturité les spores sont larguées et dispersées
5. Chaque spore donne une amibe végétative

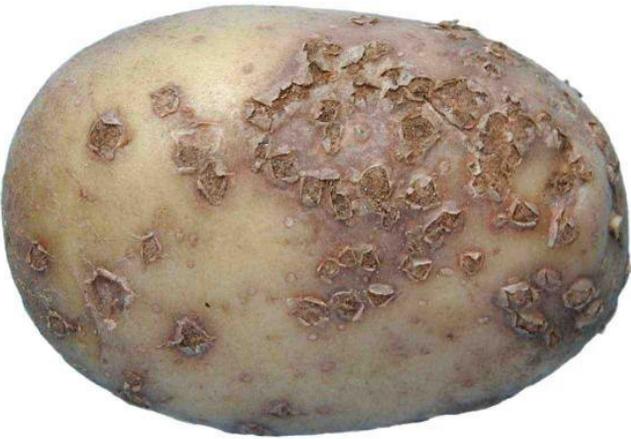


3. Moisissures glaireuses parasites



Plasmodiophora brassicae

(hernie du chou)

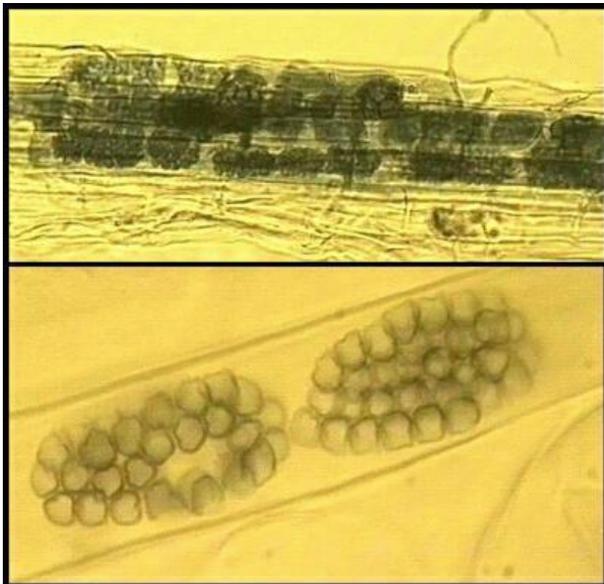


Spongospora subterranea

Gale poudreuse

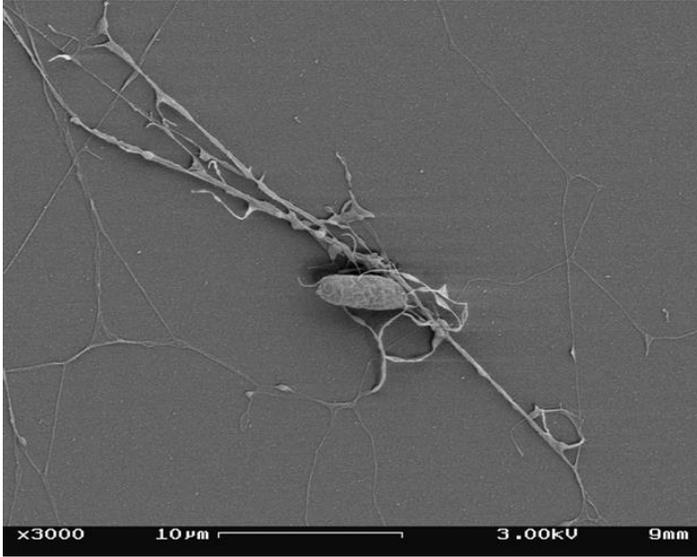
Polymyxa bettae

Rhizomanie de la betterave



4. Moisissures glaireuses en réseau

Slime net - Labyrinthulomycota



Aplanochytrium

8.4. Champignons

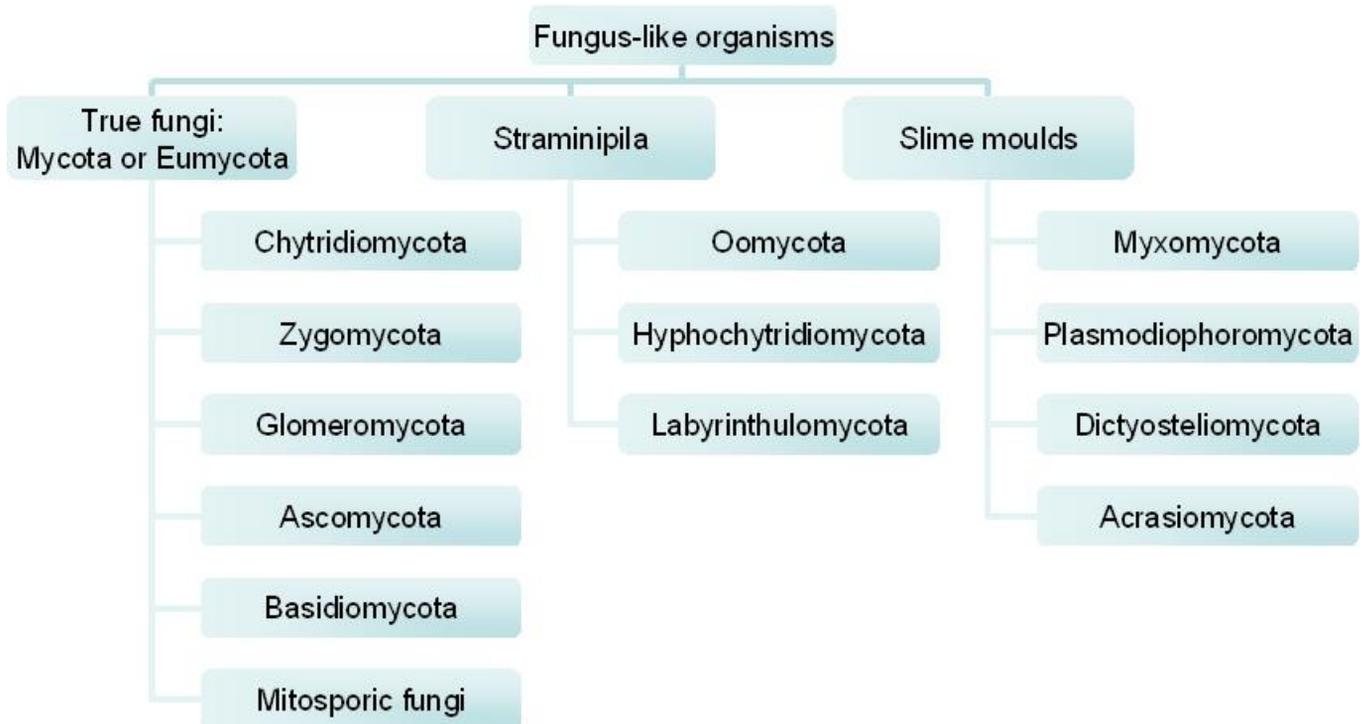
Présents dans tous les types d'environnement et jouent un rôle central dans beaucoup d'écosystème.

Participent à la dégradation de la matière organique dans les écosystèmes terrestres et aquatiques.

Rôle primordial dans les cycles biogéochimiques et les chaînes alimentaires. La décomposition de la matière organique végétale par les champignons est une étape essentielle du cycle du carbone.

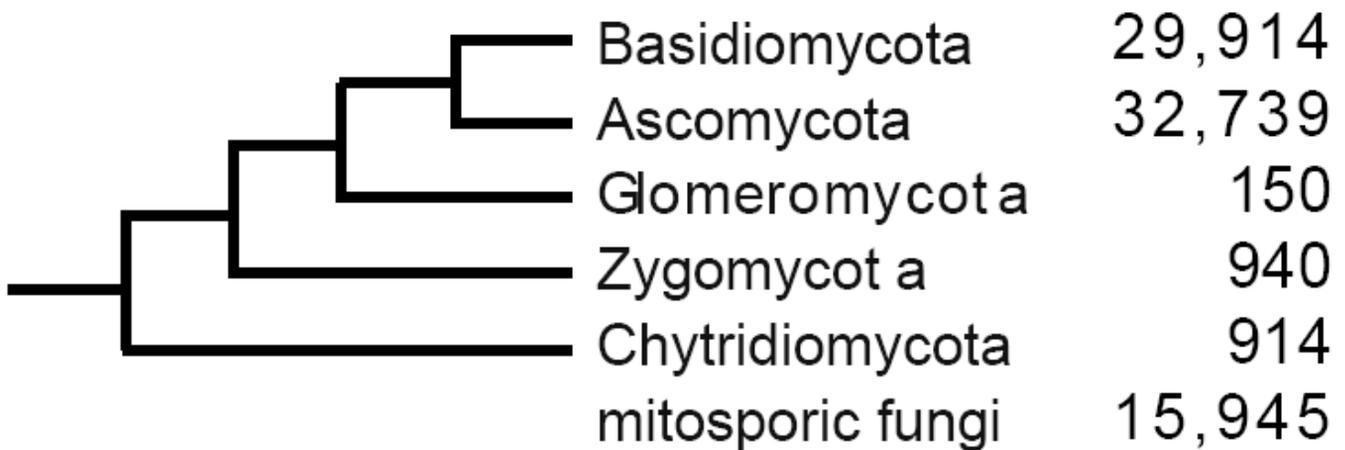
Mode de vie : symbiose, saprophytisme ou parasitisme.

Classification actuelle (cinq divisions ou embranchements) :



Nombre d'espèces connues

- 80602 en 2001 – Dictionary of fungi, 9th Edition
- 120 000 – 150 000 – aujourd'hui



- Nombre estimé d'espèces: 1.5 millions (Hawksworth, 2001)
- 5% connus à l'heure actuelle.

Où sont les champignons manquants ?

- Régions inexplorées du monde – principalement les tropiques.
- Les champignons microscopiques dans les micro-habitats.
 - Rumen des animaux
 - Sols
 - Feuilles et racines (endophytes).
- Champignons énigmatiques pour lesquels pas de fructification détectée et absence de croissance sur milieu standard.

- **Nutrition**

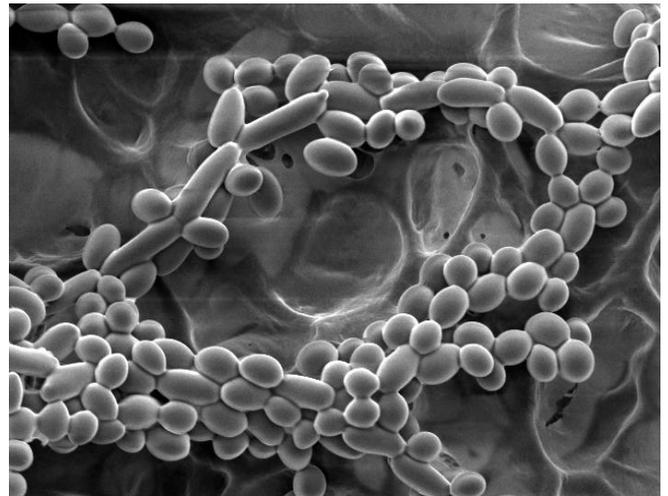
- hétérotrophes, non photosynthétiques, absorbotrophes

- Pas de synthèse de carbone organique
 - Assimilation matières organiques par absorption (absorbotrophes)
 - morte : saprophytisme
 - vivante : symbiotisme ou parasitisme

- **Appareil végétatif = thalle**

- **Thalle levuriforme** (levures)

- . Unicellulaire
 - . Rond, ovoïde (4-6 x 6-8 μm)
 - . Division par bourgeonnement



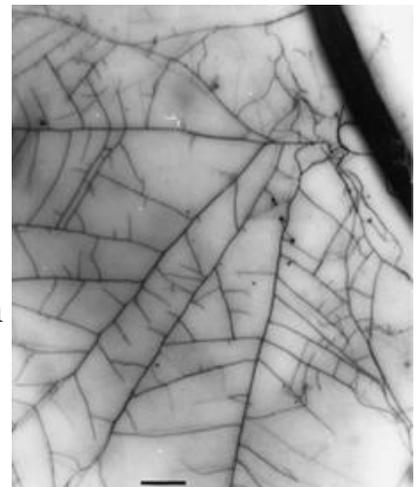
- **Thalle filamenteux**

- Non-septé = siphonné



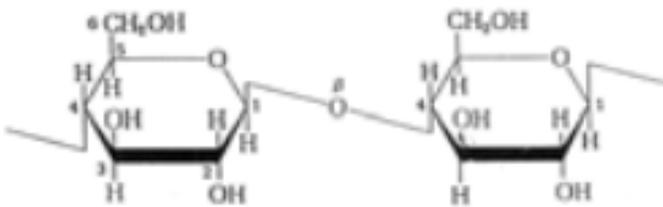
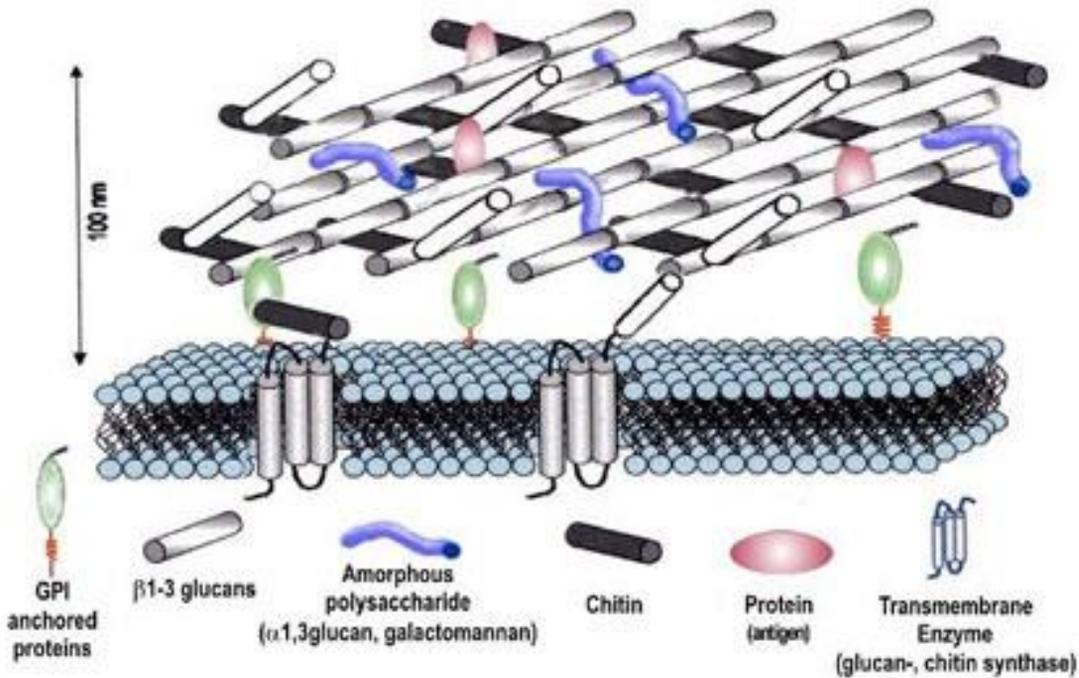
- Septé = articulé

- Pluricellulaire
 - De qq. mm à plusieurs m
 - Élongation par l'apex

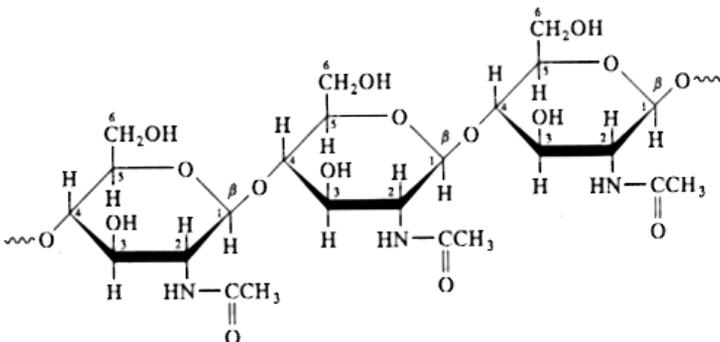


- **Paroi cellulaire**

- Contient de la chitine, (cellulose chez les Oomycètes), polysaccharides et protéines



Cellulose :
Liaisons β 1-4 de glucose
Spécifique des végétaux



Chitine :
Liaisons β 1-4 de glucosamine
Spécifique des champignons

- **Etat nucléaire**

- Eucaryotique

- Multinuclée (homo-hétérocaryotique) ou uninuclée

- **Homocaryotique** = cellule ayant des noyaux génétiquement identiques (exemple dans une lignée).

- **Heterocaryotique** = cellule ayant deux ou plusieurs noyaux légèrement différents génétiquement (peut être le résultat d'une anastomose)

- Haploïde, dicaryotique ou diploïde

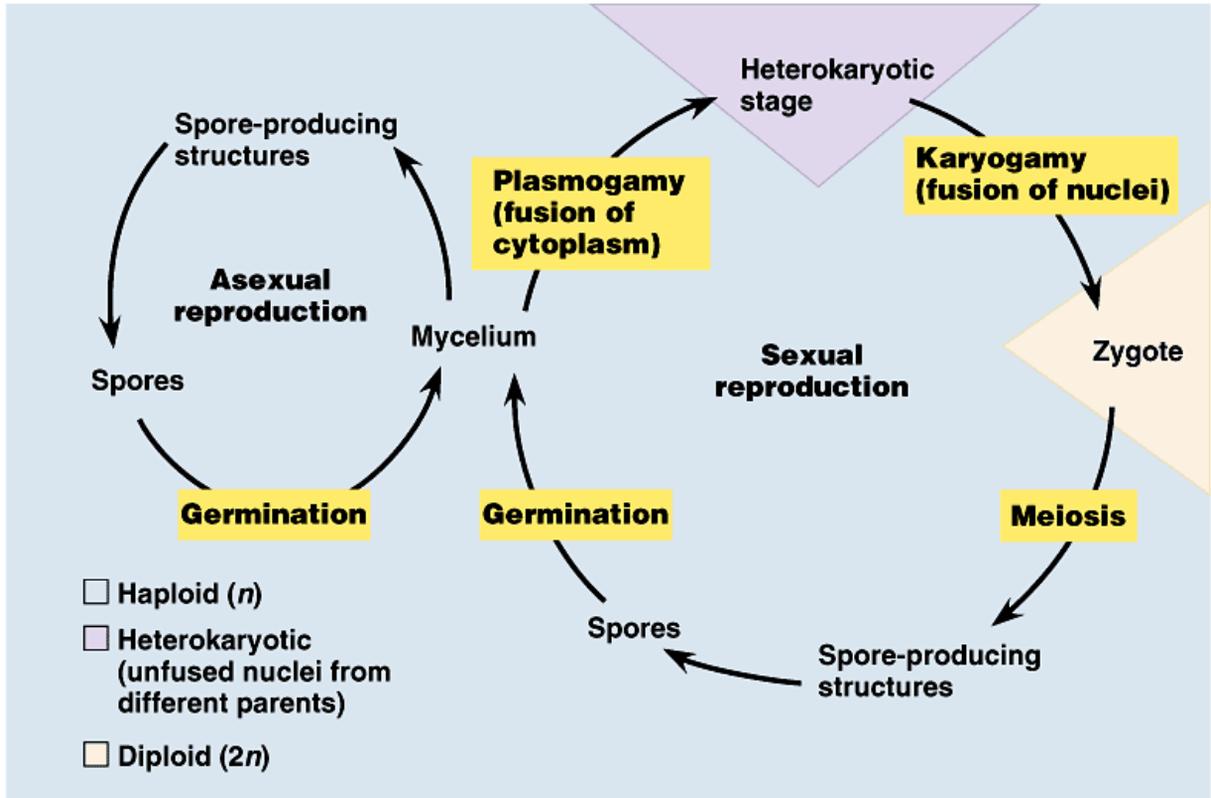
- **Haploïde** (du grec *aploos*, simple et *eidos*, en forme de) = une cellule qui contient des chromosomes chacun en un seul exemplaire (n chromosomes) – (1n)

- **Dicaryotique** = une cellule qui contient deux noyaux haploïdes génétiquement différents – (n + n).

- **Diploïde** (du grec *diploos*, double et *eidos*, en forme de) = une cellule qui contient des chromosomes par paires (2n chromosomes) – (2n).

- **Cycle de vie**

- Simple à complexe avec alternance de phase haploïde et diploïde si la méiose (sexualité) est connue.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Anamorphe = forme asexuée de fructification – stade asexué

Mitospore = spore formée au cours de la reproduction asexuée (mitose) – conidie & sporangiospore

Téléomorphe : forme sexuée de fructification – stade sexué

Meiospore = spore formée au cours de la reproduction sexuée (meiose) – type de spore varie suivant le Phylum

Holomorphe = champignon entier

- **Mode de vie**

Saprophyte

- se développent sur la matière organique qu'ils décomposent
- remettent à la disposition des autres organismes des éléments minéraux essentiels de nouveau assimilables (N, P, C...).

Parasites

- Se développent dans les cellules vivantes et peuvent aller jusqu'à tuer celles-ci.
- Souvent pathogènes, provoquent des maladies, entraînent la mort
 - Anthracoses, mildiou, oïdium chez les végétaux
 - Mycoses chez l'homme et les animaux
 - Candidoses, aspergilloses, teigne, pneumonie...

Symbiotiques

- Mycorhize
 - association entre le mycelium d'un champignon du sol et le système racinaire d'une plante.
- Lichen
 - associations de champignons (essentiellement des Ascomycetes et de cyanobactéries ou d'algues vertes.
- Symbiose avec des animaux
 - les champignons aident ainsi les termites à digérer la cellulose.

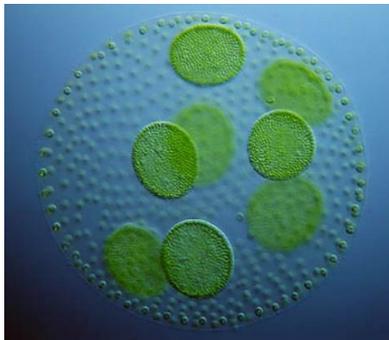
8.5. Algues

- Principaux genres: Chlamydomonas, Euglena, Gonyaulax, diatomées
- Groupe d'eucaryotes qui contiennent de la chlorophylle et (pour certains) des pigments
- Photosynthèse oxygénique
- La plupart sont microscopiques – certaines sont pluricellulaires et macroscopiques ex: laminaires – 30 m de long.
- Groupe phylogénique hétérogène: algues vertes et rouges proches des plantes. Algues brunes, diatomées; Dinoflagellés, et Euglènes plus éloignées.

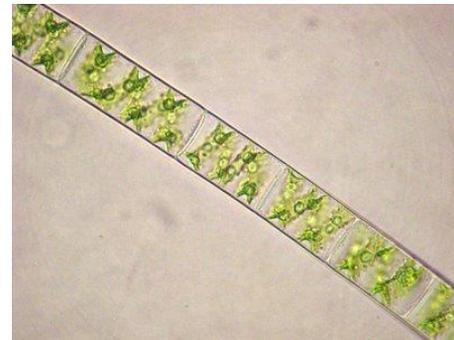
Diversité des algues:



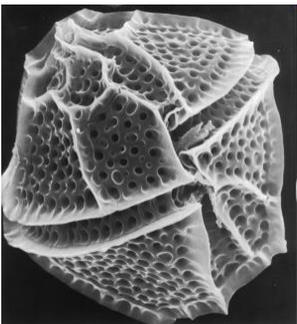
Chlorella



Colonie de Volvox



Spirogyra



Gonyaulax



Diatomées



Euglènes

- **Algues brunes:** chlorophylle a et c et xanthophylles
- **Algues rouges:** chlorophylle a et d et contiennent des phycobiliprotéines (pigment collecteur de lumière chez les cyanobactéries)
- **Algues vertes:** chlorophylle a et b mais pas de phycobiliprotéines

Dinoflagellés = algues flagellées marines proche des protozoaires

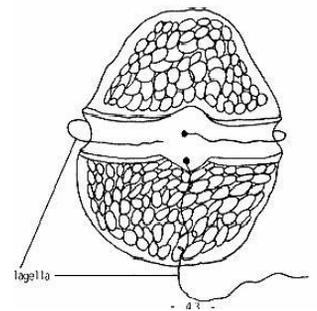
Peuvent être libre ou symbiotiques avec les animaux dans les récifs coralliens

Les Dinoflagellés peuvent être toxiques.

Gonyaulax

Peuvent former des concentrations très denses appelées efflorescences (blooms) couleur rouge (xanthophylles)

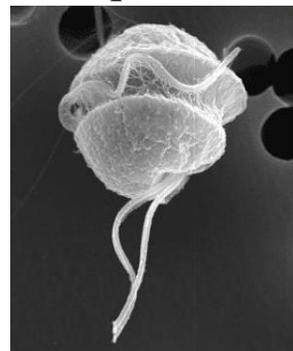
Ces efflorescences = ‘marées rouges’ = associées à une forte mortalité des poissons et des empoisonnements. Chez l’homme (coquillages). Intoxication due à un neurotoxique.



Pfiesteria

Spores toxiques infectent les poissons – neurotoxique

En 1991: plus d’1 milliard de poissons tués par ce dinoflagellé en Caroline du nord.



Pigments, métabolisme énergétique et polymères de réserve

Classification des algues basées sur plusieurs critères:

1. Nature des chlorophylles et pigments
2. Forme de stockage du carbone
3. Structure de la paroi
4. La motilité

Propriété des principaux groupes d'algues							
Groupe	Nom commun	Morphologie	Pigments spécifiques	Genre représentatifs	Forme de stockage du C	Paroi	Habitat
Chlorophyta	Algues vertes	Unicellulaires filamenteuses	Chl a et b	Chlamydomonas	Amidon, sucrose	cellulose	Eaux douces et parfois de mer, sols
Euglenophyta	Euglènes	Unicellulaires flagellés	Chl a et b	Euglena	Paramylon	Pas de paroi	Eaux douces et parfois de mer
Dinoflagellata	Dinoflagellés	Unicellulaires flagellés	Chl a et c, xanthophylles	Gonyaulax, Pfiesteria	Amidon	cellulose	Principalement marin
Bacillariophyta	Diatomées	unicellulaires	Chl a et c, xanthophylles	Nitzschia	Lipides	Deux parties en Si se recouvrant	Eaux douces et de mer, sols
Phaeophyta	Algues brunes	Filamenteuse, parfois massives et ressemblant à des plantes	Chl a et c, xanthophylles	Laminaria	Laminarine	cellulose	Eau de mer
Rhodophyta	Algues rouges	Unicellulaire, filamenteuse	Chl a et d, phycocyanine, phycoérythrine	Polysiphonia	Amidon floridéen	cellulose	Eau de mer

Paroi des algues

Grande diversité dans la structure et chimie des parois

Généralement réseau de fibres de cellulose mais d'autres polysaccharides sont aussi présents (pectine, xylandes, mannanes, alginates, fucanes)

Chez certaines algues, la paroi est renforcée par la déposition de CaCO_3 (= algues calcaires ou coralligènes)

Chez les Euglènes: pas de paroi

Diatomée: paroi composée de silice + protéines et polysaccharides

La motilité des algues

De nombreuses algues sont mobiles (flagelles)

Pas de cils chez les algues

Un seul flagelle (Euglena), 2 ou 4 flagelles (Chlorophyta)

Dinoflagellés: 2 flagelles de longueur différente

Diatomées se déplacent par glissement

Ecologie des algues et communautés algales endolithes

Algues très nombreuses dans les habitats aquatiques (eaux douces et marines)

Algues communes dans la plupart des sols

Quelques algues dans les sols secs (arides)

Souvent les seuls phototrophes dans les habitats extrêmement acides (pH < 4).

Certaines algues colonisent l'intérieur des rochers (endolithes) – environnements secs (déserts) ou froid et sec (Antarctique)

Roches chauffées par le soleil et l'eau issue de la fonte peut être stockée pendant un certain temps.

Communautés endolithes peuvent être formées par cyanobactéries et algues vertes.

PARTIE II

Méthodes d'étude des microorganismes

9. Méthodes en écologie microbienne

9.1. analyse des communautés microbiennes par les méthodes de culture

Un environnement = généralement plusieurs types de microorganismes

Il faut isoler et caractériser pour étudier les communautés

A. Enrichissement et isolement

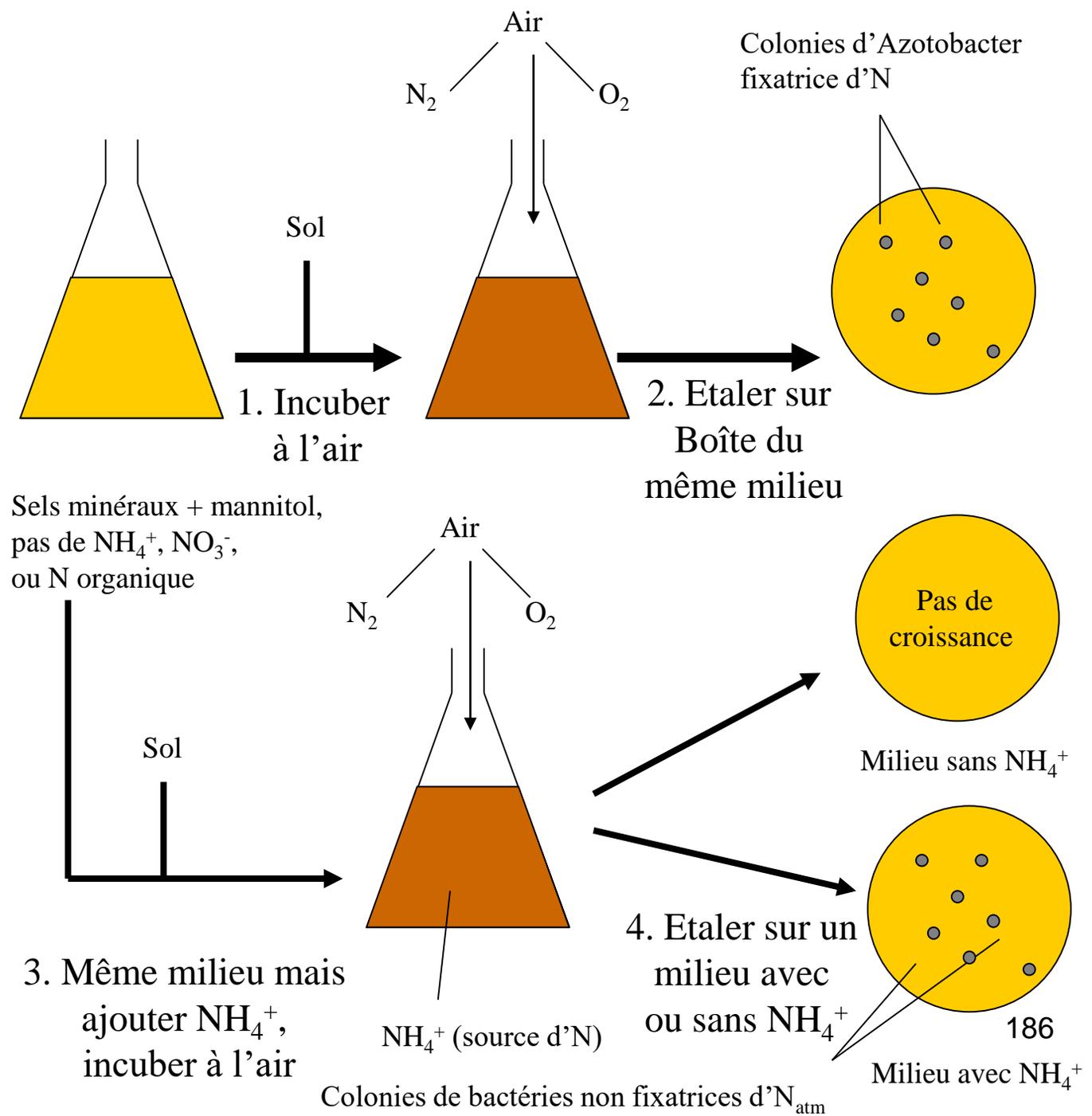
Pour isoler un microorganisme spécifique on réalise une culture d'enrichissement

= reproduire le plus fidèlement possible les ressources et conditions physico-chimiques d'une niche écologique pour isoler l'organisme recherché et exclure les autres.

Méthode:

Disposé de l'échantillon d'un habitat approprié (= inoculum) et l'incuber dans de bonnes conditions

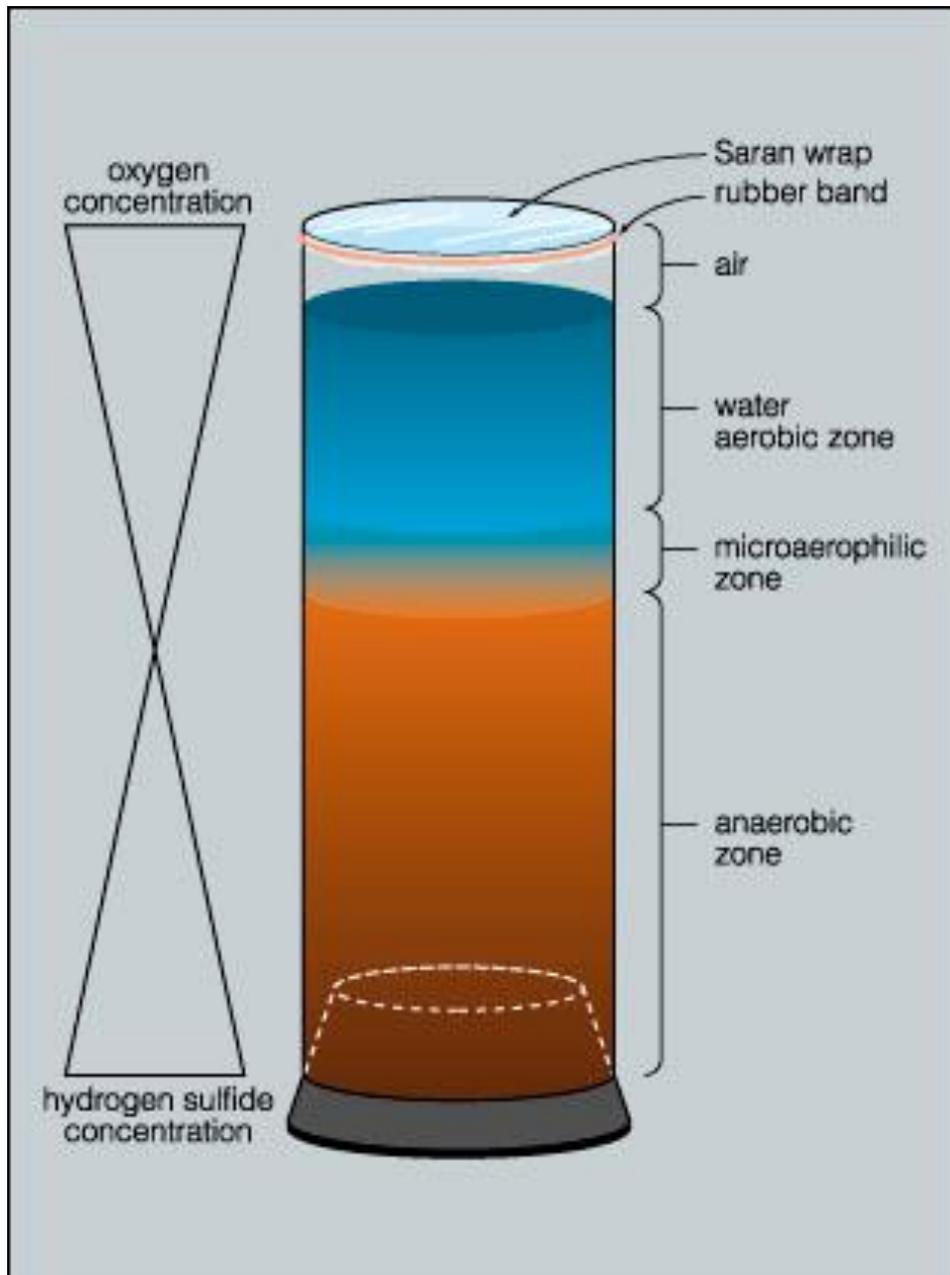
Beijerinck a ainsi isolé Azotobacter (bactérie fixatrice d'azote).



La colonne de Winogradsky

= écosystème anoxique miniature

Utilisée pour isoler des bactéries phototrophes vertes, pourpres, des bactéries sulfato-réductrices et de nombreuses autres anaérobies.



Le biais des cultures d'enrichissement

Il se peut que l'organisme qui se développe le mieux dans la culture d'enrichissement ne soit qu'un composant mineur de l'écosystème et non pas l'organisme le plus abondant et significatif du point de vue écologique.

Démonstration par l'utilisation de la méthode de dilution.

Dilution suivie d'enrichissement donne souvent des résultats différents de l'enrichissement seul.

La dilution élimine probablement les organismes à croissance rapide permettant ainsi aux autres de se développer.

B. Isolement en culture pure

Culture pure = un seul microorganisme

A partir de culture d'enrichissement --- étalement sur boîte

Méthode de dilution: succession de repiquages et d'étalement d'une colonie bien individualisée des autres permet d'obtenir une culture pure.



Gélose molle et nombre le plus probable

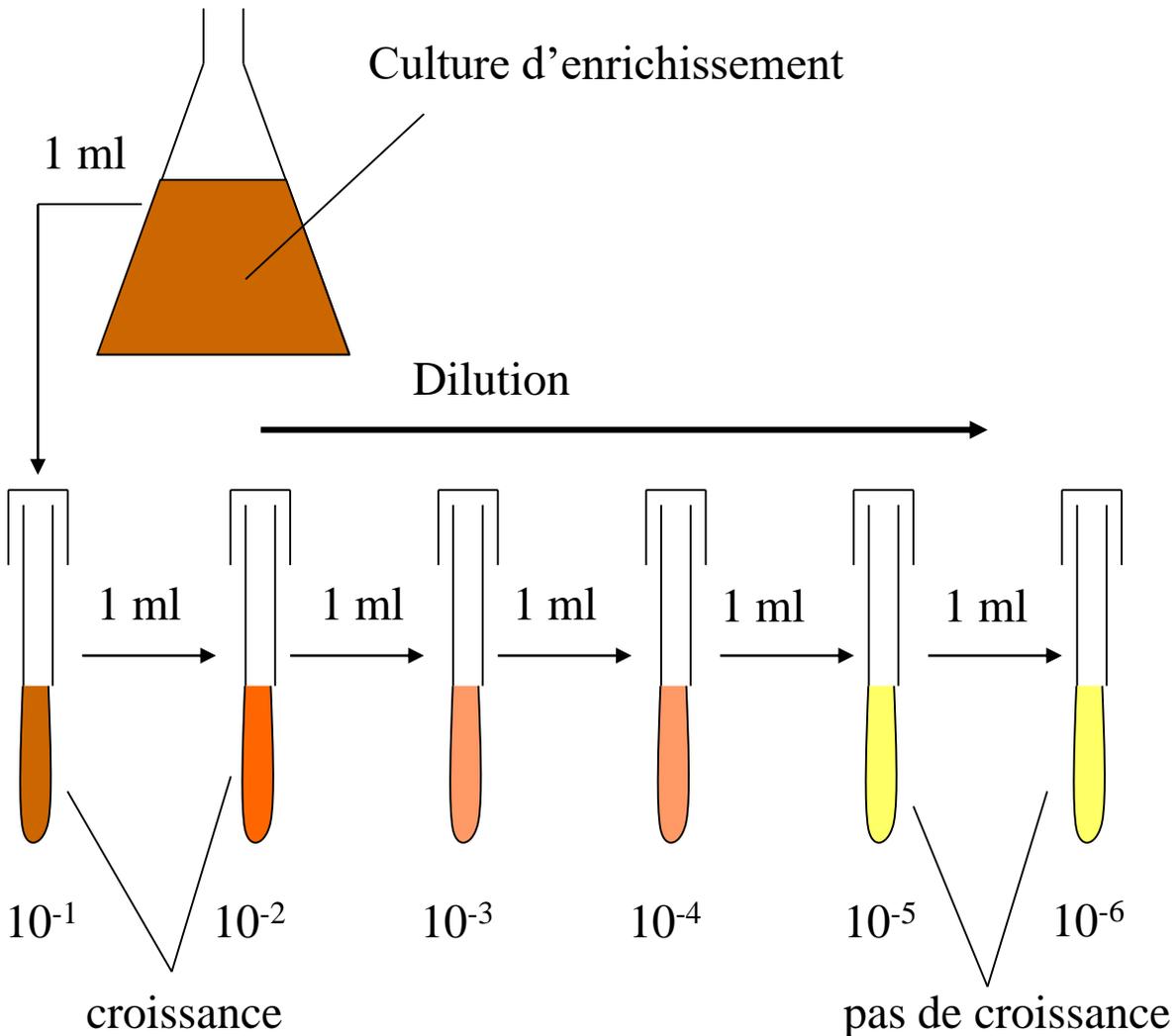
Consiste à diluer une culture mixte dans un tube avec de l'agar mou.

Les colonies sont incluses dans l'agar (pas en surface)

Utile pour la sélection des bactéries anaérobies (ex. phototrophes sulfureuses ou bactéries sulfato-réductrices de la colonne de Winogradsky)

Puis dilutions successives --- culture pure

Méthode du Nombre le Plus Probable



9.2. Analyse des communautés microbiennes par les méthodes moléculaires

L'écologie microbienne doit souvent quantifier les cellules dans un habitat afin de savoir quels organismes sont présents et en quelle quantité.

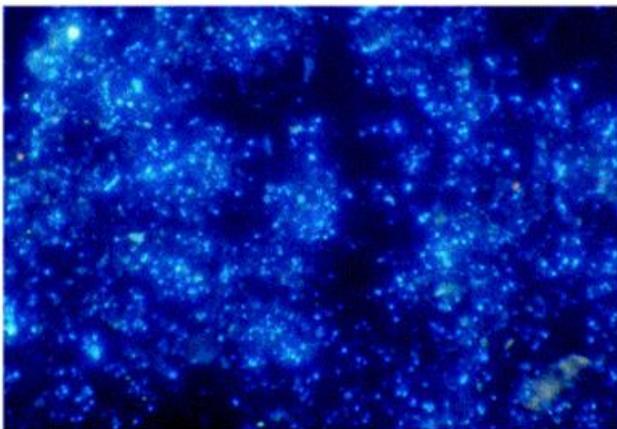
Deux techniques:

Coloration des cellules
Méthodes génétique

Techniques de coloration pour la viabilité et la quantification

1. La coloration fluorescente au DAPI

- DAPI = 4',6-diaminodo2-phénylindole
- Colore les acides nucléiques.
- Les cellules fluorescent en bleu clair
- Employé pour dénombrer les cellules dans l'environnement, les aliments, les échantillons cliniques.
- Limitations: (1) non-spécifiques, (2) ne distinguent pas cellules vivantes de mortes



Coloration DAPI de cellules D'*E. coli*

2. La coloration vitale

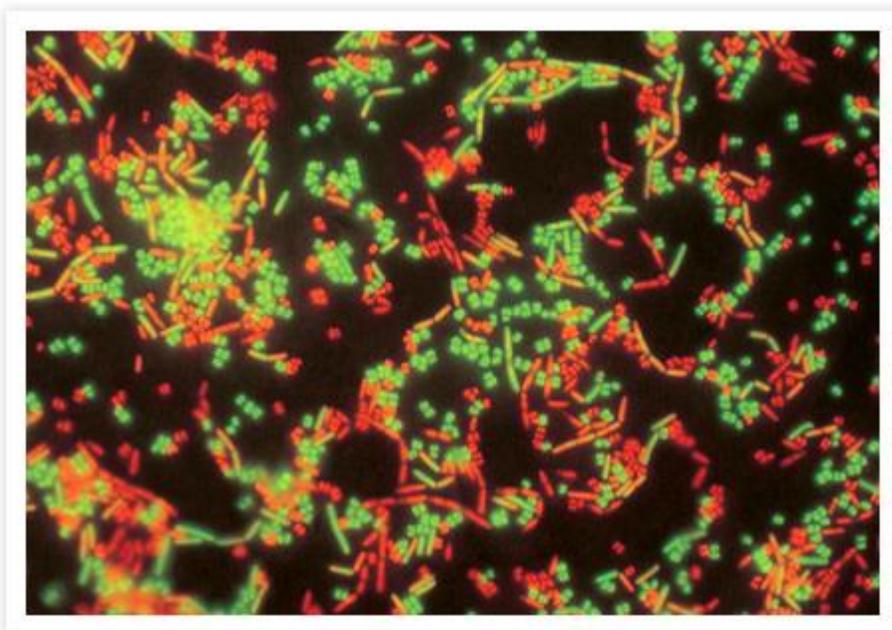
- Permet de distinguer cellules vivantes de mortes
- Informe sur nombre de cellules et sur leur viabilité

Principe: repose sur l'intégrité de la membrane cytoplasmique

- Deux colorants: vert et rouge ajoutés à l'échantillon
- Vert pénètre toutes les cellules (vivantes et mortes)
- Rouge (iodure de propinium) pénètre uniquement les cellules mortes (endommagées)

Cellules vertes = vivantes

Cellules rouges = mortes

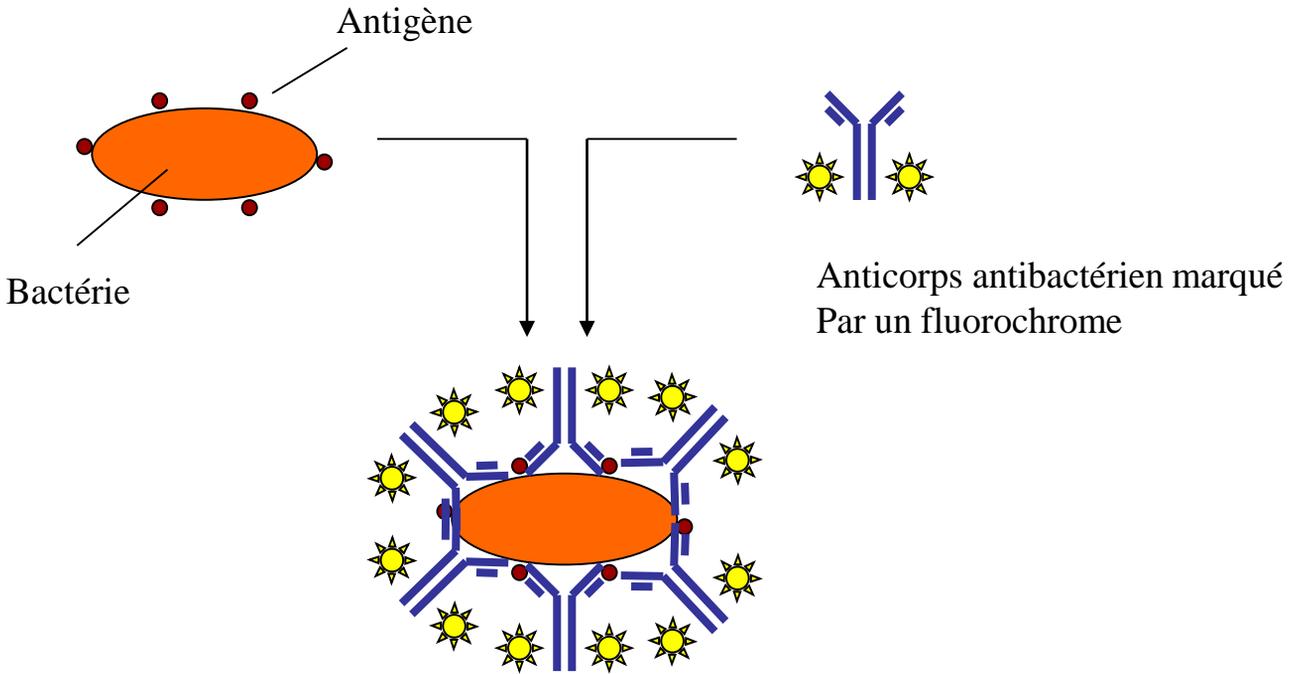


Micrococcus luteus coques et *Bacillus cereus* bâtonnets

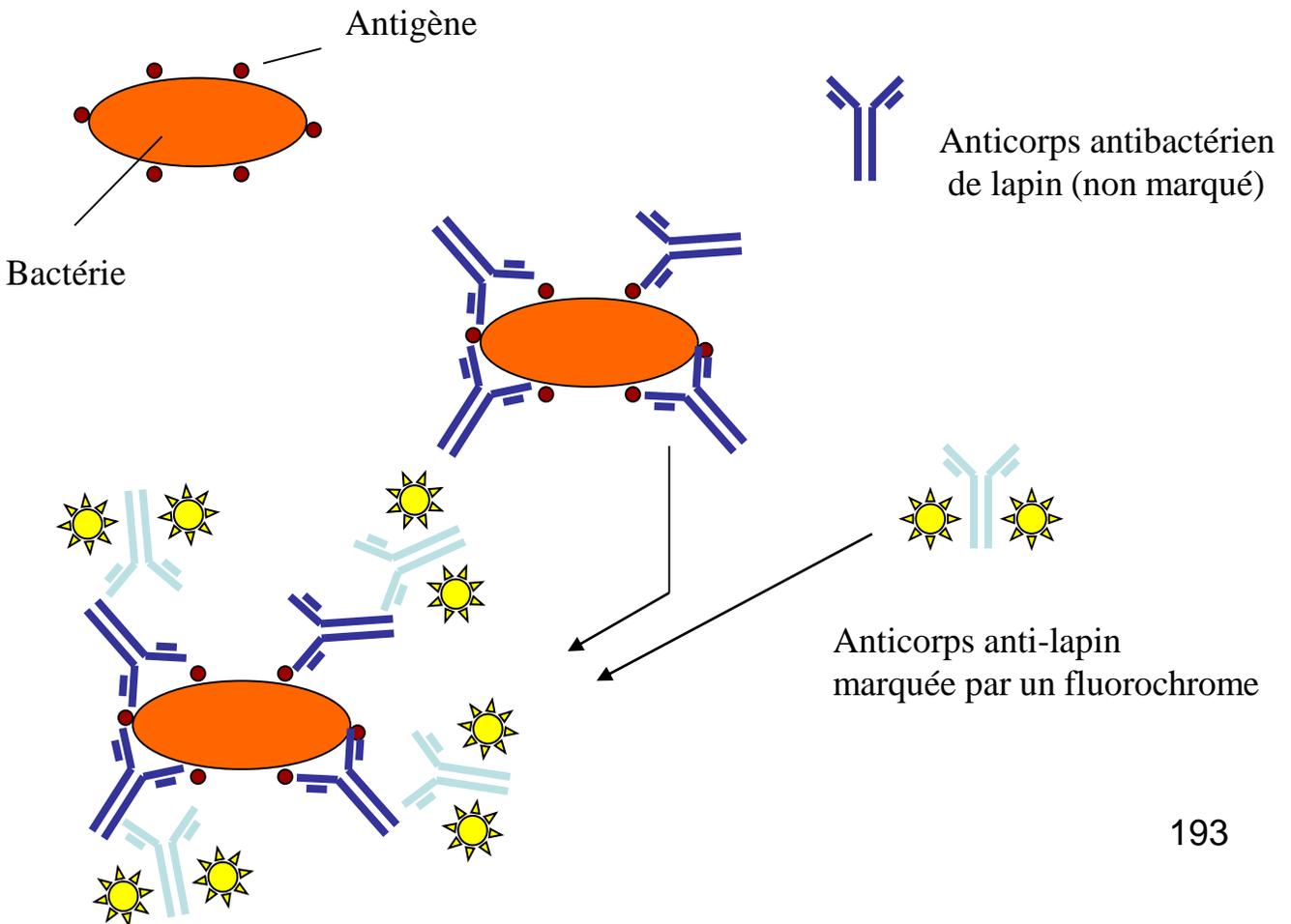
3. Les anticorps fluorescents

- Colorations plus spécifiques par anticorps fluorescents
- Permet de repérer un organisme précis dans un habitat complexe contenant un mélange de nombreux organismes
- Liaison d'un marqueur fluorescent sur un anticorps
- Rhodamine B = fluorescence rouge
- Isothiocyanate de fluorescéine = fluorescence jaune-vert
- Permet la lecture avec un microscope à fluorescence
- Les anticorps fluorescents liés à une cellule émettent une fluorescence lorsqu'ils sont excités par une lumière de longueur d'onde définie
- Lumière émise: rouge-orange ou jaune-vert
- Permet l'identification sans passer par l'isolement et la culture (utile en microbiologie clinique)

Marquage direct



Marquage indirect



4. Le marquage cellulaire par la protéine verte fluorescente

Les cellules bactériennes peuvent être modifiées par génie génétique

Une GFP (Green Fluorescent Protein) peut être insérée dans le génome

Lorsqu'elle est exprimée, les cellules contenant cette protéine sont colorées en vert sous UV.

Permet d'étudier la compétition entre communautés microbiennes autochtones et la souche marquée introduite.

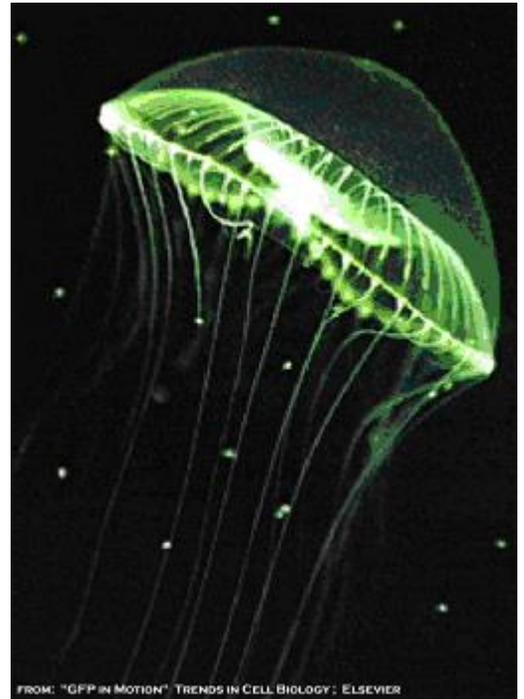
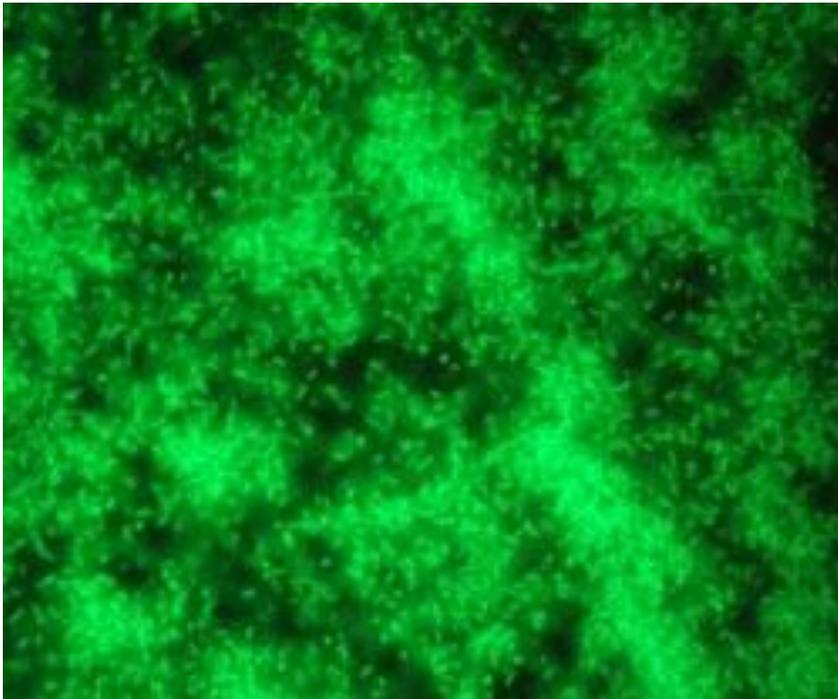
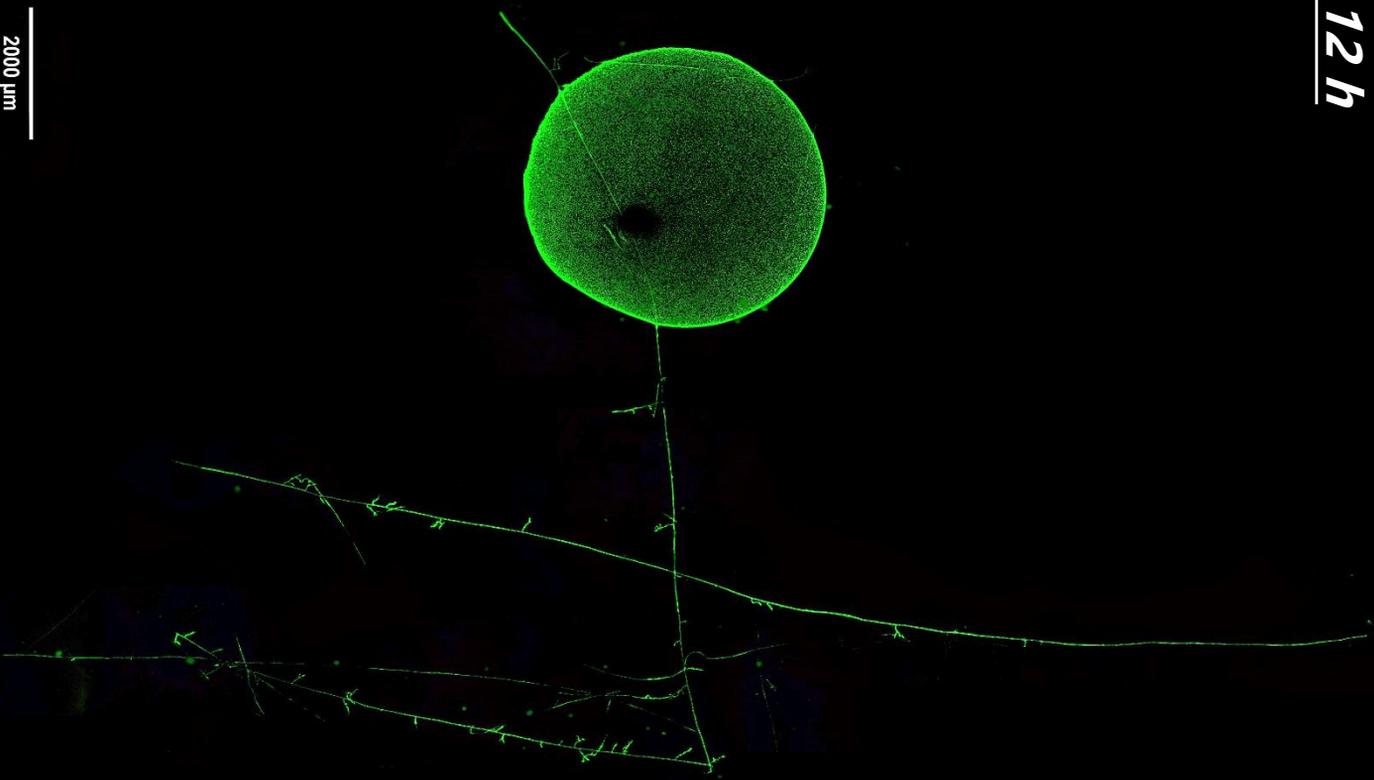


Photo D Roesti: Souche de *Pseudomonas putida* phlD positive marquée à la GFP.
Epifluorescence longueur d'onde d'excitation 480 nm, grossissement 100x

12 h



2000 μm

00:00:00:00



speed $\times 5$



90 μm

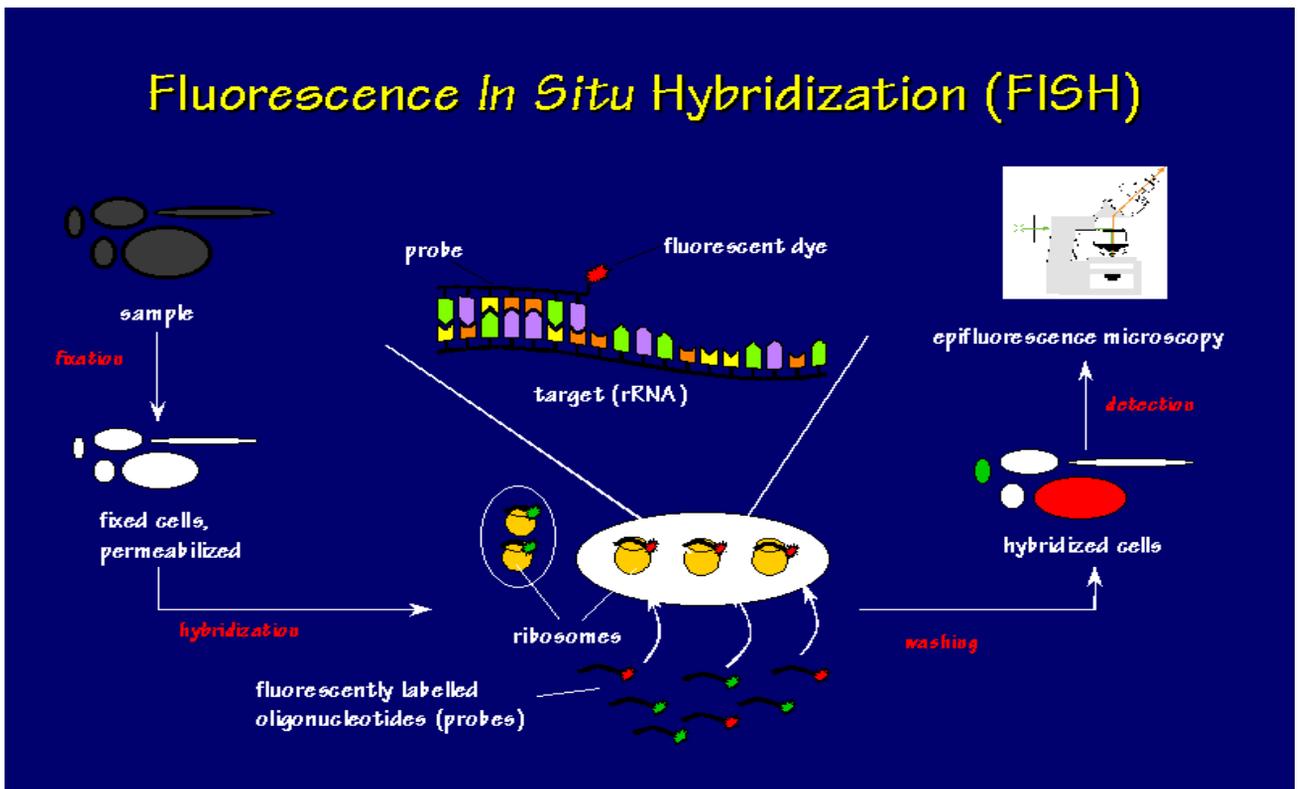
La coloration génétique

Sonde nucléique = outil puissant pour identifier et quantifier des organismes dans un milieu naturel

Sonde nucléique = Séquence d'ADN ou d'ARN marquée (par un composé fluorescent, un radioisotope) que l'on utilise pour détecter des séquences complémentaires par hybridation *in situ* ou *in vitro*.

Colorants fluorescents (fluorochrome) : Rhodamine, Fluoresceine

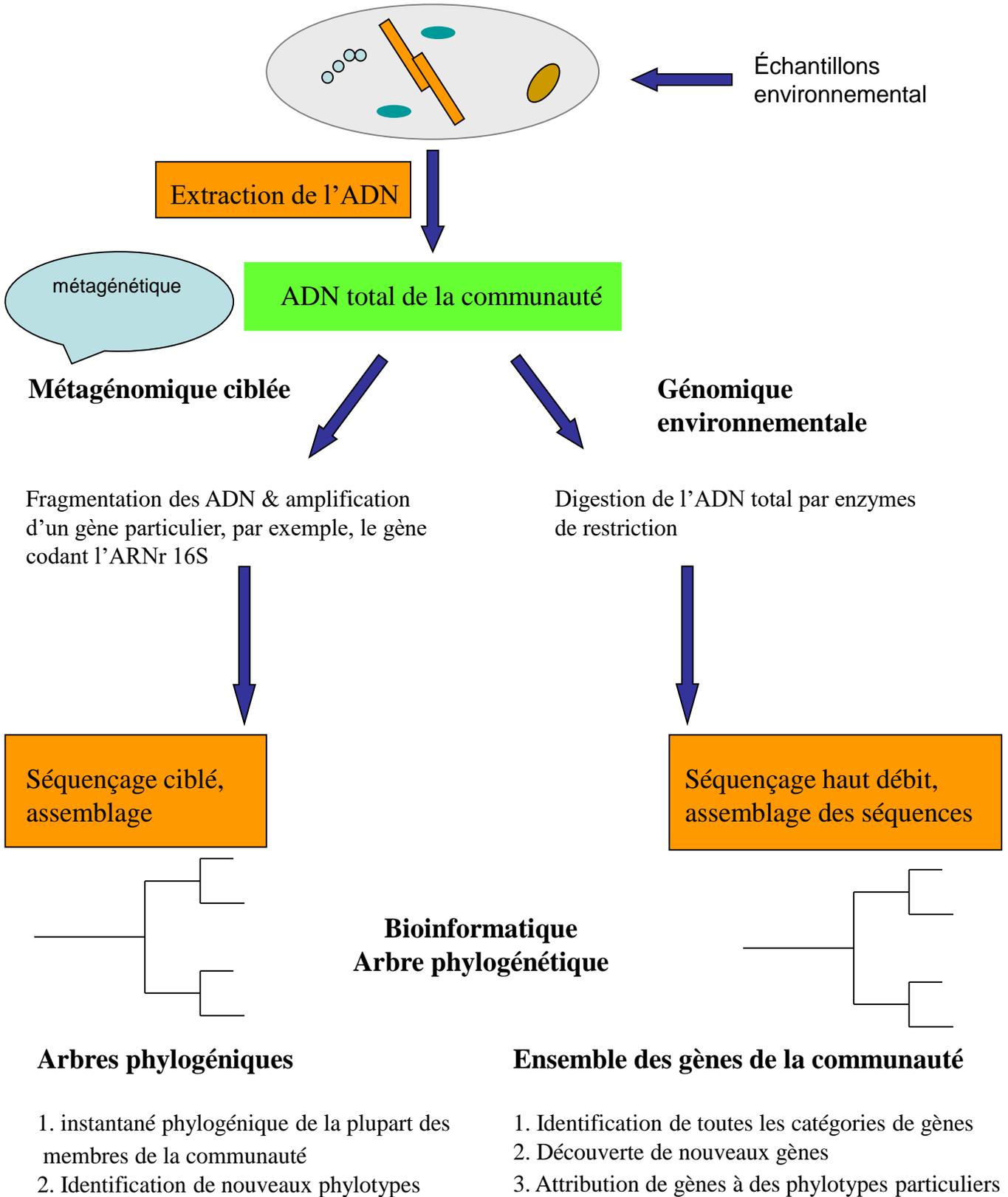
FISH (Fluorescent In situ Hybridization)



Une sonde DNA est marquée avec un marqueur fluorescent. La sonde et la cible sont dénaturées. La sonde est hybridée sur la cible. Le marqueur fluorescent est détecté avec un microscope à fluorescence.

Métagénomique (principes)

= **génomique environnementale**



9.3. Mesures de l'activité microbienne dans l'environnement

Mesure d'activité microbienne par

- les radio-isotopes
- les microélectrodes
- les isotopes stables

Radio-isotopes

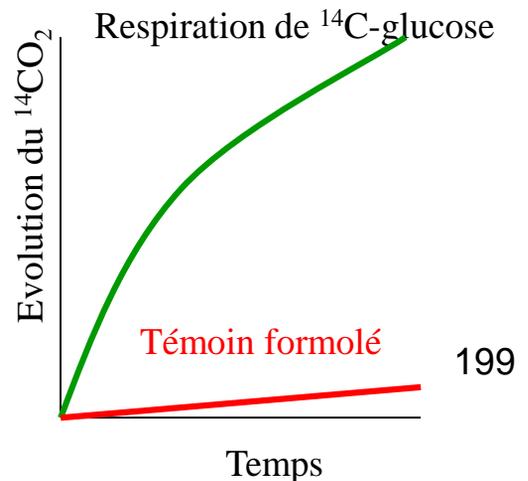
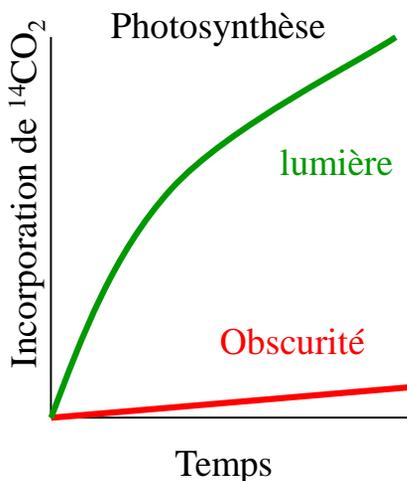
Permet de mesurer le devenir de différentes molécules

Exemple:

Mesure de la photoautotrophie --- $^{14}\text{CO}_2$

Respiration --- mesurée par la libération du $^{14}\text{CO}_2$ à partir de composés organiques marqués au ^{14}C

Attention: nécessité d'utiliser des témoins appropriés (conversion de type strictement chimique) – témoin mort (formol)



Redistribution du carbone dans le mycélium extraracinaire

Données fragmentaires

- Pour les CMA: 2-20%

Redistribution dans le mycélium extraracinaire des AMF

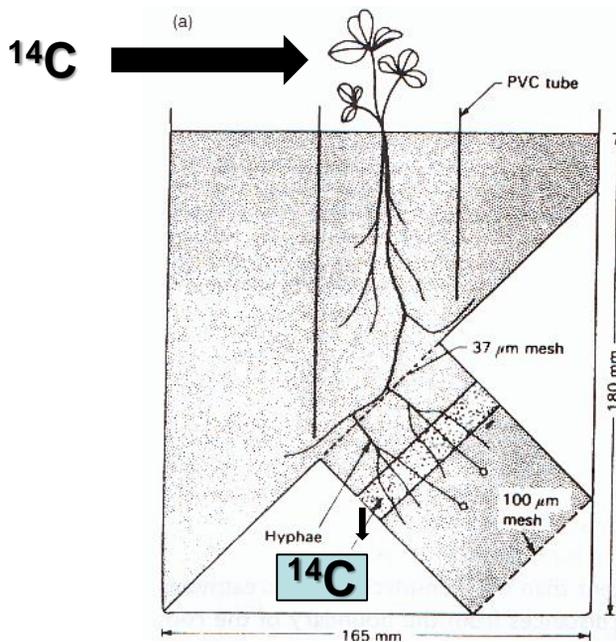
1ère approche (mesh-compartmentalized pots avec concombre)

0.8 % de la fixation nette de C se retrouve dans le mycélium extraracinaire (mesuré après 4 jours).

➔ **Dilution**

Deux limitations :

1. Maximum transfert vers le mycélium extraracinaires endéans les 24 h
2. Les auteurs n'ont pas tenu compte du flux respiratoire.



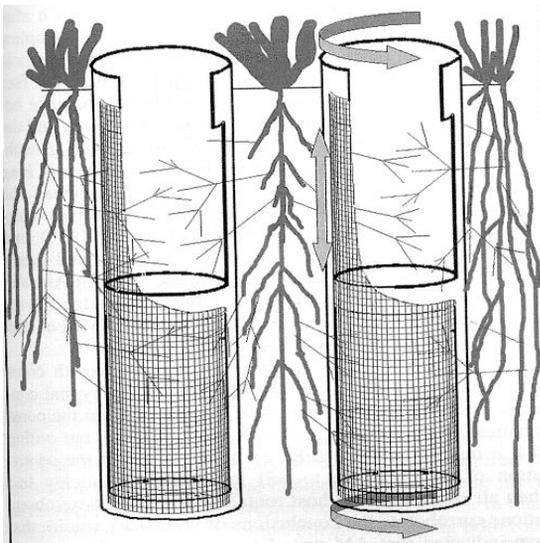
Redistribution du carbone dans le mycélium extraracinaire

2ème approche (expérience de 24 heure) in situ en prairie. (Johnson et al., 2002)

Flux respiratoire : 3.9 à 6.2 % de la fixation nette

Immobilisation dans le mycélium extraracinaire :
3% de la fixation nette

Total : 9% de la fixation nette



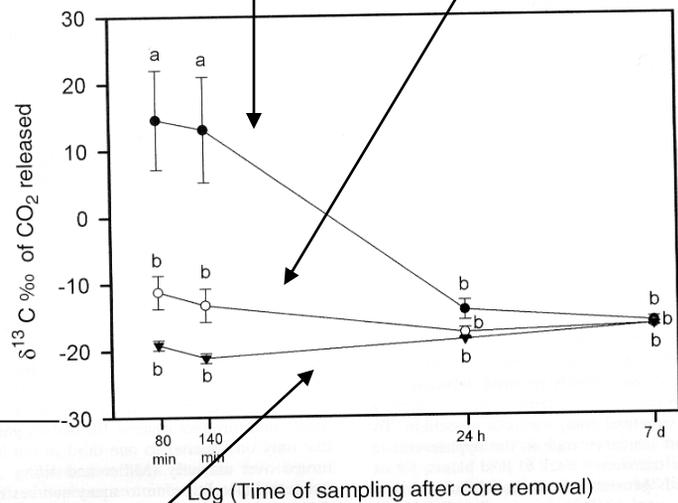
Tourné - marquage – incubation – comptage

Marquage – incubation – tourné - comptage

Marquage pendant
5h avec ^{13}C

Incubation 9 h

Fig. 3. Isotopic signature of ($\delta^{13}\text{C}\%$) of CO_2 release from static (solid circles) and rotated (open circles) mycorrhizal hyphal ingrowth cores in field plots in which the turf was pulse labelled for 5 h with $^{13}\text{CO}_2$ as well as from pooled static and rotated cores from unlabelled plots (triangles). The cores were all removed from the ground 9 h after the pulse labelling, and the release of $^{13}\text{CO}_2$ was monitored 80 min, 140 min, 24 h, and 7 d later. Bars indicate SE of the mean ($n = 4$). Data are replotted from Johnson et al. (2002a).



Non marquage – Tourné/non tourné – incubation – comptage

Microélectrodes

Permettent d'étudier l'activité des microorganismes dans la nature

pH, O₂, CO₂, H₂, H₂S

Pointe mesure de 2 à 100 µm

Permet de suivre l'activité microbienne à l'échelle micro-environnementale

Utilisées pour l'étude des activités microbiennes dans les **tapis bactériens**

= communautés microbiennes disposées en couches

cyanobactéries --- couches supérieures

bactéries phototrophes anoxygéniques --- couches sous-jacentes

organismes anérobies (sulfato-réductices) couches inférieures

Microélectrode à O₂ permet de mesurer les conc en O₂ dans les couches.

Mesures toutes les 0.05 à 0.1 mm (micromanipulateur)

Permet de mesurer les effets induits par des perturbations sur le tapis (métabolisme)

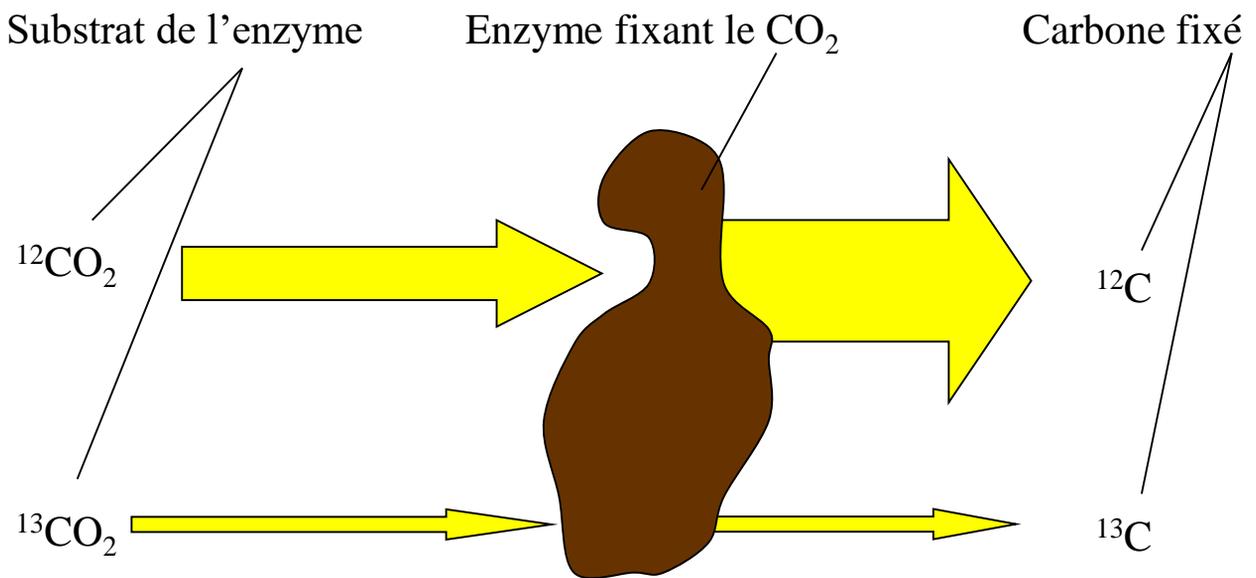
Ex. Ombrage.

Isotopes stables

= isotopes non radioactifs

Utilisés pour étudier de nombreuses transformations microbiennes dans la nature.

Deux éléments particulièrement utilisés: le carbone (CO_2), le soufre (SO_4^{2-} , H_2S)

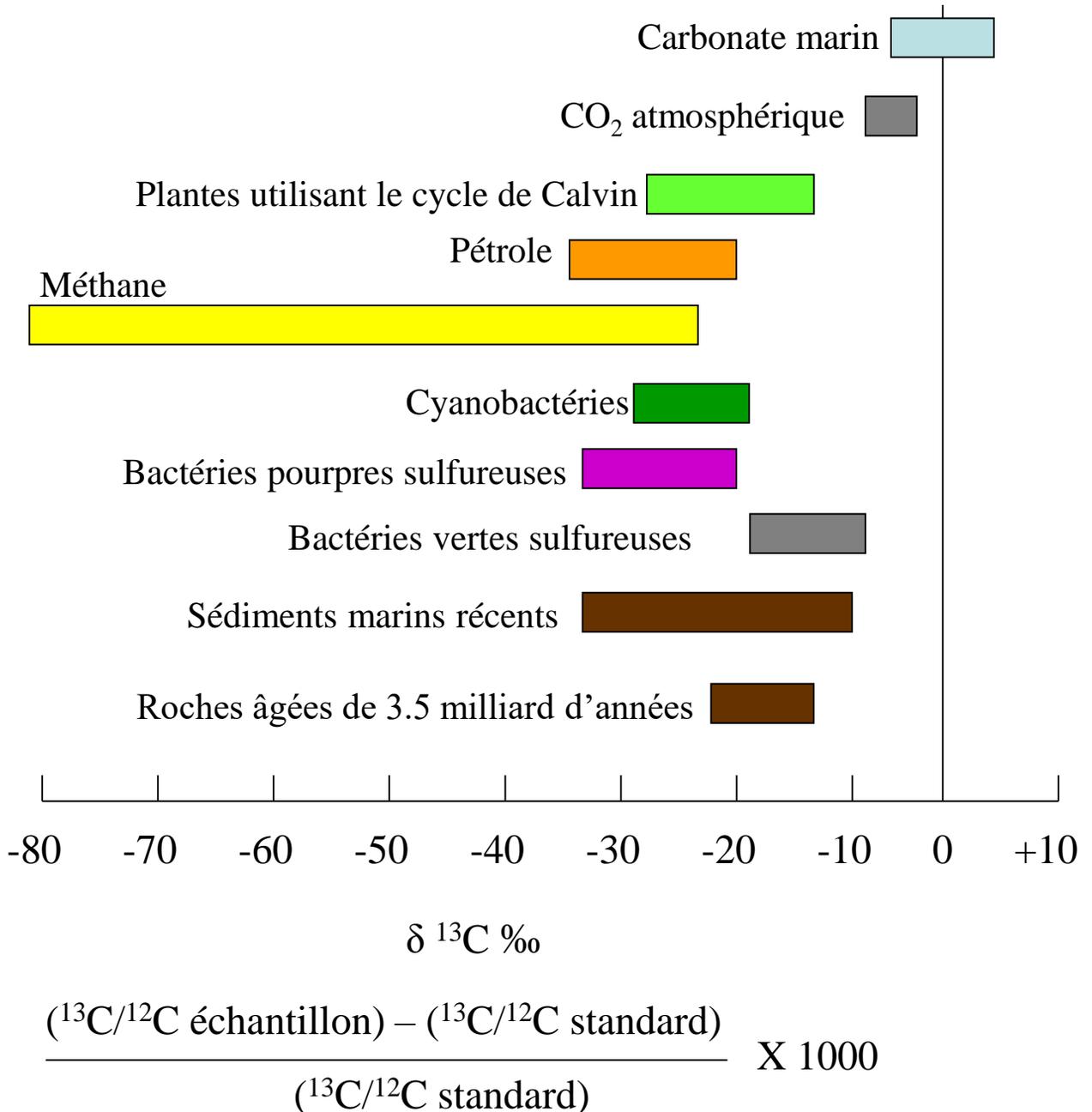


Fractionnement isotopique dans le cas du carbone

Les enzymes qui fixent le CO_2 fixent de préférence l'isotope le plus léger (^{12}C). Ceci conduit à un C fixé enrichi en ^{12}C et appauvri en ^{13}C par rapport au substrat initial. Le degré d'appauvrissement en ^{13}C est appelé fractionnement isotopique

Utilisation du fractionnement isotopique en écologie microbienne

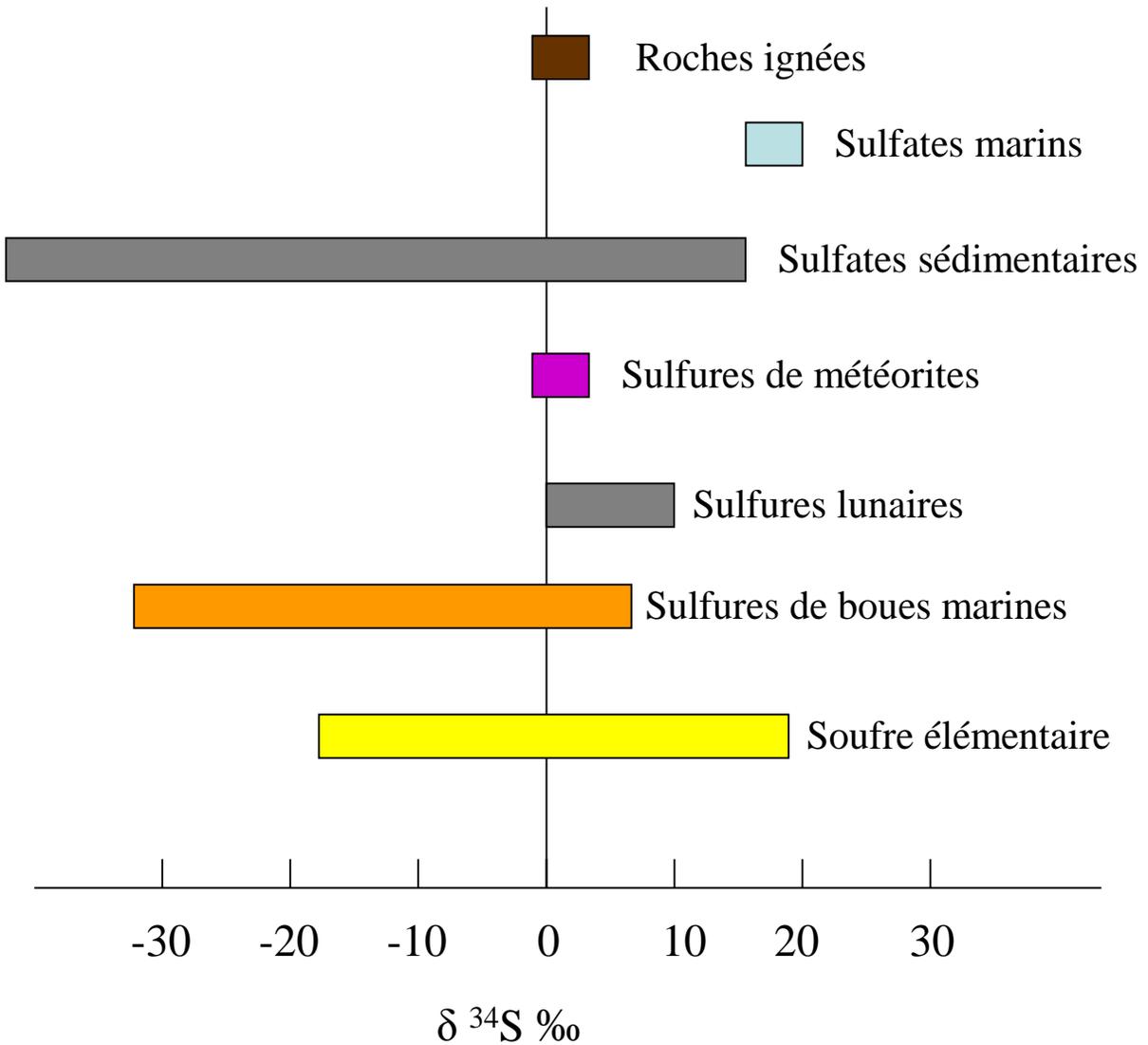
Compositions isotopiques de composés carbonés



Le standard utilisé est un échantillon de Belemnite d'une formation rocheuse appelée PeeDeeRock

Utilisation du fractionnement isotopique en écologie microbienne

Compositions isotopiques de composés soufrés



$$\delta^{34}\text{S} \text{ ‰} = \frac{(^{34}\text{S}/^{32}\text{S} \text{ échantillon}) - (^{34}\text{S}/^{32}\text{S} \text{ standard})}{(^{34}\text{S}/^{32}\text{S} \text{ standard})} \times 1000$$

Le standard utilisé est un sulfure de Fe provenant d'une météorite du Canyon Diablo

PARTIE III

Ecologie microbienne

10. Ecosystèmes microbiens

- Les microorganismes ne sont pas seuls dans la nature.
- Chacun interagit avec l'environnement et les autres microorganismes
- Interactions entraînent des modifications chimiques et physiques de l'environnement, favorables ou défavorables aux autres organismes
- Les activités collectives des microorganismes contrôlent en grande partie le fonctionnement de la biosphère

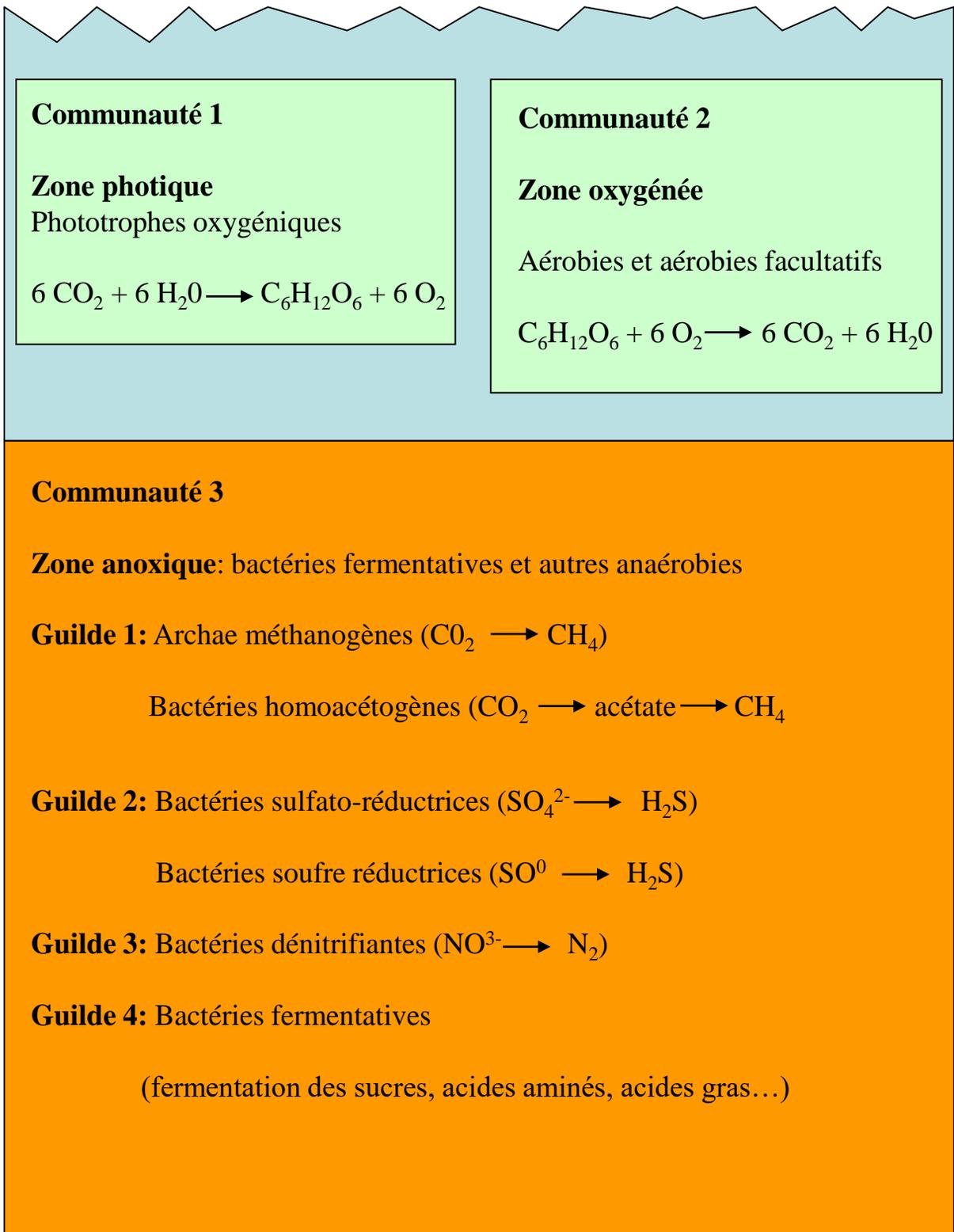
10.1. Populations, guildes, communautés

Dans la nature, les cellules microbiennes se divisent pour former des **populations**

Guildes = populations de microorganismes métaboliquement apparentés

Les guildes interagissent dans des **communautés microbiennes**

Les communautés microbiennes interagissent avec les communautés de macroorganismes et l'environnement = **écosystème**



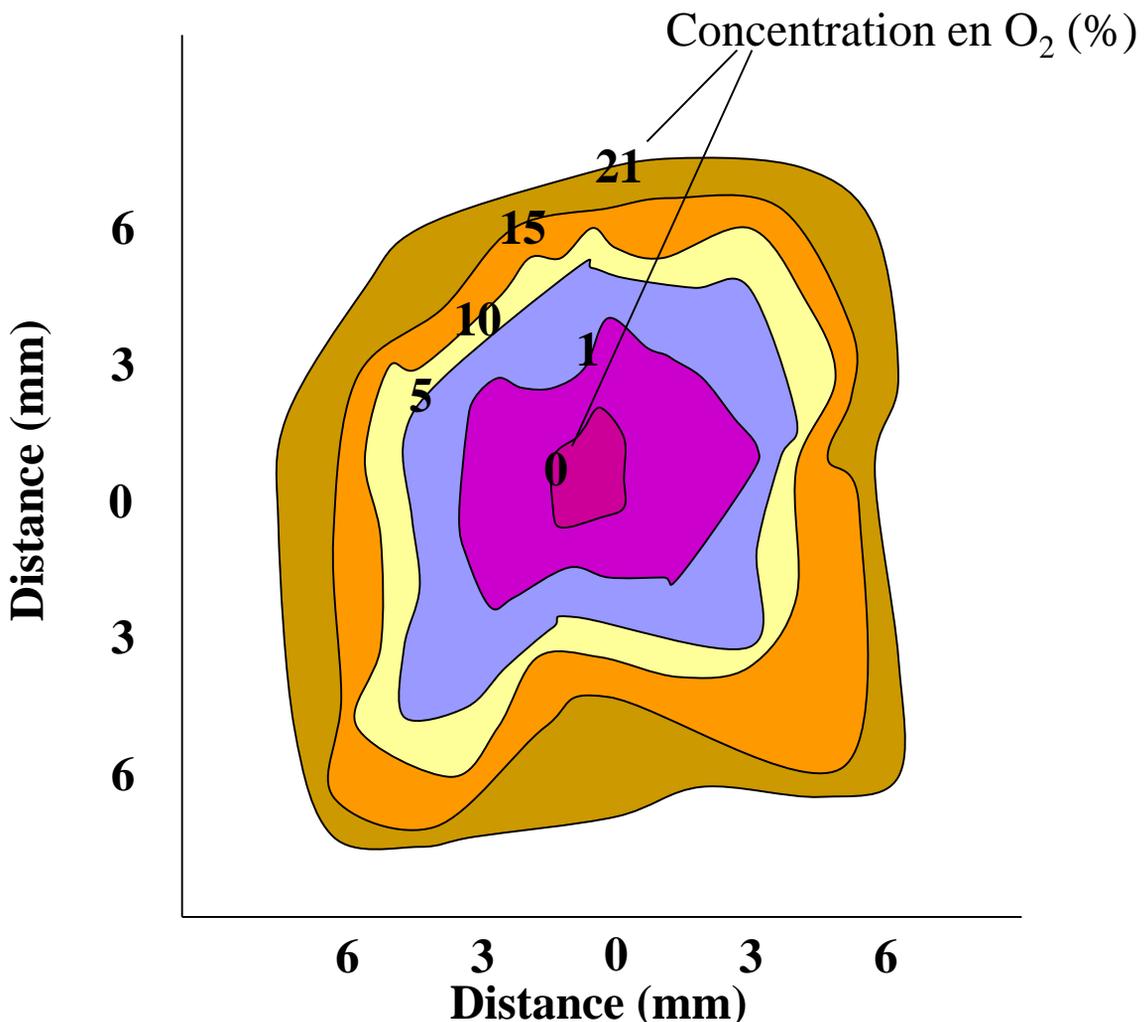
10.2. Environnements et microenvironnements

Microenvironnement = environnement immédiat (à l'échelle micrométrique) d'une ou d'un ensemble de cellules microbiennes

Attention : tout est facteur d'échelle.

Pour une bactérie de $3\ \mu\text{m}$, une distance de $3\ \text{mm}$ = distance de $2\ \text{km}$ pour l'homme!

Sur ces $3\ \text{mm}$, il peut y avoir un gradient chimique et physique très important qui peut affecter l'activité du microorganisme



Le niveau des nutriments et taux de croissance

Les ressources entrent de manière intermittente dans un écosystème
succession de périodes d'abondance et de famine

Les microorganismes doivent donc s'adapter par la production de polymères de réserve (stockent pendant les conditions favorables et les utilisent en période de disète).

La croissances des microorganismes se fait par à-coup en fonction de la disponibilité en nutriments.

Généralement lent par rapport aux croissances en laboratoire

Les taux de croissance lents sont liés à

1. nutriments présents en faible quantités
2. distribution pas uniforme dans l'habitat
3. microorganismes croissent avec d'autres organismes et donc il existe des phénomènes de compétition.

Compétition microbienne et coopération

Compétition entre microorganismes peut être intense (pour les mêmes ressources)

Dépend

du taux de prélèvement des nutriments

des vitesses de métabolisme

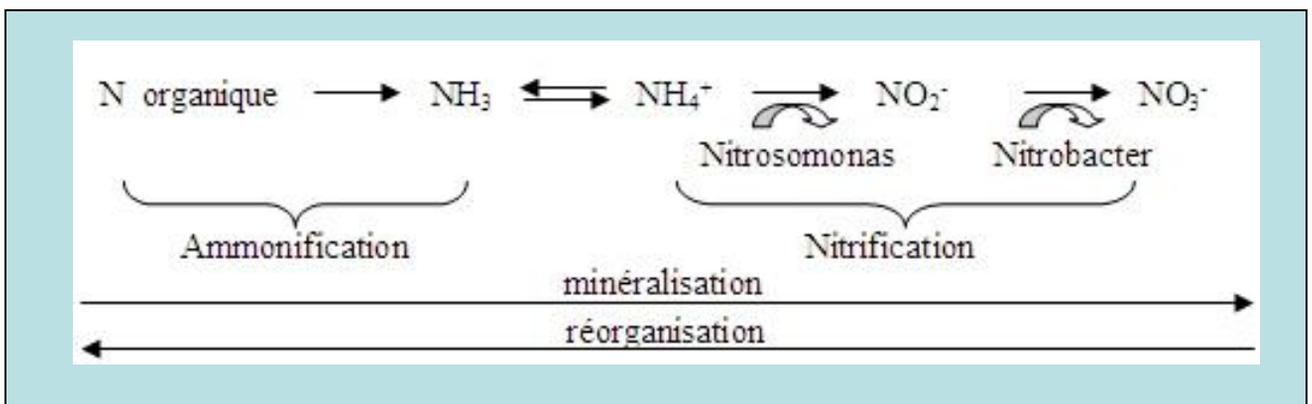
des taux de croissance

Coopération = syntrophie

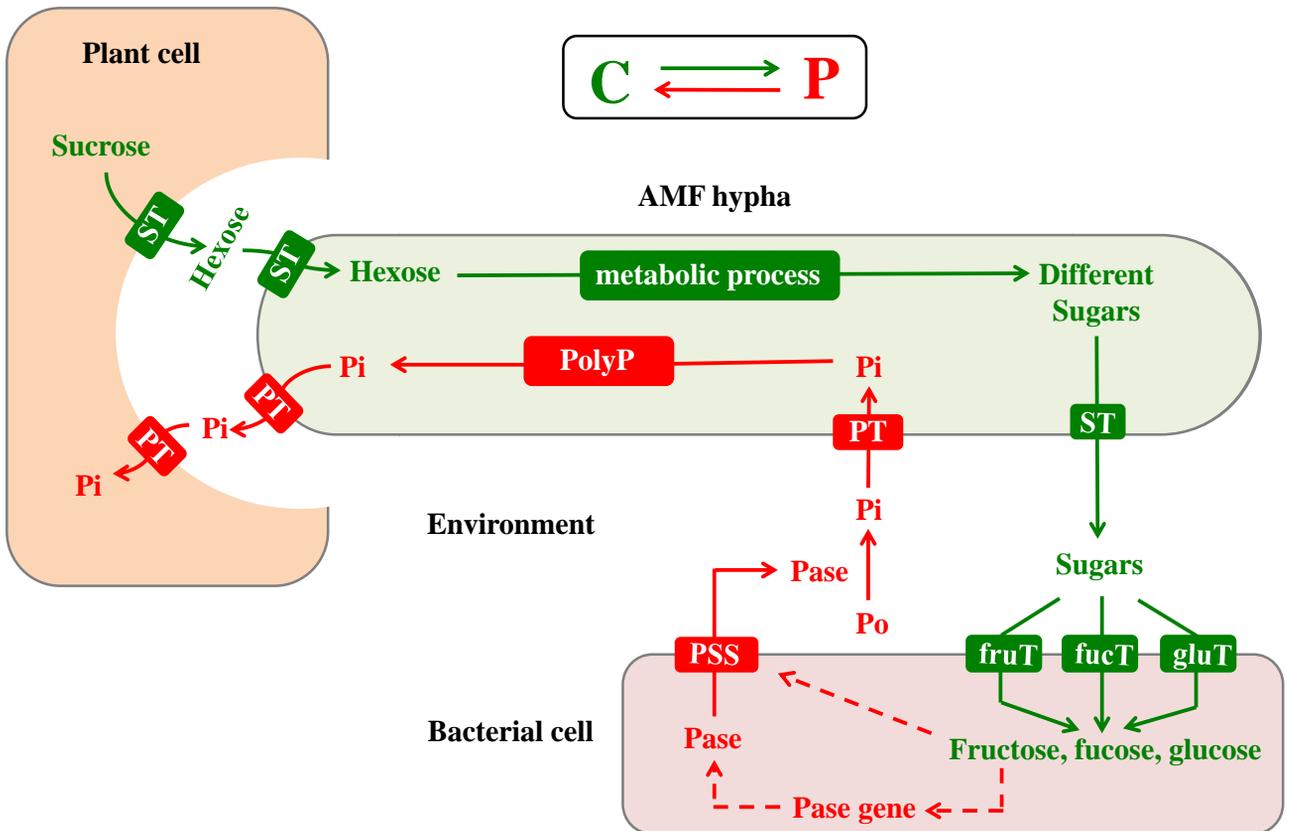
Processus par lequel deux microorganismes ou plus coopèrent pour dégrader un substrat qu'aucun ne peut dégrader seul.

Coopérations métaboliques (métabolismes complémentaires)

Ex. bactéries nitrifiantes



Coopération entre deux Phyla différents



Zhang L., Feng G., Declerck S. (2018). Signal beyond nutrient, fructose, exuded by an arbuscular mycorrhizal fungus triggers phytate mineralization by a phosphate solubilizing bacterium. ISME Journal. 12(10) : 2339-2351 – doi.org/10.1038/s41396-018-0171-4

10.3. Croissance microbienne sur les surfaces et biofilms

Les surfaces sont d'importants habitats microbiens

concentrations en nutriments peuvent être plus élevées que dans la solution avoisinante (nutriments adsorbés)

Ex. lames de verre utilisées comme surface expérimentale pour mesurer le taux de croissances des microorganismes fixés en milieu naturel

La surface peut aussi être un nutriment

particule de matière organique

matériel végétal ...

Le biofilm

Communauté plus ou moins complexe de micro-organismes (bactéries, champignons, algues ou protozoaires), fixés sur une surface et inclus dans une matrice adhésive et protectrice excrétée par les cellules elles-mêmes.

Piègent les nutriments pour la croissance de la communauté

Observés dans les milieux aqueux ou exposés à l'humidité.

Peuvent se développer sur n'importe quel type de surface naturelle ou artificielle

- minérale (roche...)
- organique (peau, tube digestif des animaux, racines et feuilles des plantes)
- industrielle (canalisations, coques des navires)
- médicale (prothèses, cathéters...)
- matériaux "anti-adhésifs" comme le téflon.

Traces fossiles

Premières colonies d'organismes vivants (3,5 milliards d'années).

Avec les stromatolithes, ils semblent à l'origine des premières roches biogéniques.

Certains biofilms encroûtant sont capable de croître sur eux-mêmes ou plutôt sur les couches générées par les générations précédentes de bactéries.



Pourquoi les microorganismes forment-ils des biofilms?

Quatre raisons majeures:

1. Protection

1. Contre l'entraînement par des forces physiques
2. Empêchent la pénétration des molécules toxiques (antibiotiques)
3. Contre la phagocytose des cellules immunitaires

2. Maintien des cellules dans une niche favorable

1. Biofilms fixent les bactéries sur des surfaces où les nutriments sont plus abondants ou renouvelés constamment.

3. Permettent aux microorganismes de vivre en étroite collaboration

1. Augmente les communications (quorum sensing)
2. Facilite les échanges génétiques

4. Processus typique de croissance des organismes dans la nature (en situation de carence)

L'autre alternative étant la flottaison libre de type dit "*planctonique*"

Formation et développement du biofilm

5 étapes

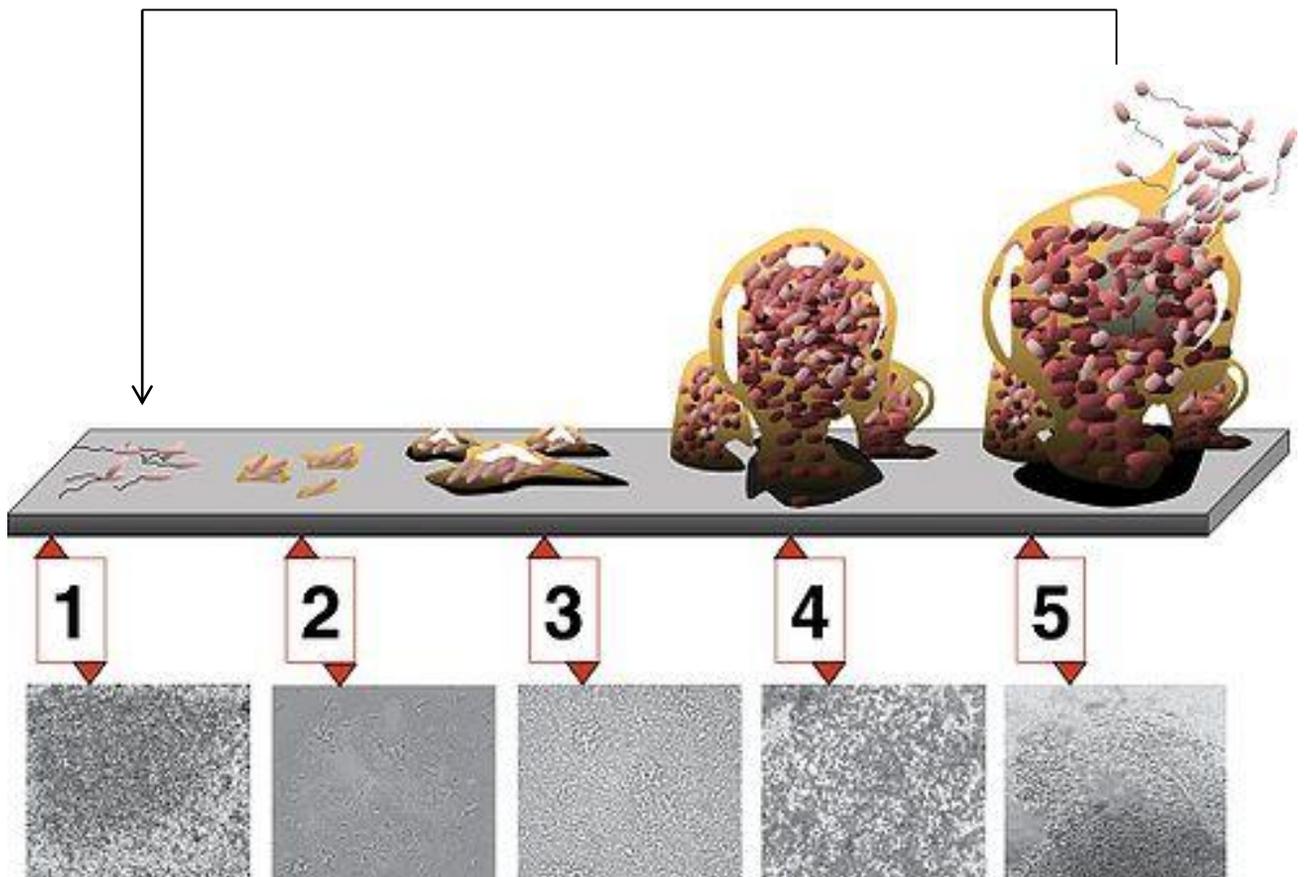
étape 1 : attachement initial

étape 2 : attachement irréversible

étape 3 : apparition et « *maturation I* » du biofilm

étape 4 : maturation II

étape 5 : dispersion



Le contrôle des biofilms

Implication en médecine humaine et activités commerciales

Tous les organes internes creux communiquant avec l'environnement extérieur (bouche, tube digestif...) sont une niche écologique abritant un film d'organismes vivants plus ou moins riche.

plaque dentaire
implants chirurgicaux...

Exploitation industrielles

ralentissement de la circulation de l'eau, pétrole...
dégradation des structures immergées (plateformes off-shore
salubrité de l'eau potable

Contrôle par

antibiotiques puissants
substances empêchant la formation des biofilms (ex. furanone)

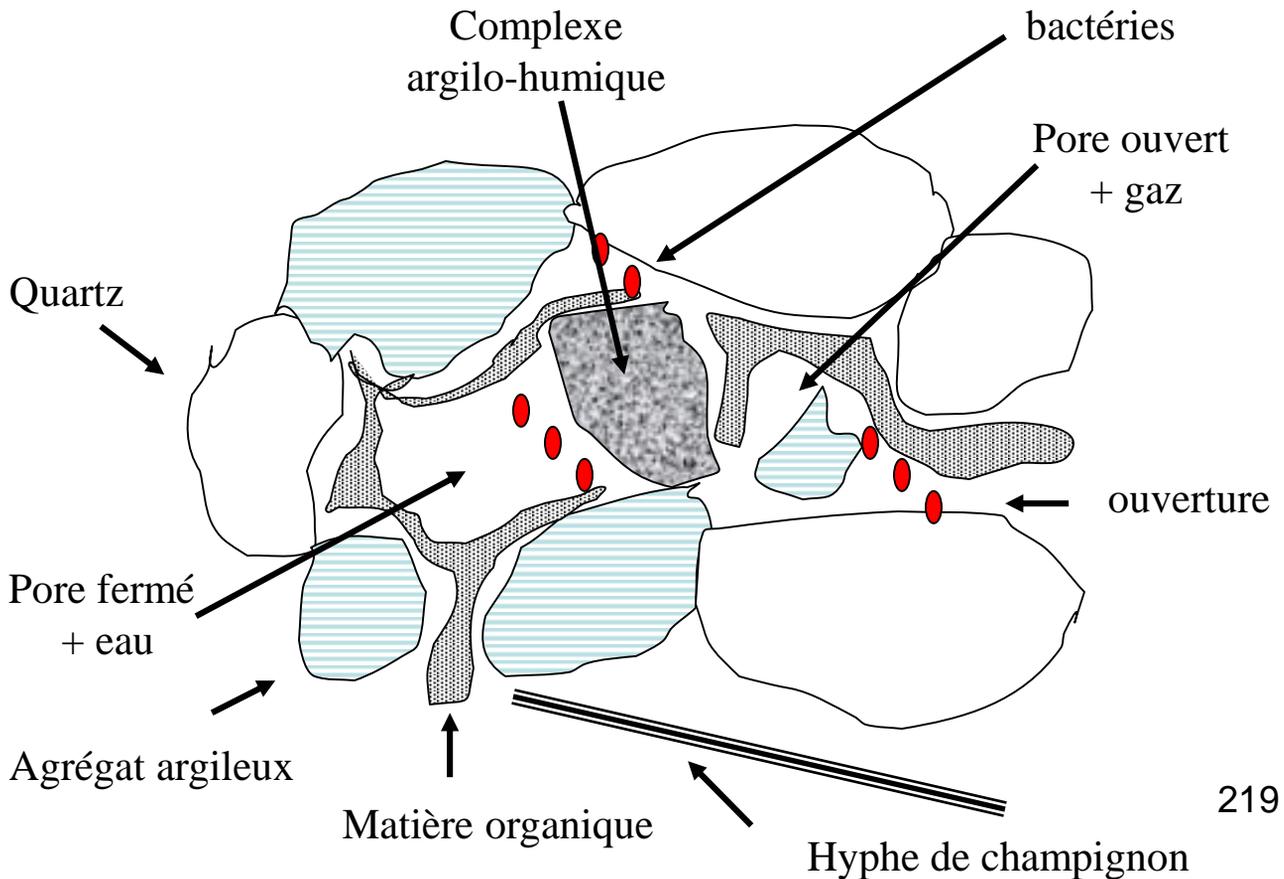
11. Habitats microbiens du sol et des eaux douces

11.1. Environnements terrestres

Le sol = couche superficielle, meuble, de la croûte terrestre, résultant de l'altération de la roche mère enrichie par des apports organiques.

Le sol est constitué de trois phases:

- Phase solide : particules minérales de toute taille + matière organique
- Phase liquide : dans les pores constitués par la phase ci-dessus
- Phase gazeuse : azote – oxygène – CO₂ - vapeur d'eau



Diversité et biomasse microbienne énorme et insoupçonnée

Ex: Chaque hectare de sol contient jusqu'à 1000 kg de champignons.

Ex. Dans un article de Nature, il a été démontré que 1 m³ de sol tempéré (prairie) contient des milliers d'espèces de microorganismes dont l'identité et l'activité sont inconnues.

Principaux
organismes
microscopiques du
sol (Chaussod,
1996)

Type d'organisme	Nombre par g de sol
Protozoaires	10 ³ à 10 ⁵
Algues	10 ² à 10 ⁴
Bactéries	10 ⁸ à 10 ⁹
Champignons	10 ⁴ à 10 ⁶

Croissance microbienne la plus importante sur les surfaces des particules de sol.

Facteur influençant l'activité microbienne du sol

1. Disponibilité en eau

Eau dans le sol = adsorbé sur les surfaces

eau libre entre les particules de sol

Sols bien drainés: concentration en O₂ importante

Sols détrempés: O₂ consommé par microorganismes --- anoxiques

2. Présence de nutriments: activité la plus importante dans les couches de surface riche en MO (dans et autour de la rhizosphère).

La microbiologie de la sub-surface

Environnements profonds: plusieurs centaines de m

Microorganismes divers présents.

Accès aux nutriments grâce à la circulation des eaux souterraines.

Mais métabolisme lent

Rôle biogéochimique minime

Bioremédiation des substances toxiques lessivés du sol

11.2. Environnements d'eau douce

= lacs, étangs, rivières, fleuves

Organismes prédominants:

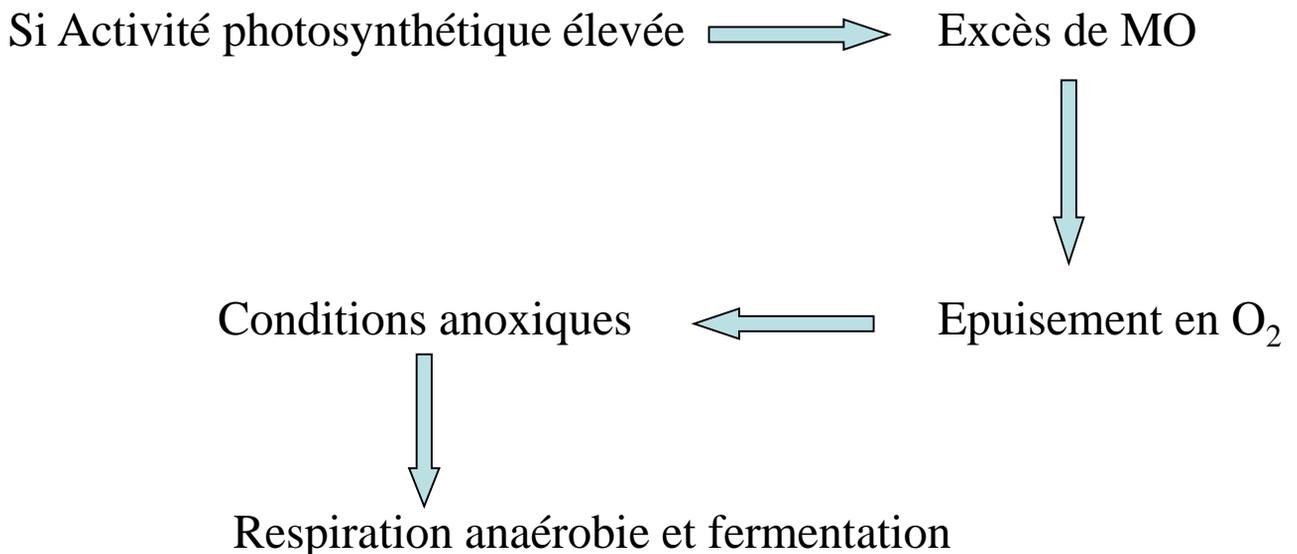
cyanobactéries et algues – eaux oxygénées

bactéries anoxygéniques – zones anoxiques

Algues qui flottent = phytoplancton
Algues du fond = benthique

} Producteurs primaires

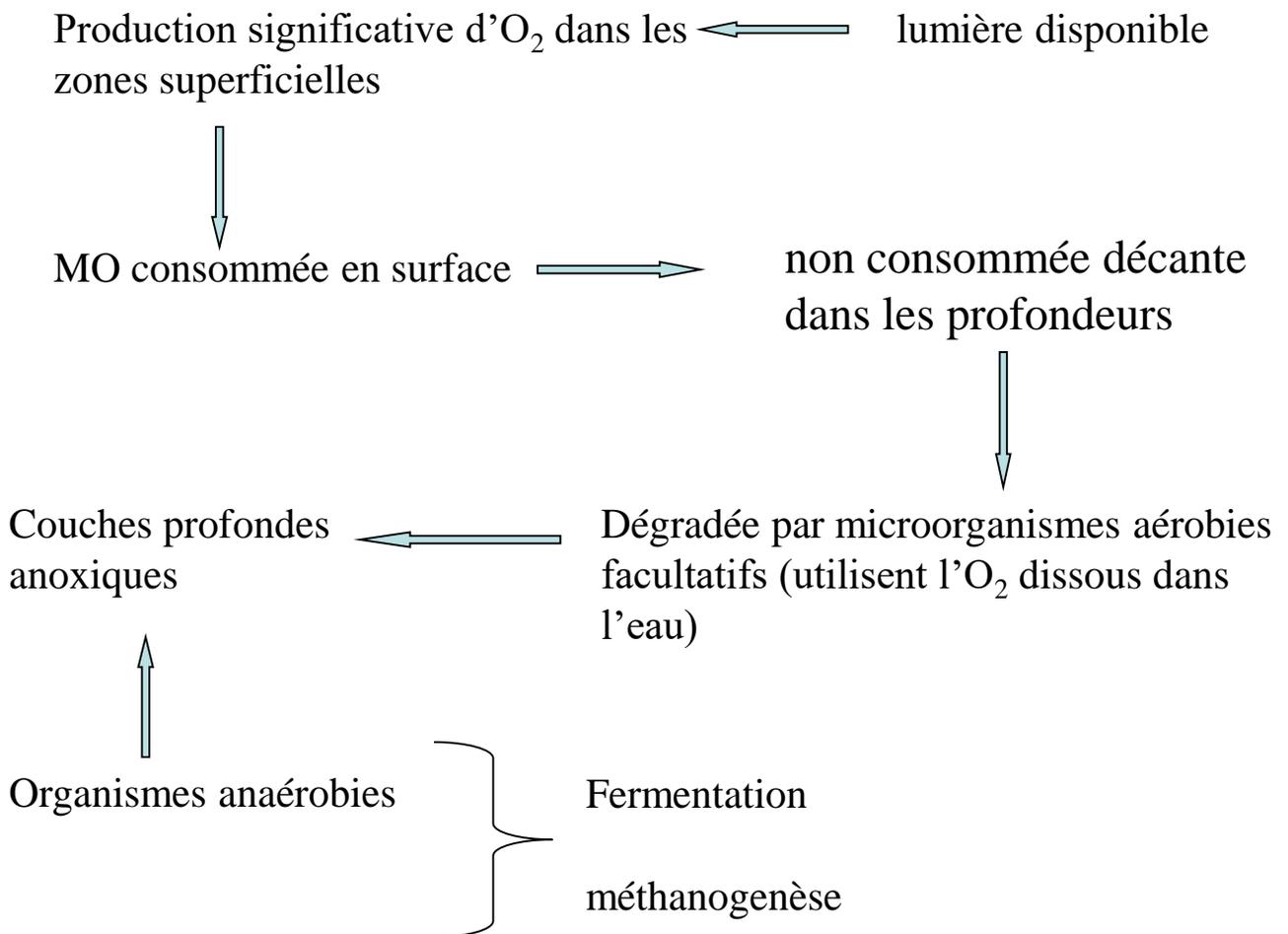
Activité microbienne dépend du taux de production primaire par les phototrophes



L'oxygène dans les lacs et les rivières

O₂ est un des gaz les plus abondant dans l'atmosphère (21%)

MAIS solubilité dans eau est limitée & échanges eau/atm. lents

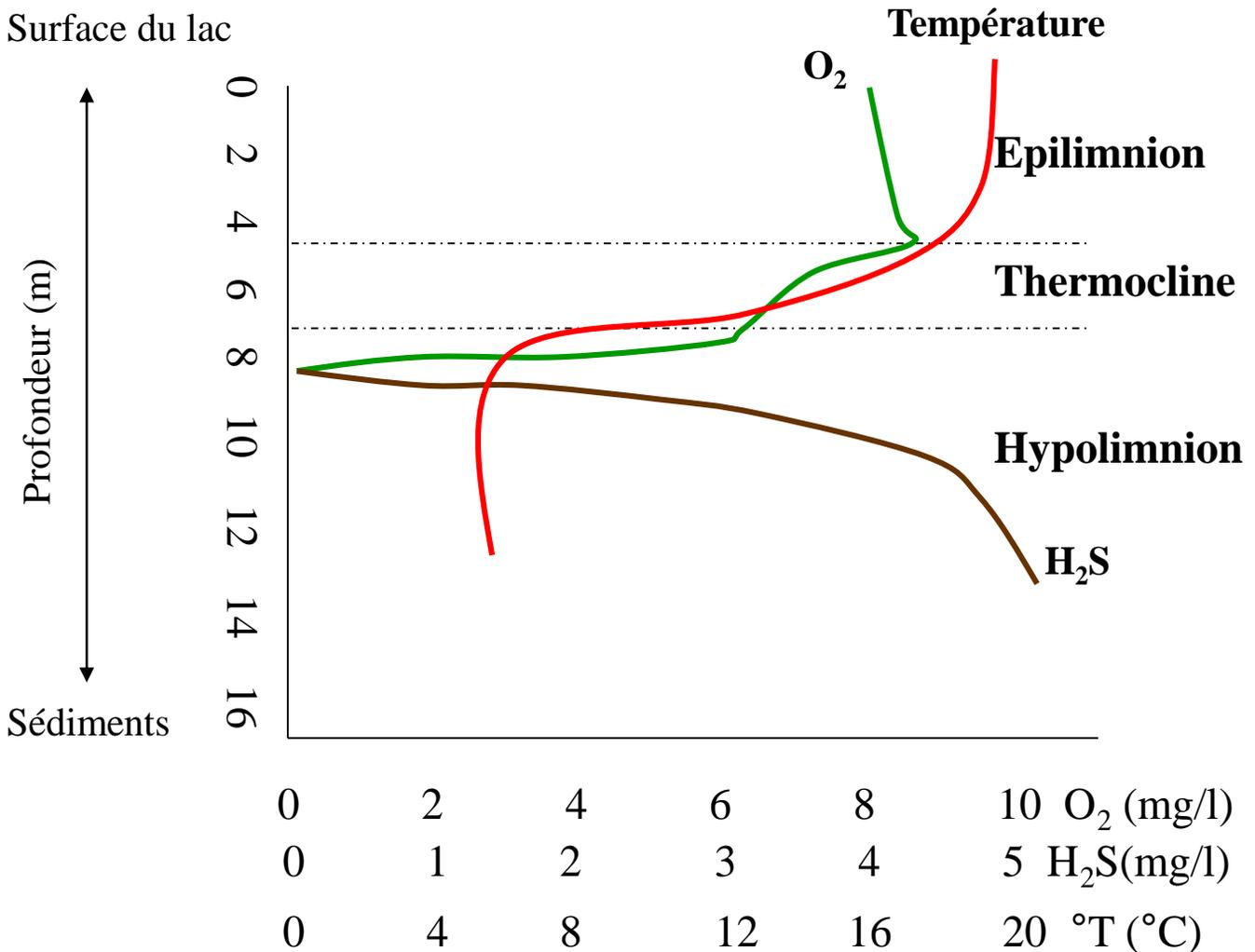


Lacs des pays tempérés: masses d'eau stratifiées (été)

En surface: eau plus chaude et moins dense (**Epilimnion**)

En profondeur: eau plus froide et plus dense (**hypolimnion**)

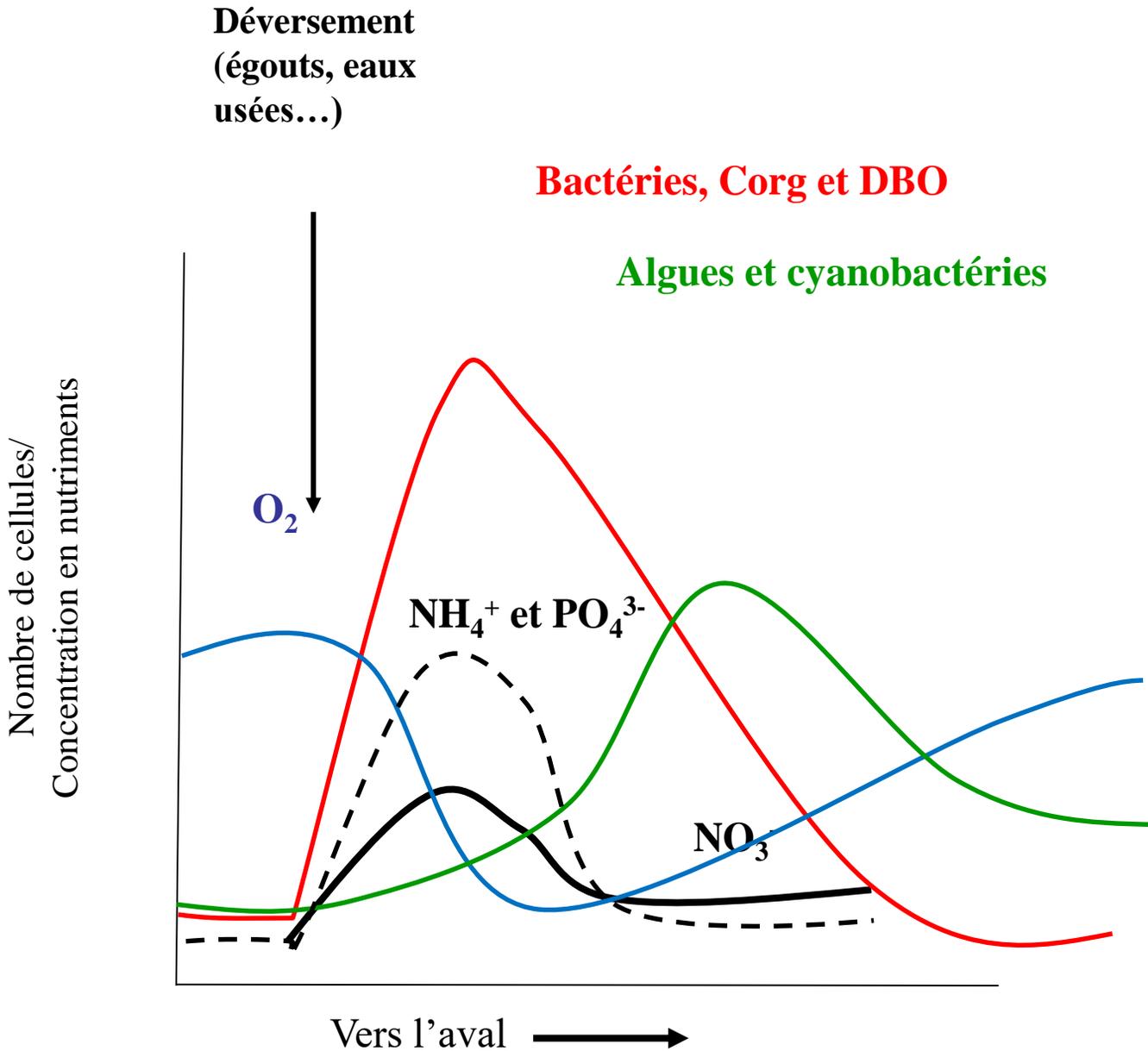
Thermocline = zone de transition entre les deux.



Eau de fond plus froides et plus dense: contiennent de l'H₂S. En automne et hiver, eaux de surface refroidissent, s'enfoncent et déplacent les eaux de fonds qui remontent (renouvellement des eaux). Alternance d'eau oxygénée à anoxique

Les rivières

Teneur en O_2 importante surtout si rejets en MO (pollution agricole, eaux d'égouts...).



DBO = quantité d' O_2 nécessaire aux microorganismes pour oxyder la MO présente dans un échantillon d'eau

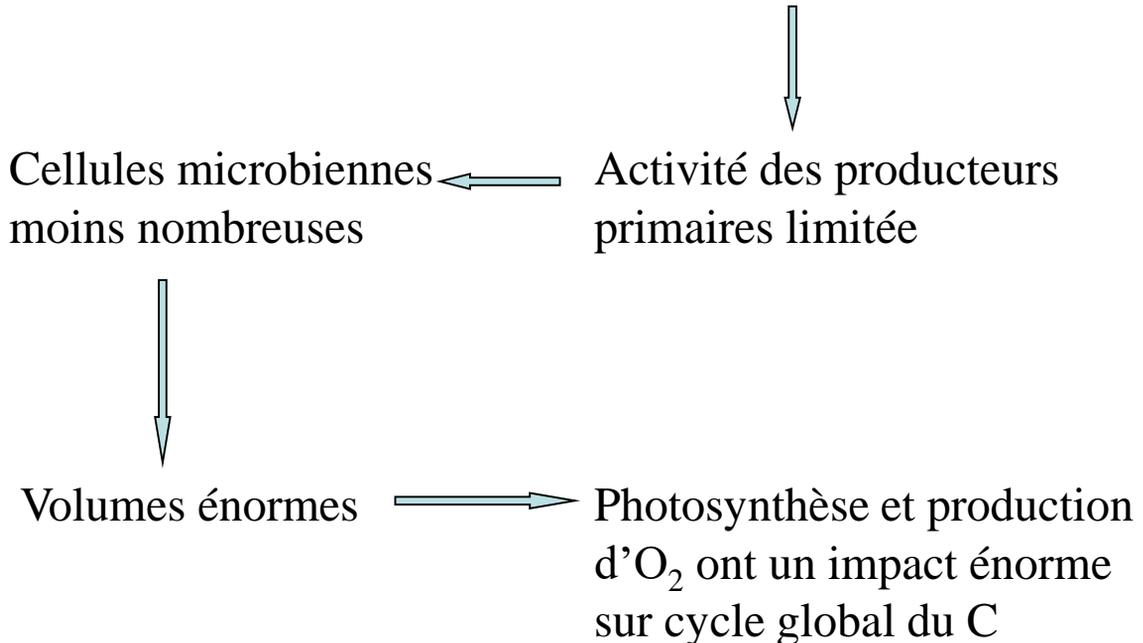
12. Microbiologie marine

Océans \neq eaux douces

salinité, °T moyenne, profondeur, teneur en nutriments

12.1. Habitats marins et distribution des microorganismes

Concentrations en nutriments très faibles (N, P, Fe)



La productivité primaire

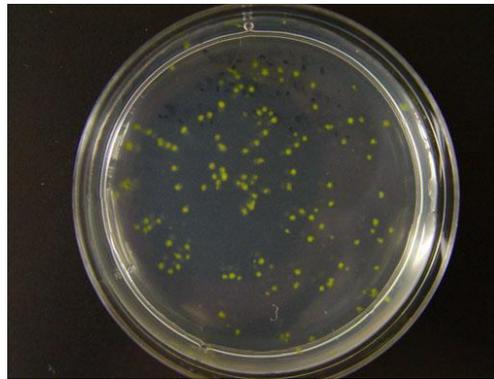
Eaux océaniques

Dû essentiellement à des **Prochlorophytes**

Prochlorophytes = procaryotes phototrophes oxygéniques qui contiennent des chlorophylles a et b

Cyanobactérie

Ex. *Prochlorococcus*



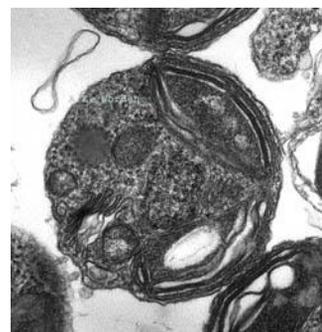
Ex. *Trichodesmium* = fixatrices d’N

Touffes de filaments – biomasse importante des microbes



Eaux côtières

Ostreococcus = petits eucaryotes photosynthétiques (= algue)



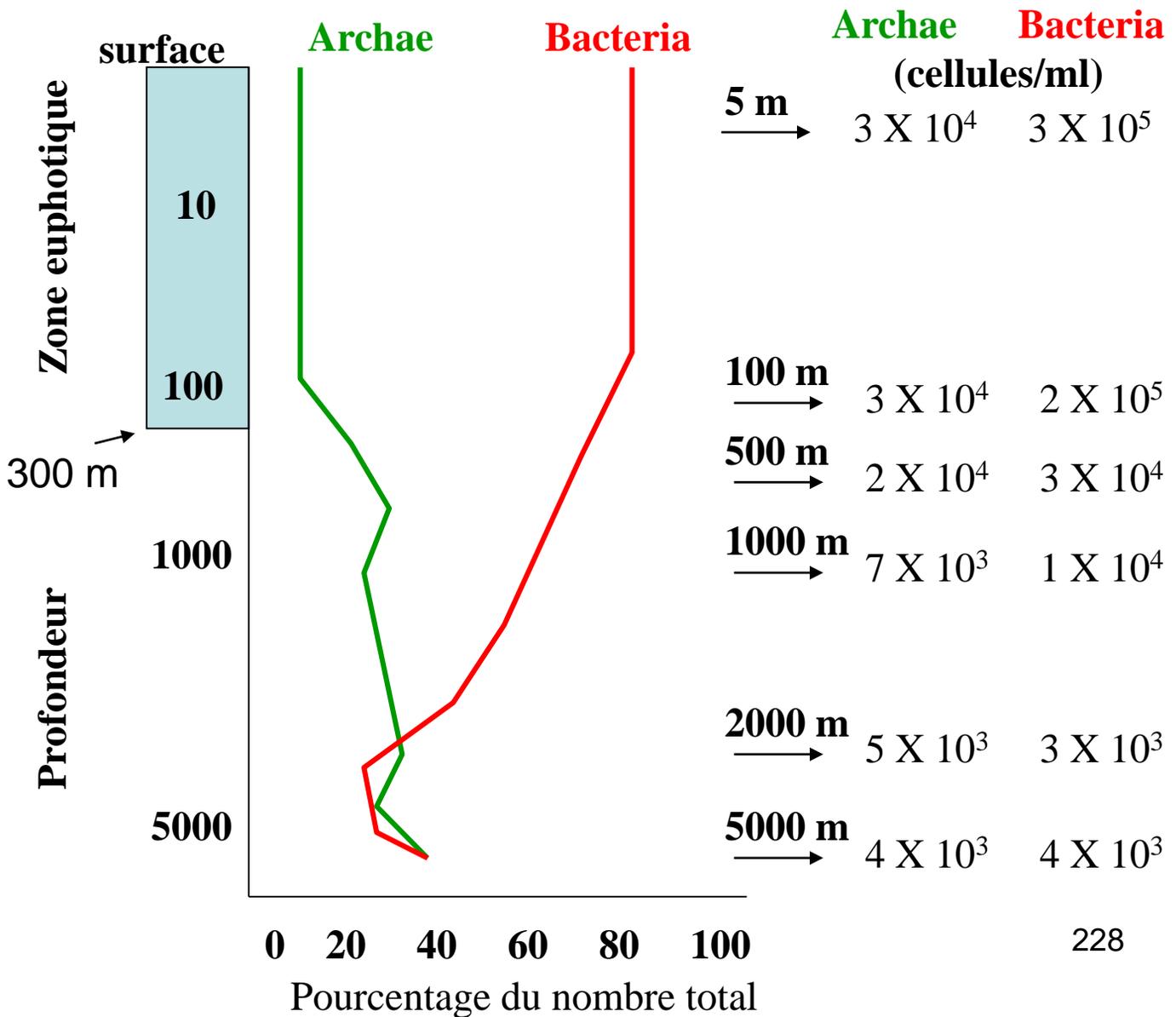
12.2. Microbiologie abyssale

Zone euphotique = zone de l'océan où pénètre la lumière

0 à 300 m de profondeur

Jusqu'à 1000 m : activité microbienne intense (chimio-organotrophes)

Océan profond = > 1000 m: activité microbienne plus faible



Caractéristiques des eaux abyssales

1. Basse température

< 1000 m : °T = 2-3 °C



Microorganismes psychrophiles

2. Forte pression

Pression > de 1 atm par 10 m

5000 m = 500 atm

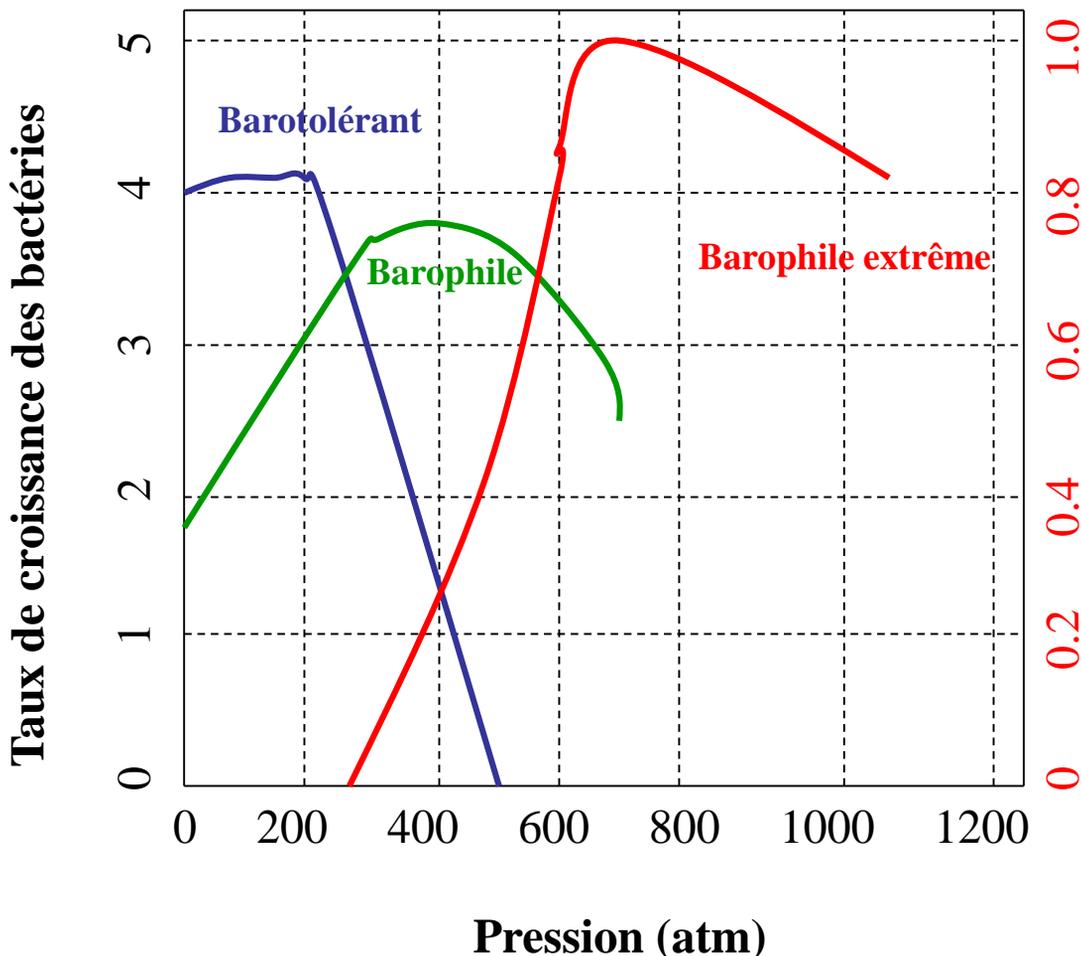
3. Faible teneur en nutriments

Bactéries barotolérantes et barophiles

Barotolérants = microorganismes qui peuvent croître sous pression hydrostatique élevée, mais moins bien qu'à pression atmosphérique.

Barophiles = microorganisme qui se développent mieux lorsque la pression est élevée.

Barophiles extrêmes (obligatoires) = Requièrent de fortes pressions pour leur croissance



Effets moléculaires des fortes pressions

- La pression diminue la capacité des enzymes à se fixer à leur substrat

Elles doivent se replier de manière à diminuer l'effet de la pression

- Synthèse des protéines et transports membranaires

Plus forte concentration, en acides gras dans les membranes – maintien la fluidité aux fortes pressions

changement de la composition protéique de les membranes externes

Ex. la protéine ompH (outer membrane protein H) est synthétisée sous forte pression mais pas à pression normale

ompH = porines = protéines de structure qui permettent la diffusion de petites molécules au travers de la membrane externe vers le périplasme.

12.3. Sources hydrothermales

Océan profond: fortes pressions et **températures basses**, donc peu de microorganismes (barophiles et barophiles extrêmes)

Exception: **sources hydrothermales (= sources chaudes sous-marines)**

Associées aux zones d'expansion du plancher océanique, au niveau des dorsales, près des plaques tectoniques

Eau de mer pénètre dans fissures, se réchauffe auprès du magma, lessive les roches traversées et rejait du fond de l'océan.

Deux types:

1. Sources de températures modérées: 6-23 °C (eau de mer = 2°C)
2. Sources ultra-chaudes (= **fumeurs noirs**): 270-380 °C



Animaux des sources hydrothermales

Vers tubiformes (2 m de long) – divers mollusques.

Quelles sont leurs sources de C (car pas de producteurs primaires phototrophes) et d'énergie?

Présence de NH_4^+ , HCO_3^- et CO_3^{2-} transformé en C organique par les bactéries chimiolithotrophes --- nutrition des animaux

Les microorganismes des sources hydrothermales

De nombreux chimiolithotrophes sulfo-oxydants dans cheminées hydrothermales et alentours

Thiobacillus, Thiomicrospira, Thiotrix, Beggiatoa

Capables de fixer le CO_2

Capables d'oxyder le H_2S et $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

Bactéries nitrifiantes, hydrogéné-oxydantes, ferro et manganooxydantes, méthylophiles

La nutrition des communautés animales

Beaucoup d'associations symbiotiques spécifiques par animal

Ex. Vers tubiforme pas de tube digestif mais un **trophosome**

= tissus spongiforme (la moitié du poids du vers)

Contient 3.7×10^9 cellules/ g de tissus (bactérie Thiovulum)

Enzyme RubisCo + autres enzymes du cycle de Calvin

Vers se nourrit des cellules mortes et produits excrétés

Bactérie reçoit O_2 et H_2S capturés par le vers

Les fumeurs noirs

Océan profond: pression importante et température d'ébullition de l'eau élevée.

Ex: A 2600 m, eau liquide à 450 °C

Eau surchauffée (350°C) n'est pas un habitat.

Contient des sulfures polymétalliques qui précipitent en se refroidissant pour former les cheminées

Des organismes thermophiles et hyperthermophiles vivent dans le gradient thermique qui se forme entre le fluide et l'eau de mer lors du mélange.

Methanopyrus, Pyrolobus, Pyrodictium (Archae hyperthermophile) vivent dans les parois des cheminées

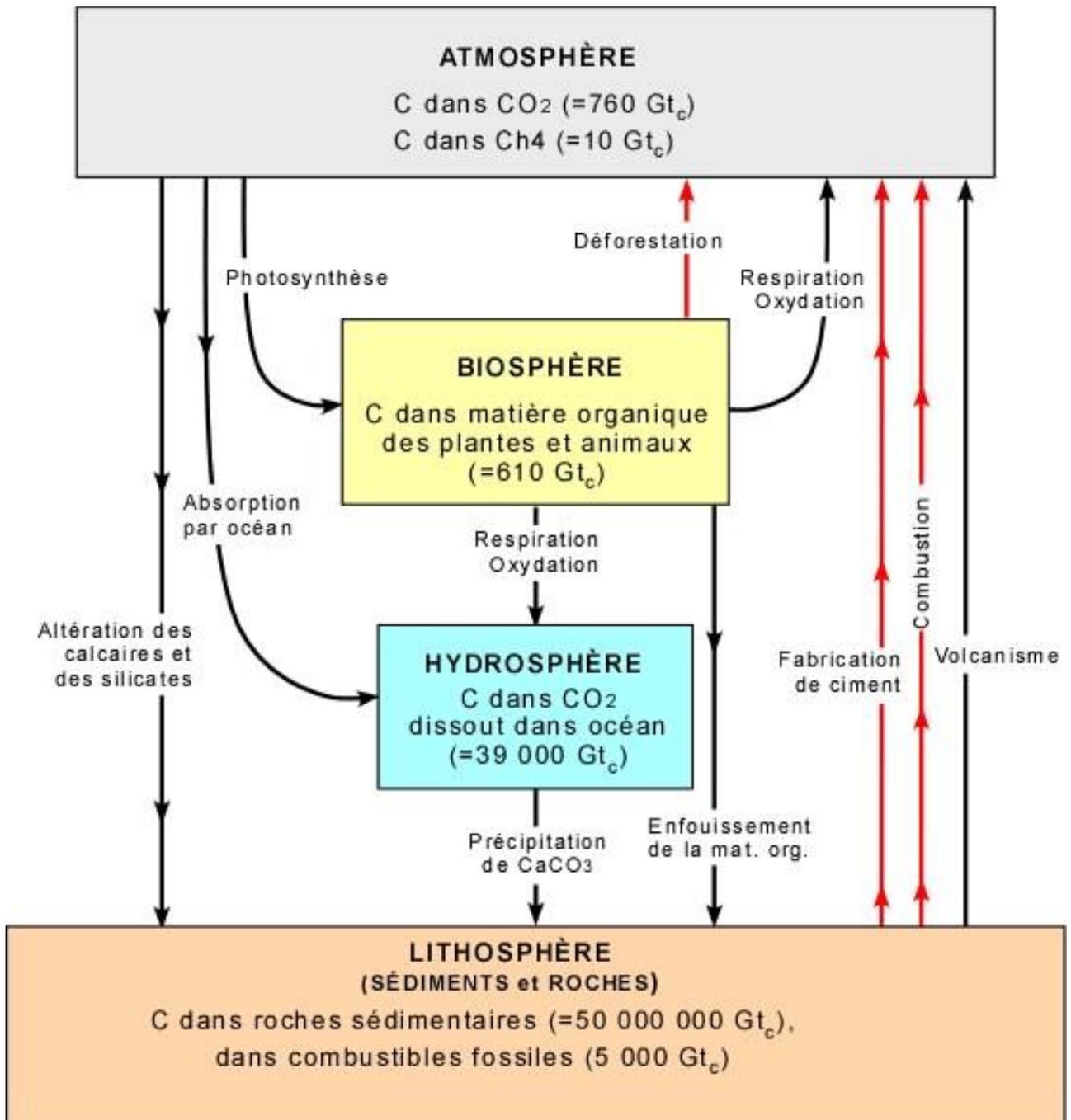
Quand cheminée obstruée: hyperthermophiles dispersés et recolonisent d'autres cheminées en néo-formation.

Ils tolèrent les basses températures pendant ces migrations!

13. Cycle du carbone et de l'oxygène

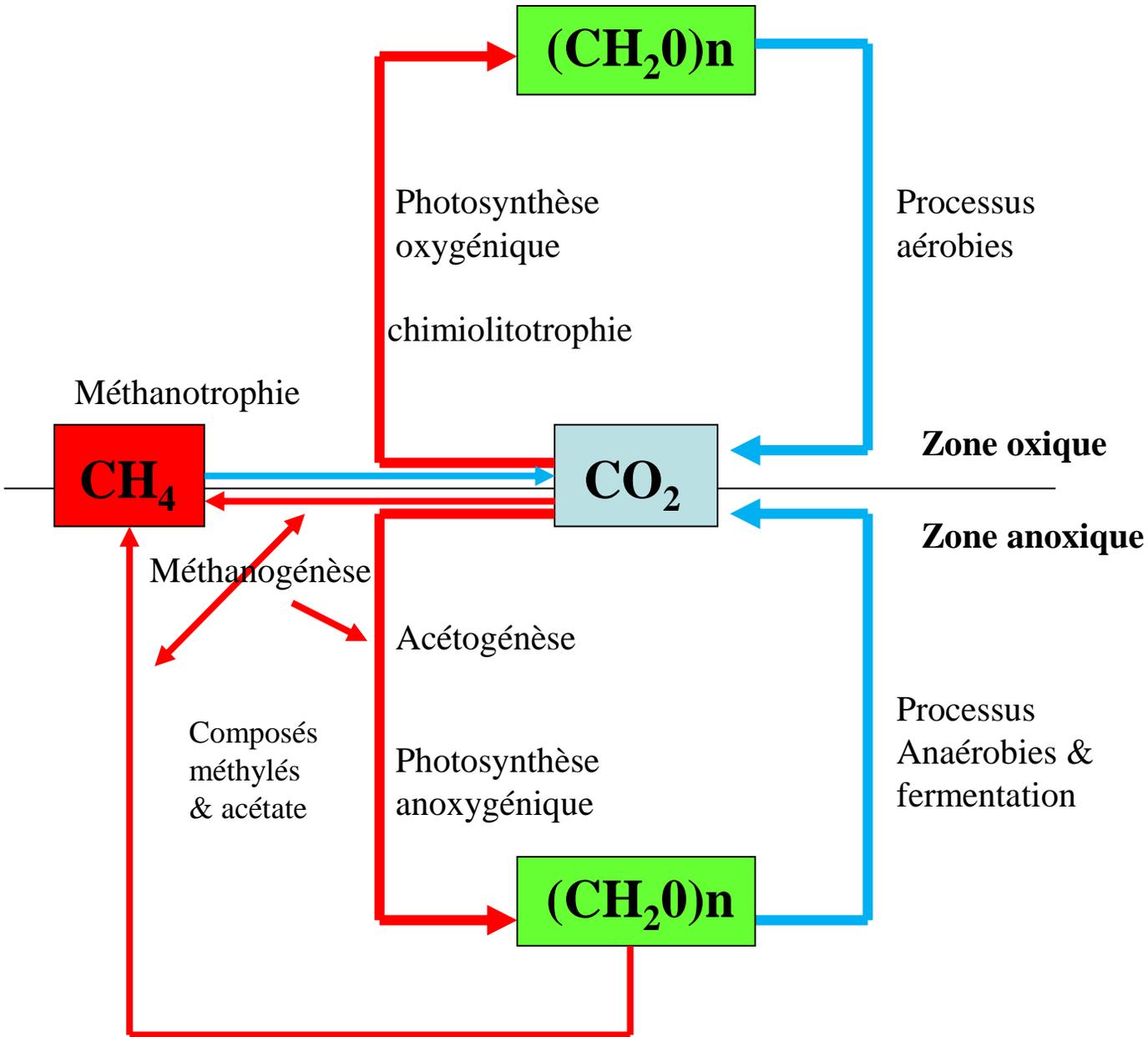
13.1. Cycle du carbone

Les réservoirs du carbone



Valeurs en Gt_c (gigatonnes de carbone),
selon Berner et Berner (1996);
Kump, Kasting et Crane (1999) Prentice Hall

Cycle biogéochimique du carbone



L'importance de la photosynthèse dans le cycle du carbone

Principale voie de synthèse du Corg = photosynthèse et chimiosynthèse

Organismes photosynthétiques à la base du cycle du carbone

Deux groupes: les plantes supérieures (dominant sur terre)

les microorganismes (dominant dans milieux aquatiques)



La respiration

Inverse de la photosynthèse: à partir de l'O₂, elle transforme toute matière organique en CO₂



Bilan positif: photosynthèse > respiration

La décomposition

Le Carbone fixé par la photosynthèse est dégradé par les microorganismes sous deux formes



Le CO_2 est formé par l'activité des chimioorganotrophes (fermentation, respiration aérobie et anaérobie)

En milieu anoxique, le CH_4 est produit par



————→ à partir de composés organiques (ex: acétate, composés méthylés)

Le Méthane produit en conditions anoxique migre vers les environnements oxygénés où il est oxydé en CO_2 par les méthanotrophes

Tout le carbone organique retourne ainsi au CO_2

13.2. Syntrophie et méthanogénèse

Le méthane joue un rôle essentiel dans le flux de C dans les environnements anoxiques

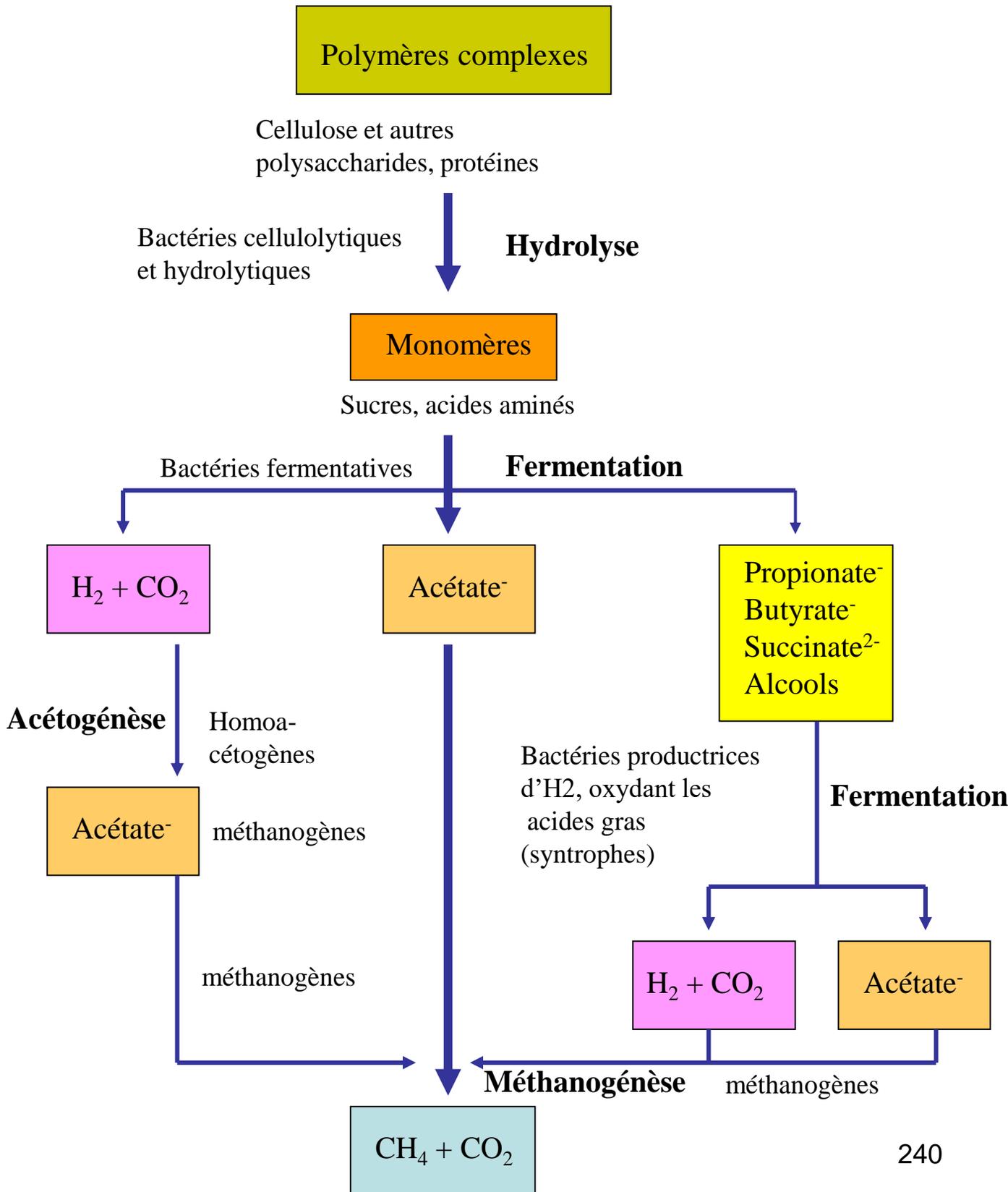
Méthanogénèse réalisée par les Archae méthanogènes (anaérobies stricts).

La plupart des méthanogènes utilisent le CO_2 et l' H_2 pour fabriquer du CH_4 .

Quelques uns utilisent l'acétate (conversion directe).

La plupart des molécules organiques ne peuvent être converties en CH_4 qu'avec l'aide d'autres microorganismes: les syntrophes

Décomposition anaérobie et syntrophie



Le rôle des syntrophes

Organismes clés dans la conversion des composés organiques complexes en méthane.

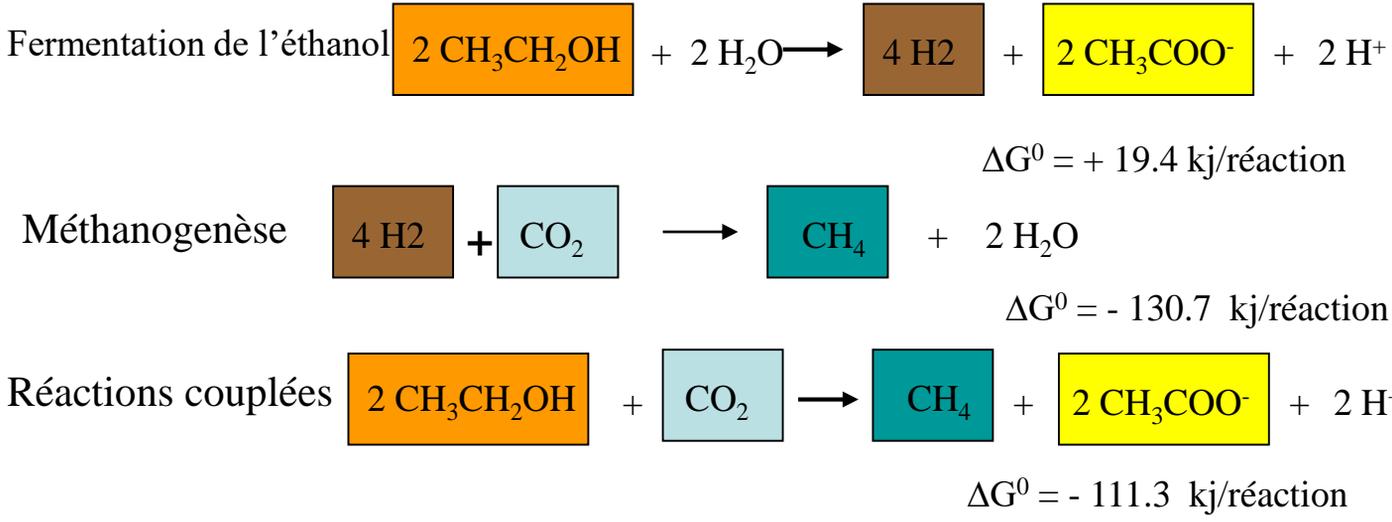
Ce sont des **fermenteurs secondaires** (fermentent les produits de fermentation des fermenteurs primaires).

Ex. *Syntrophomonas wolfei*: oxyde les acides gras pour donner de l'acétate, du CO₂ et de l'H₂

Syntrophobacter wolinii: oxyde le propionate en acétate, CO₂ et H₂

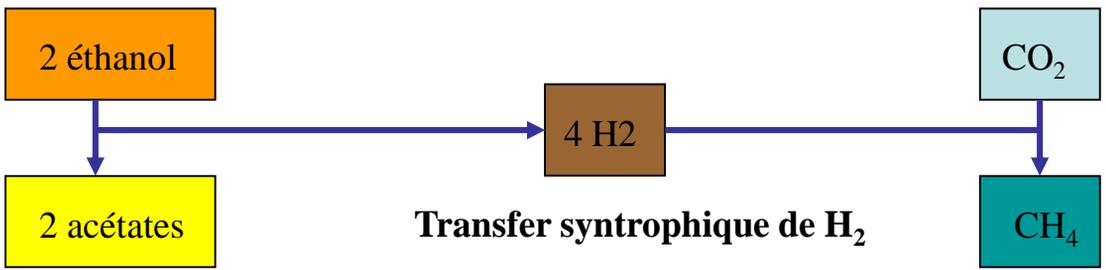
Syntrophus gentianae: dégrade le benzoate en acétate, CO₂ et H₂

ATTENTION: le syntrophe ne peut fonctionner qu'en présence d'un autre organisme pour la consommation d'H₂



Fermenteur d'éthanol

Méthanogène

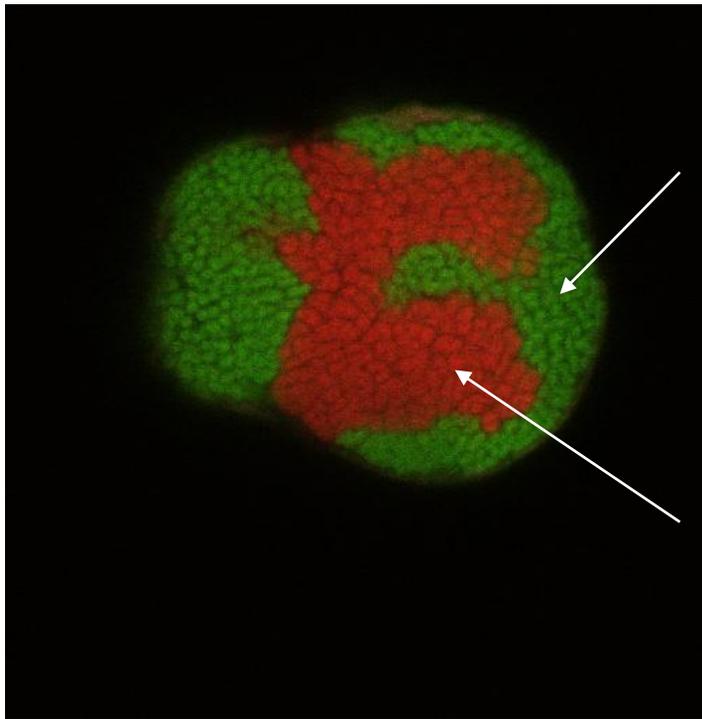


Transfer syntrophique de H₂

L'oxydation anaérobie du méthane

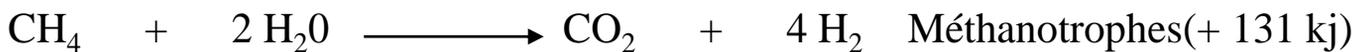
Dans les écosystèmes d'eau douce, le méthane est oxydé en CO_2 par les méthanotrophes lorsqu'il atteint les **zones oxygénées** (nécessitent O_2 pour cataboliser le CH_4)

Ce méthane peut être oxydé **en anaérobie** dans les sédiments par des agrégats cellulaires contenant des bactéries sulfato-réductrices et des méthanotrophes.



Bactéries sulfato-réductrices

Bactéries méthanotrophes



Réaction syntrophique (- 25 kJ)

Les habitats des méthanogènes

Très répandus sur terre

Environnements anoxiques (marais, zones humides, rumen)

Environnements oxygénés (forêts, prairies MAIS micro-environnements anoxiques)

Source	Emission de méthane (10 ¹² g/an)
Biogénique	
Ruminants	80 – 100
Termites	25 – 150
Rizières	70 – 120
Zones humides	120 – 200
Décharges	5 – 70
Océans et lacs	1 – 20
toundras	1 – 5
Abiogénique	
Mines de charbon	10 – 35
Gaz naturels	10 – 30
Pertes industrielles	15 – 45
Combustion de biomasse	10 – 40
Hydrates de méthane	2 – 4
Volcans	0.5
Automobile	0.5
Total	350 – 820
Total Biogénique	302 – 665 (81-86% du total)
Total abiogénique	48 -155 (13 -19% du total)

Les habitats des acétogènes

Acétogénèse = processus rival de la méthanogénèse

Dans certains habitats (rumen): acétogènes faibles compétiteurs

méthanogénèse domine

Dans d'autres habitats (intestin des termites) c'est le contraire

Pourquoi?

1. homoacétogènes plus proches de la source de H_2 que les méthanogènes --- accès privilégié
2. homoacétogènes peuvent fermenter le glucose (provenant de la cellulose)
3. Les termites mangent du bois = mélange de cellulose et de lignine. Lignine favorise l'acétogénèse.

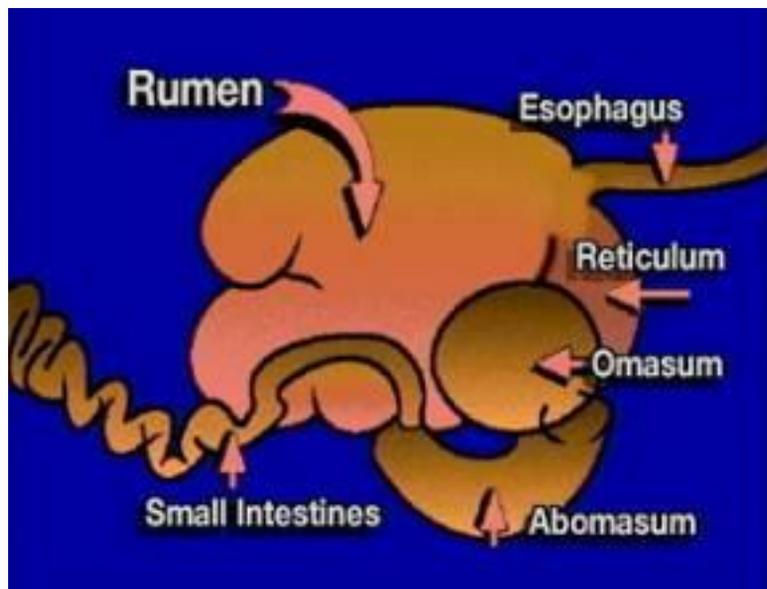
13.3. Cycle du carbone chez les ruminants

Rumen: permet la digestion de la cellulose et autres polysaccharides végétaux par des microorganismes

Les ruminants peuvent métaboliser la cellulose grâce à des microorganismes (agent de la digestion)

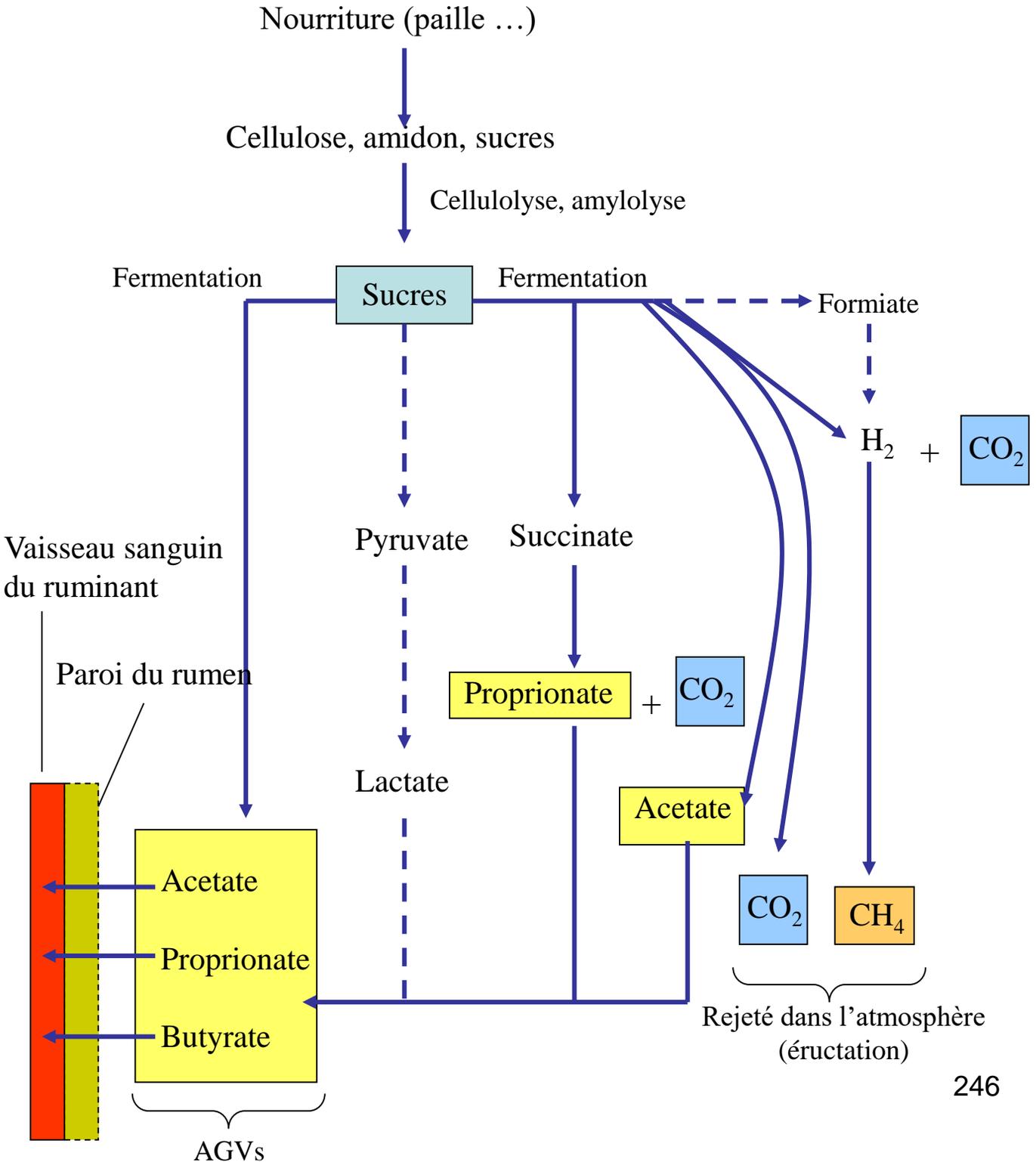
La nourriture va d'abord dans

- le réticulum
- puis dans le rumen (mélangée avec de la salive – mouvement de rotation) – cellulose broyée en fines particules (microorganismes et fermentation)
- De retour dans le réticulum, régurgité dans bouche et remâchées
- Omasum (feuillet)
- Abomasum (caillette) = estomac habituel (acide) – digestion chimique
- se poursuit dans l'intestin grêle et le gros intestin



Fermentation microbienne dans le rumen

$10^{10} - 10^{11}$ bactéries par g de contenu du rumen



Les bactéries du rumen

Grand nombre de bactéries

Milieu anoxique : bactéries anaérobies dominant

Fibrobacter succinogenes & *Ruminococcus albus* hydrolysent la cellulose en sucre (glucose) et fermentent les sucres en AGVs

F. succinogenes: contient une cellulase périplasmique pour casser la cellulose

R. albus: contient une cellulase exo – excrétée dans le rumen

Si régime riche en amidon (graines) --- bactéries amylolytiques dominant

Ruminobacter amylophilus, *Succimonas amylolytica*

Si régime riche en légumineuses (pectines, polysaccharides) --- bactéries pectinolytiques

Lachnospira multiparus

Quelques produits de la fermentation des bactéries saccharolytiques sont utilisées par des fermenteurs secondaires

Succinate est fermenté en proprionate et CO₂ (*Schwarzia*)

Lactate est fermenté en acétate (*Selenomonas*)

L'H₂ produit dans le rumen par fermentation ne s'accumule pas car il est consommé par les méthanogènes

Pas de syntrophes car l'animal utilise les acides gras (proprionate, butyrate) pour sa propre consommation.

Les protozoaires et les champignons du rumen

Presque exclusivement des ciliés ($10^6/\text{ml}$).

Beaucoup sont anaérobies obligatoires.

Certains protozoaires sont capables d'hydrolyser la cellulose et l'amidon, de fermenter des sucres pour former les mêmes acides gras que les bactéries

Protozoaires contrôlent les populations de bactéries (consommation)

Champignons anaérobies généralement flagellés.

Peuvent fermenter la cellulose en acides gras

Ex. Neocalimastix fermente le glucose en formate, acétate, lactate, éthanol, CO_2 , H_2

Les champignons jouent aussi un rôle dans la dégradation de la lignine

14. Autres cycles biogéochimiques majeurs

14.1. Cycle de l'azote

Azote : élément le plus déficient dans les systèmes de production agricole.

La concentration de N dans la plante (N total) : 1 à 6%.

Si teneur < 1% : symptômes de carence

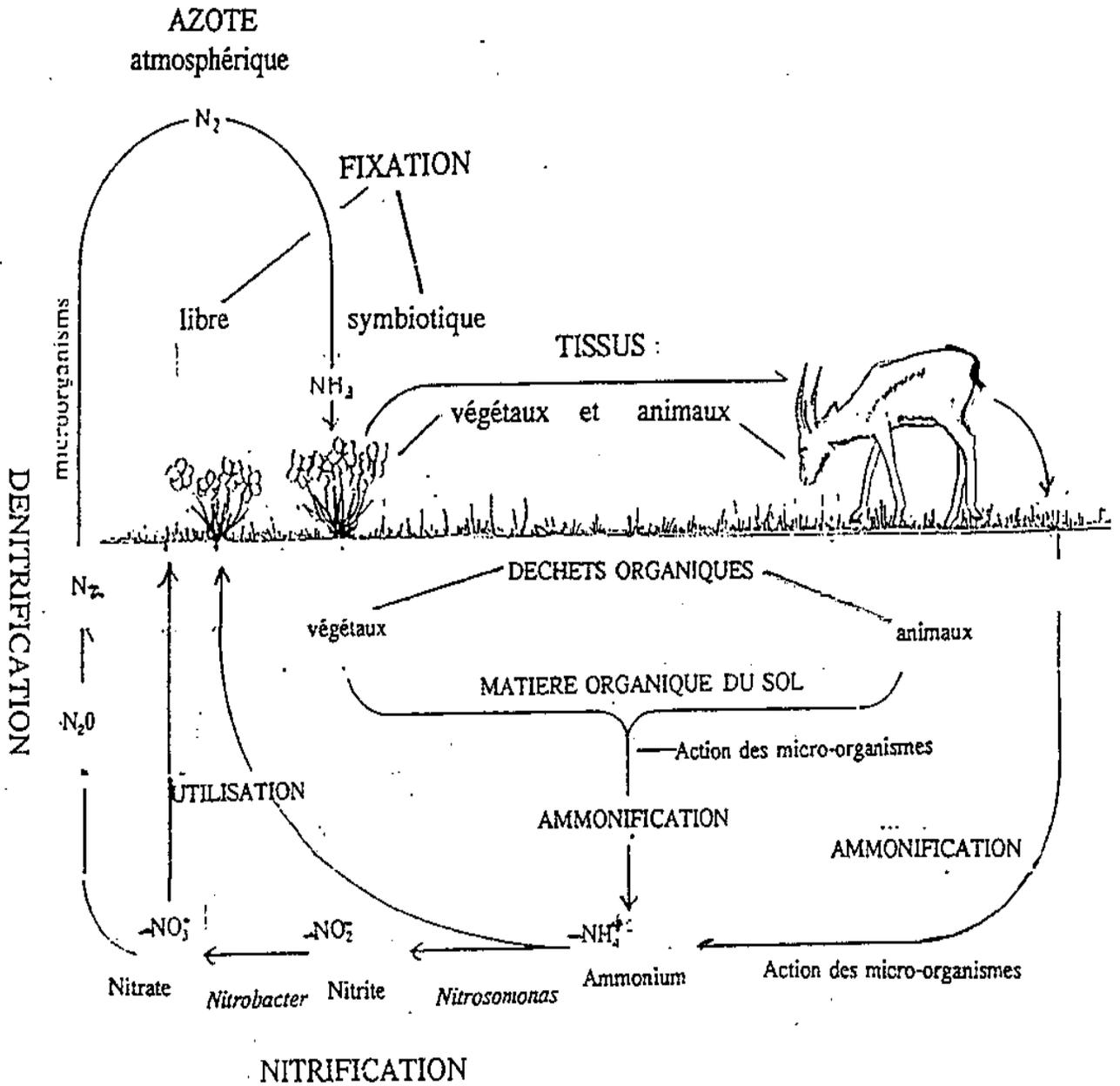


Carence azotée d'une céréale (cliché: W. Bienz, SIL Zollikofen)



Carence azotée du maïs (cliché: Centre d'Etude de l'Azote, Zurich)

Complexe et dynamique



Microorganismes : Fixation biologique N gazeux
 Nitrification
 Dénitrification

Fixation biologique de l'azote gazeux

Seuls quelques microorganismes diazotrophes sont capables d'assurer ce processus:

1. les bactéries libres vivant dans le sol
2. Les bactéries symbiotiques vivant en association avec les légumineuses dans des nodosités.

1. Microorganismes impliqués dans la fixation biologique de l'azote atmosphérique

Type de fixation	Phototrophes	Chimiotrophes
Fixation libre Aérobie	Cyanobactéries	Azotobacter Mycobacterium Thiobacillus
Fixation libre Anaérobie	Cyanobactéries Bactéries pourpres Bactéries vertes	Clostridium Klebsiella Bacillus Desulfovibrio Desulfotomaculum Bactéries méthanogènes
Symbiotique Aérobie	Cyanobactéries	Rhizobium Azospirillum Frankia
Symbiotique Anaérobie	Inconnu	Citrobacter

Mécanisme

Réaction globale :



La fixation biologique de l'azote est catalysée par un complexe enzymatique : la *Nitrogénase/Hydrogénase*.

La réaction, réalisée par les fixateurs biologiques, exige

8 électrons et 8 protons pour la réduction,
16 ATP pour la fourniture de l'énergie d'activation.

La réaction globale devient :



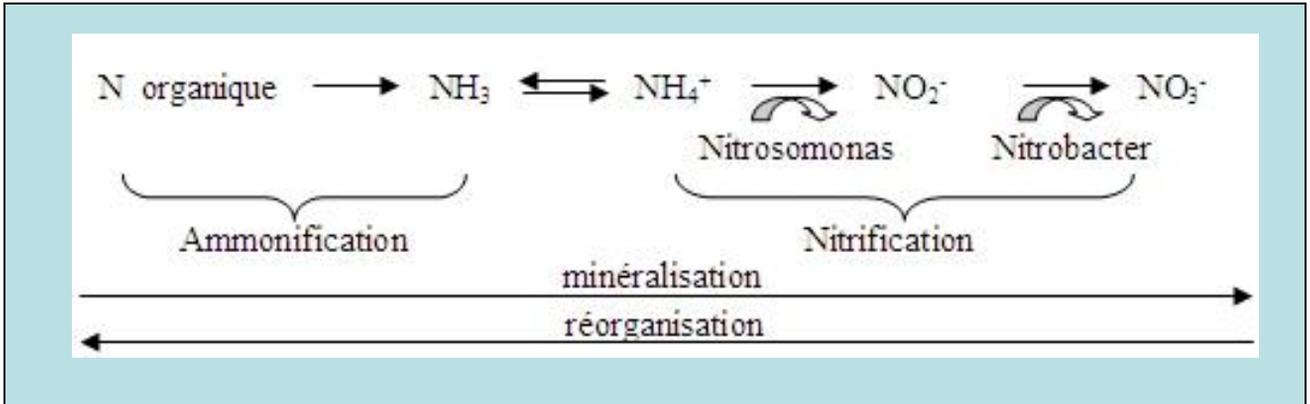
La formation de l'ammoniac s'accompagne toujours de celle d'hydrogène.

Les électrons proviennent :

- de NADH, H⁺ ou/et FADH₂ fournis par les processus cataboliques (cycle de Krebs, etc.)
- de la ferrédoxine

Minéralisation de la matière organique du sol

La minéralisation de l'azote organique en azote minéral utilise plusieurs réactions chimiques catalysées par différentes enzymes microbiennes.



1. L'**ammonification** est dirigé par des peptidases et des protéases qui transforment l'azote organique en ammoniacque.

2. La **nitrification**: implique les bactéries Nitrosomonas et Nitrobacter, qui conduit à la formation de nitrate, composé final de la minéralisation.

La **minéralisation** est presque toujours accompagnée d'**immobilisation**, mais peut également être accompagnée de **dénitrification**

3. La **dénitrification**: libération de N_2 ou N_2O dans l'atmosphère à partir de NO_3^- .

Nitrification

Conversion de l'ammonium en nitrate, en passant par la formation intermédiaire de nitrite.

1. Réactions métaboliques :



Organisme responsable : *Nitrosomonas* sp.

Donneur d'électron : NH_4^+

Accepteur d'électron : O_2



Organisme responsable : *Nitrobacter* sp.

Donneur d'électron : NO_2^-

Accepteur d'électron : O_2

Organismes responsables de la nitrification

Genres	Espèces	Habitat
Oxydants d'ammonium en nitrite		
Nitrosomonas	europa	Sol, eau
Nitrospira	briensis	Sol
Nitrosococcus	nitrosus	Mer
	oceanus	Mer
	mobilis	Sol
Nitrosovibrio	tenuis	Sol
Oxydants de nitrite en nitrate		
Nitrobacter	winogradskyi	Sol
	agilis	Sol, eau
Nitrospira	gracilis	Mer
Nitrococcus	gracilis	Mer

Dénitrification

Processus qui retourne l'N qui se trouve dans le sol sous forme de NO_3^- , à l'atmosphère sous forme de N_2 gazeux.

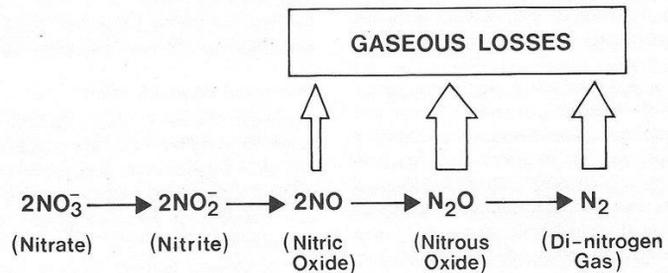
La dénitrification est réalisée par des bactéries anaérobies et est favorisée par l'engorgement du sol en eau qui crée des conditions anaérobies.

Les quantités d'azote perdues par dénitrification peuvent représenter 10 à 30% de la dose d'azote apportée.

Des bactéries du type *Pseudomonas* opèrent la dénitrification.

Elles vont réduire l'ion nitrate NO_3^- , en ion nitrite NO_2^- , puis en monoxyde d'azote NO , après en N_2O et enfin en diazote N_2 , qui va s'échapper ensuite du sol par volatilisation, pour rejoindre cette dernière.

1. Réactions métaboliques



Les *Pseudomonas* sp.



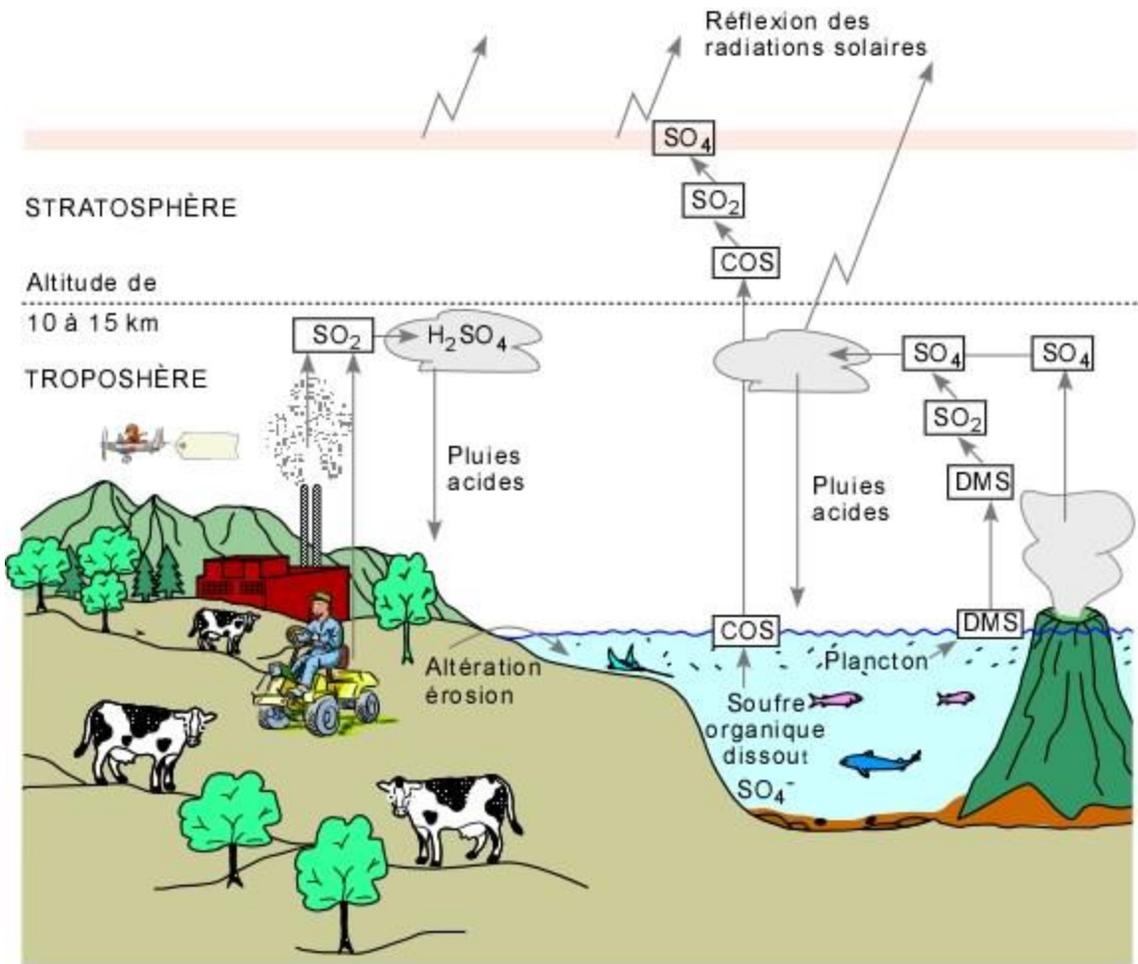
Thiobacillus denitrifians



14.2 Cycle du soufre

Les principales formes de S rencontrés sont :

1. dans l'atmosphère, à l'état gazeux:
 - le soufre réduit comme dans le diméthylsulfure (acronyme: DMS) dont la formule chimique est CH_3SCH_3 et le carbonyl de sulfure COS.
 - le dioxyde de soufre SO_2 .
 - les sulfates en aérosols SO_4 .
2. dans les systèmes aquatiques et terrestres: les composés majeurs sont les sulfates dissouts SO_4^- dans les sédiments et les roches sédimentaires:
 - les sulfures métalliques, surtout la pyrite FeS_2 .
 - les évaporites: gypse $\text{CaSO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ et anhydrite CaSO_4 .
 - les matières organiques.



Cycle océanique:

DMS = produit naturel issu de la décomposition du phytoplancton dans la couche supérieure de l'océan.

Il s'échappe dans l'atmosphère pour former moins de 1% de la totalité des gaz atmosphériques.

Il a une influence sur les climats. Il est rapidement (2-3 j) oxydé en SO_2 puis SO_4 qui condense en minuscules particules aérosols. Celles-ci agissent comme noyaux pour la formation de gouttes de pluie et de nuages. Ces nuages vont réfléchir une partie du rayonnement solaire et ainsi tempérer le réchauffement de la Planète. Mais ils vont aussi éventuellement contribuer à des précipitations acides à cause de la²⁵⁸ réaction des aérosols avec la vapeur d'eau et les radiations solaires.

Le carbonyle de sulfure **COS** est produit à partir du soufre organique dissous dans l'eau de mer et acquis en partie de l'érosion continentale.

Il s'échappe par la surface des océans vers l'atmosphère.

- inerte dans la troposphère.
- S'oxyde en sulfates dans la stratosphère pour former une couche tout autour de la Planète. Tout comme les nuages de la troposphère, cette couche de sulfates en aérosols va réfléchir une partie du rayonnement solaire, avec le même effet de modération sur le réchauffement de la Planète.

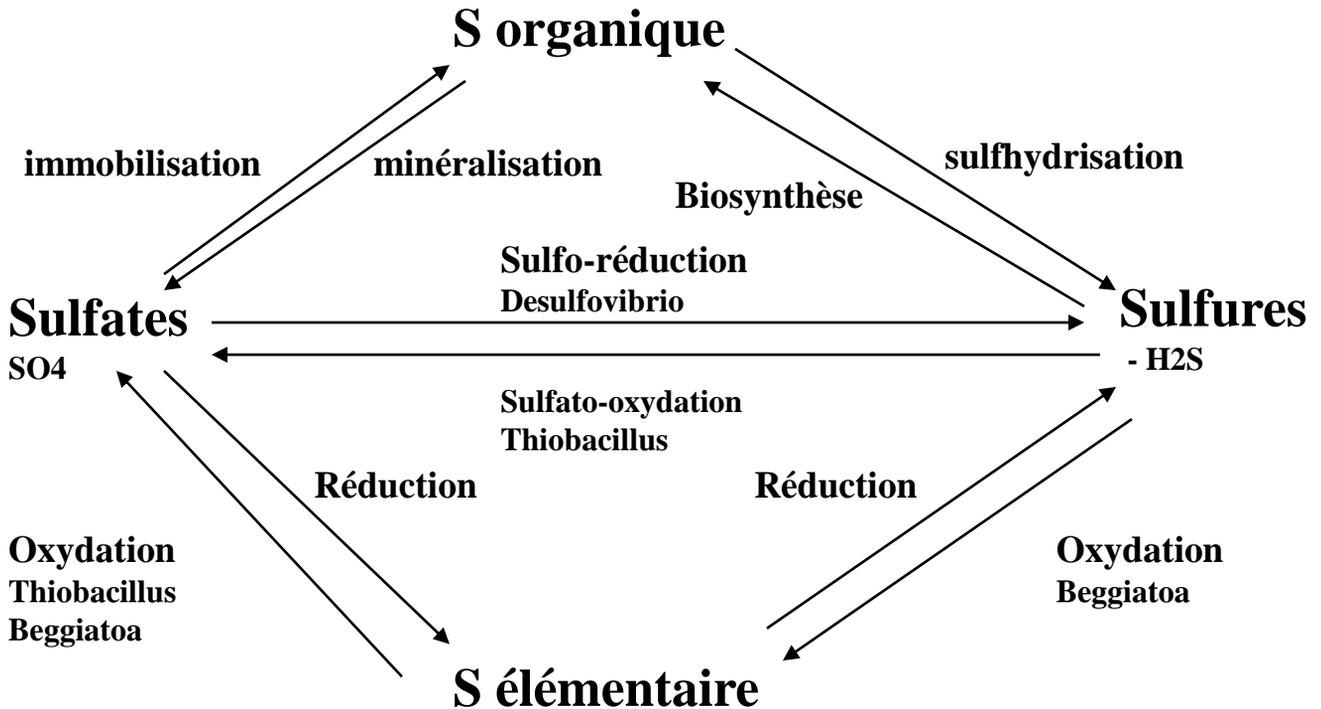
Autre influence naturelle importante : **les volcans**

- ils émettent des sulfates SO_4 en aérosols qui viennent s'ajouter à ceux qui sont issus du DMS.
- Couplées aux émissions de cendres créant un effet de voile, ces émissions de sulfates peuvent résulter en des refroidissements à très court terme. (Ex le Pinatubo aux Philippines - éruption en 1991 – a abaissé la température planétaire moyenne de 1 °C pendant une année dû à l'effet combiné des cendres et du SO_4 .)

Cycle au niveau des continents:

- l'altération et l'érosion des sulfures métalliques, ainsi que le transport de poussières de sulfates (gypse et anhydrite) dans les déserts transfèrent du soufre aux océans.
- Les gaz biogéniques des sols anaérobies et des marécages contiennent aussi du H_2S , ainsi que du DMS et COS en moindre quantité, lesquels sont libérés dans l'atmosphère.
- La plus grande contribution en composés sulfurés vient de la combustion des pétroles et des charbons qui contiennent pratiquement toujours du soufre.
 - Ce sont des émissions de SO_4 , mais surtout de SO_2 . Ce dioxyde sous l'effet des radiations solaires se combine avec la vapeur d'eau et les radicaux OH pour former de minuscules gouttes de H_2SO_4 (acide sulfurique), un processus en partie responsable des pluies acides.
 - Le flux anthropique de ces gaz excède par endroits de beaucoup le flux naturel. On peut dire que globalement le flux principal dans l'échange de soufre entre la surface de la Planète et l'atmosphère est celui d'origine anthropique relié à la combustion des hydrocarbures et des charbons.

Cycle de transformation dans les sols



1. Minéralisation

Sous l'action de bactéries et champignons.

Composés organiques soufrés (déchets organiques, ...) sont convertis en sulfates ou sulfures ou produits volatils.

Dans le cas de sulfures, on parle de sulphydrisation

En milieu aéré : minéralisation donne surtout des sulfates.

En milieu confiné (anaérobiose) : minéralisation donne des sulfures ,
H₂S.

2. Immobilisation

Les composés minéraux du S peuvent être consommés par les micro-organismes pour des synthèses cellulaires = immobilisation du S.

détourne une source non négligeable de S assimilable par la plante (cas des sulfates seule source utilisable directement par la plante).

3. Oxydation des formes réduites du S

Les sulfures, le S élémentaire peuvent être transformés en sulfate par certains micro-organismes (= **sulfo-oxydation**).

Ex. Thiobacillus



4. Réduction des sulfates

Inverse de la réaction précédente

Milieux confinés (hydromorphes), les sulfates sont réduits en sulfures ou soufre élémentaire réduit en sulfures.

Ex. Desulfovibrio

Ex. Desulfotomaculum

anaérobies strictes – consomment des substrats organiques

14.3. Cycle du fer

Un des éléments les plus abondants de la croûte terrestre

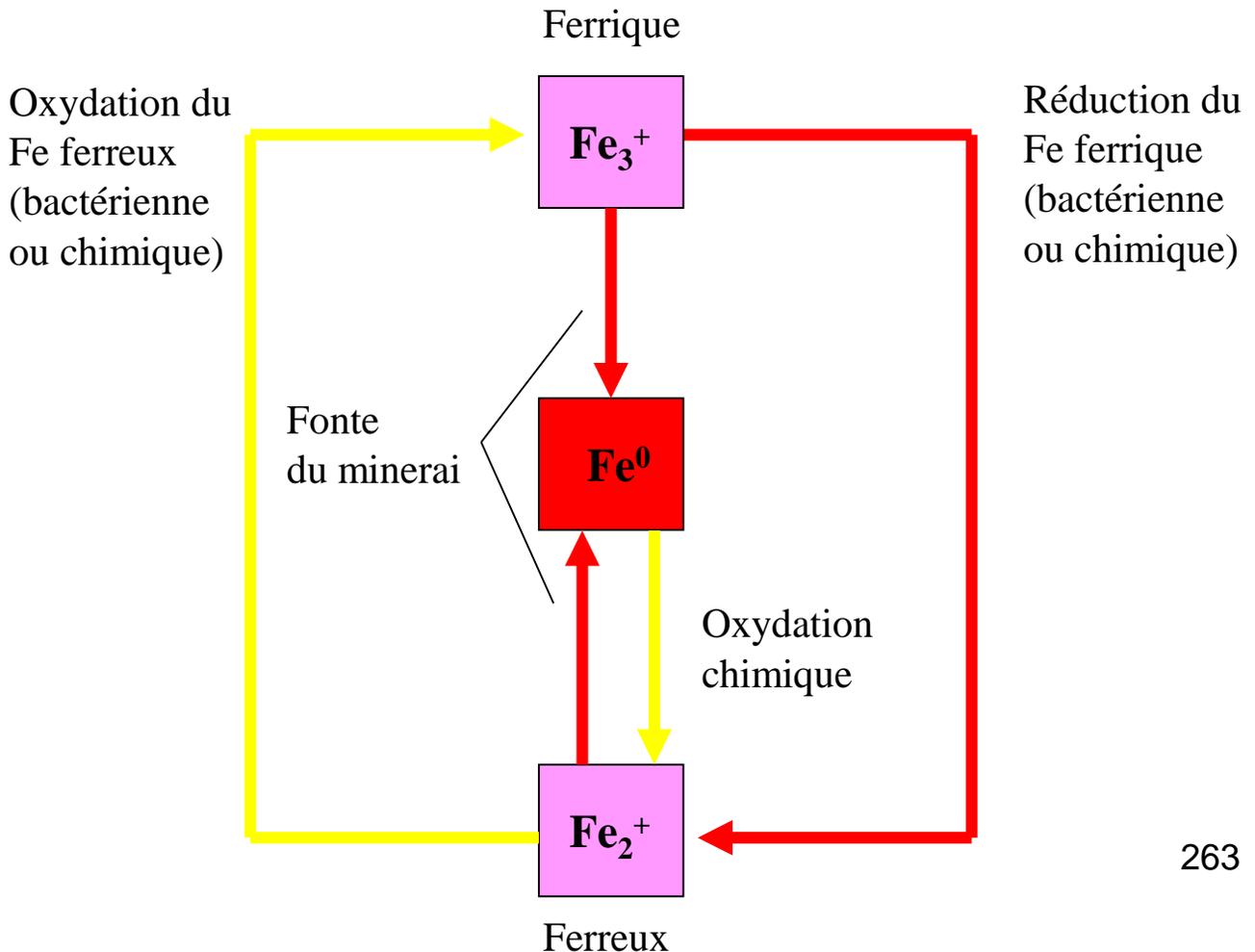
Le Fe existe sous deux formes dans la nature:

Fer ferreux (Fe_2^+)

Fer ferrique (Fe_3^+)

Attention: Fe^0 est un produit de l'activité humaine (fonte de minerai)

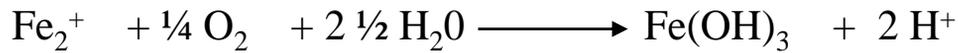
Réduction de Fe_3^+ et oxydation de Fe_2^+ se fait chimiquement et biologiquement



La réduction bactérienne du Fe

Réduction Fe ferrique commune dans les sols gorgés d'eau, marais, sédiments des lacs anoxiques

Quand le Fe ferreux atteint les zones oxygénées, il est oxydé en Fe ferrique (chimiquement ou par des bactéries ferro-oxydantes).



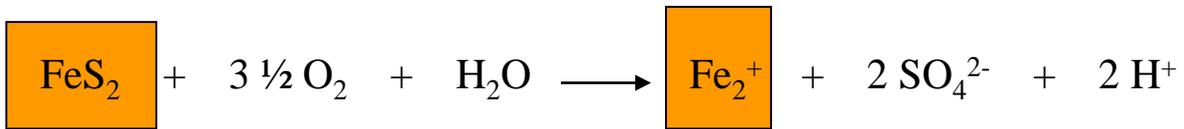
Acidithiobacillus ferrooxidans

Dépôts bruns verts

Fe ferreux et oxydation de la **pyrite** à pH acide

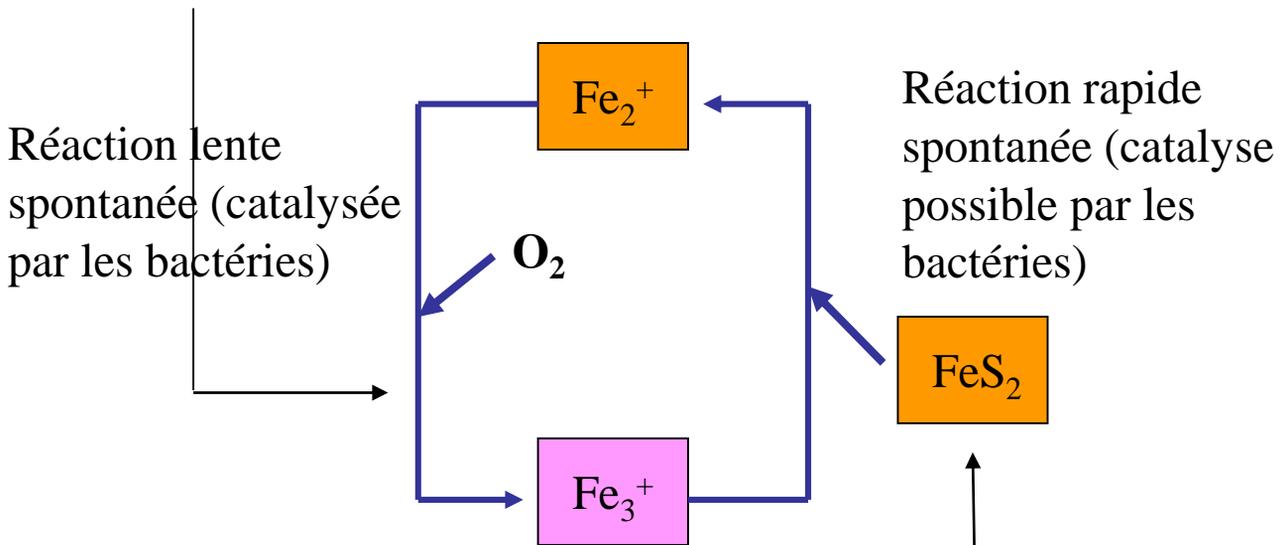
Une des formes les plus communes du Fe dans la nature

Très commune dans les charbons bitumeux



Réaction d'initiation

Réaction spontanée
(catalyse possible
par les bactéries)



Cycle de propagation



Les effluents miniers acides

Oxydation bactérienne des sulfures minéraux est la principale cause des effluents miniers acides (problème d'environnement dans les régions à mines de charbon)

Dégradation de la qualité des eaux par mélange d'eau minières acides et d'eau naturelles

toxicité pour organismes aquatiques

insalubrité à la consommation ou industrie

Dégradation de la pyrite entraîne formation acide sulfurique (pH souvent < 1)

L'acide formé attaque d'autres minéraux (Aluminium solubilisé à pH acide). Très toxique

Si charbon pas exploité (pas d'oxydation de pyrite car pas d' O_2 et les bactéries ne peuvent pas l'atteindre)

Dès que le charbon est exposé ($O_2 + H_2O +$ contamination par *Acidithiobacillus ferrooxidans*)

oxydation de la pyrite et écoulement dans rivières

15. Bioremédiation microbienne

15.1. Biolixiviation des minerais

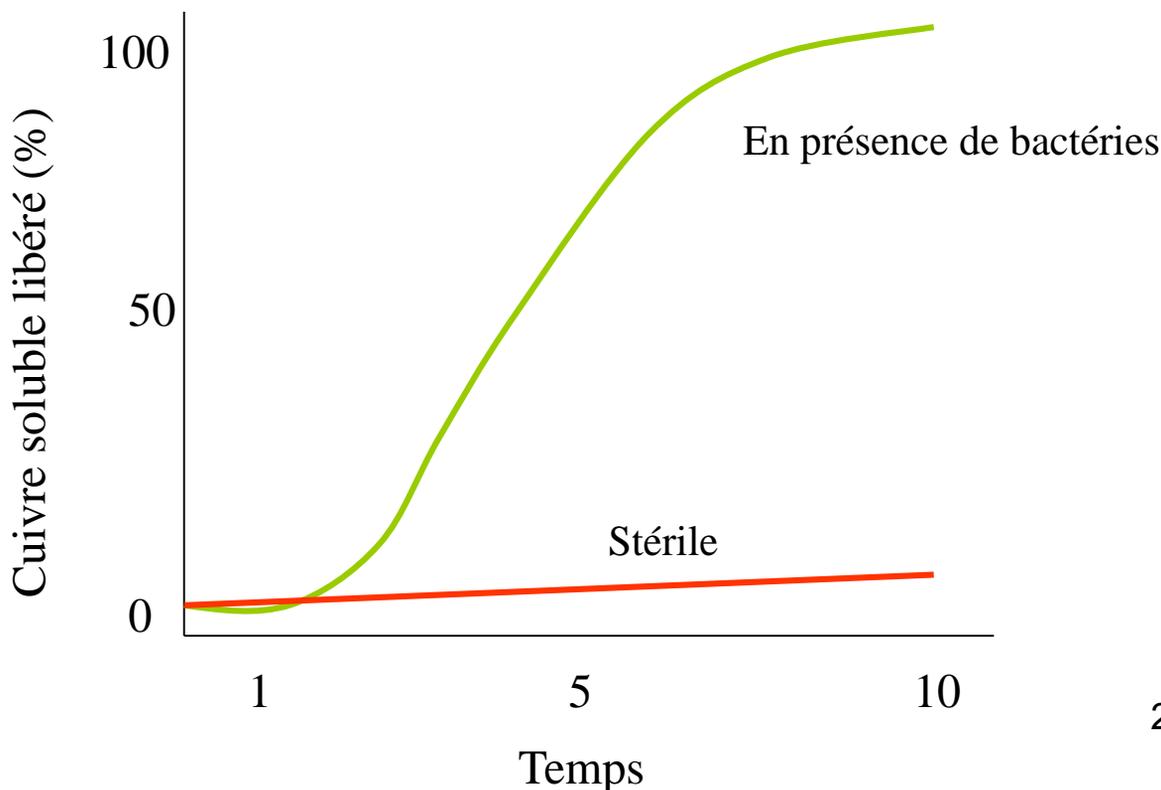
Un grand nombre de minerais contenant des métaux sont des sulfures.

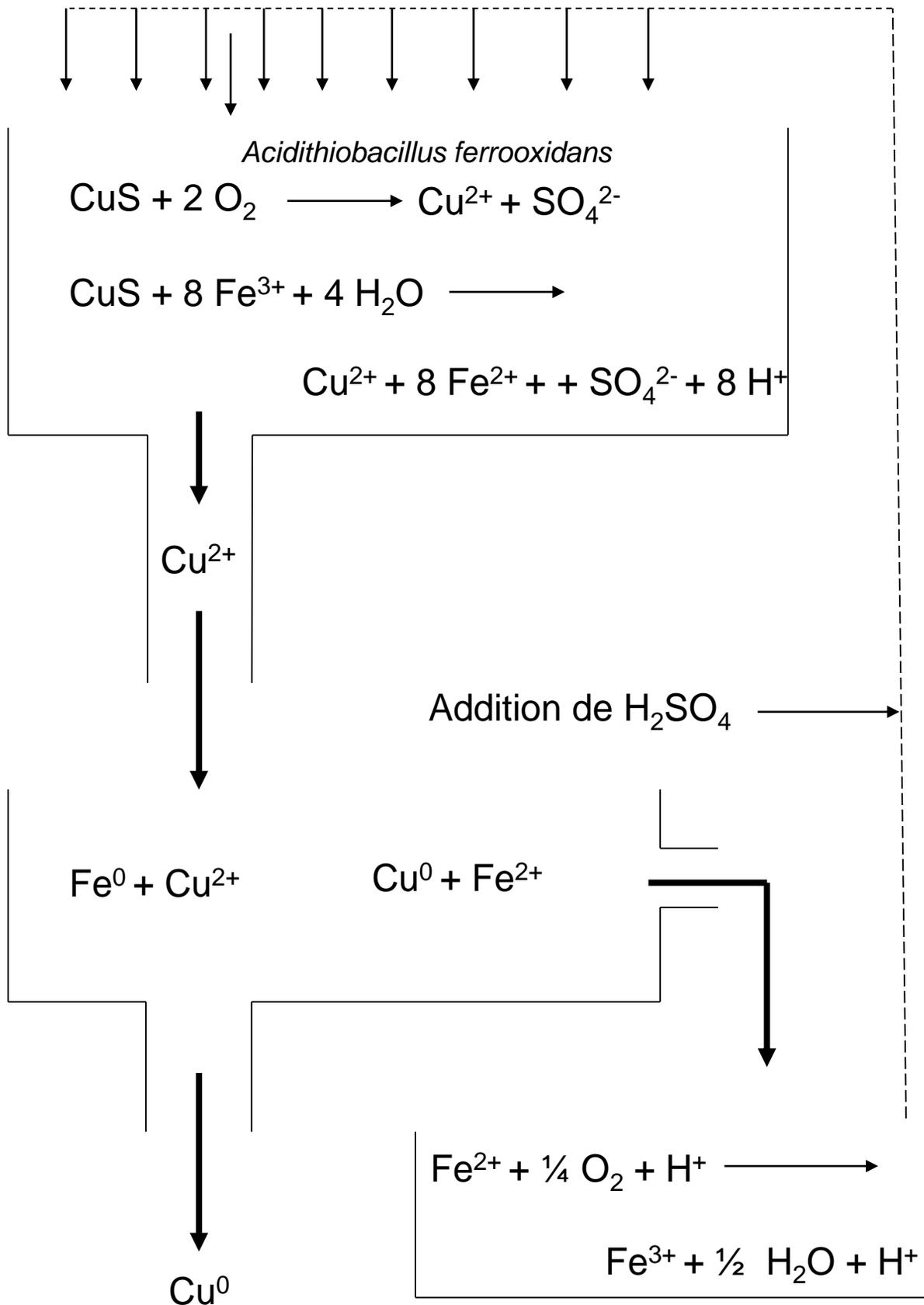
Si la concentration du métal est faible, l'extraction par voie chimique peut être coûteuse.

La solution: lixiviation par les microorganismes.

Largement appliquée pour les minerais de cuivre (1/4 de tout le Cu mondial)

Effet de la bactérie *Acidithiobacillus ferrooxidans* sur la lixiviation du cuivre à partir de Covellite (CuS)





15.2. Biodégradation du pétrole

Beaucoup de bactéries, levures, cyanobactéries, algues vertes peuvent oxyder le pétrole en aérobiose.

Suite à des pollutions (activités humaines), ces microorganismes peuvent dégrader ces hydrocarbures.

Le méthane est catabolisé uniquement par les méthanotrophes. Ils ne peuvent pas dégrader des hydrocarbures plus lourds.

Les bactéries se fixent sur les gouttelettes d'hydrocarbures (pétrole en surface de l'eau) qu'ils dispersent.

Les microorganismes dégradent le pétrole en l'oxydant en CO_2

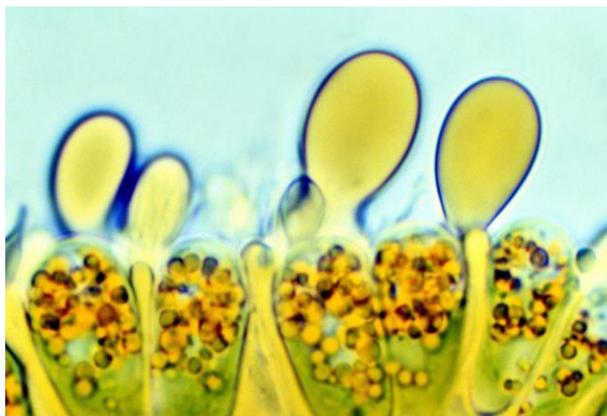
En une année (expérience en conditions de labo) 80% des hydrocarbures peuvent être dégradés.

Le pétrole mélangé aux sédiments se dégrade plus lentement (moins d' O_2)

Certains microorganismes peuvent produire des hydrocarbures.

Ex. l'algue verte *Botryococcus braunii* excrète des composés carbonés à longue chaîne (30 à 36 C).

Chez cette algue, 30% du poids sec est composé d'hydrocarbures et elle a été envisagée pour la production de sources alternatives de pétrole.



15.3. Biodégradation des xénobiotiques

Xénobiotiques = composés chimiques de synthèse

pesticides
PCB (polychloro-biphényles)
munitions
colorants
solvants chlorés...

La catabolisme des pesticides

Xénobiotiques les plus largement distribués. Plus de 1000 pesticides sur le marché (herbicides, insecticides, fongicides...)

Familles chimiques variées (chlorés, composés azotés, phosphorés...)

Certaines substances peuvent être attaquées par les microorganismes

- permet d'éviter l'accumulation dans les sols
- certains persistent de longues années – d'autres sont dégradés en quelques jours

La dégradation dépend de nombreux paramètres (pH, aération...)

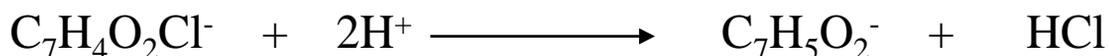
aussi de paramètres non microbiens (lessivage, évaporation, dégradation chimique...)

La respiration anaérobie des composés chlorés

La **déchloration réductrice** = forme de respiration anaérobie

= retrait de chlore sous forme de Cl^- d'un composé organique par réduction de l'atome de carbone de C-Cl en C-H

Ex: La réduction du chlorobenzoate en benzoate



La déchloration utilisée pour les PCBs, les composés bromés et soufrés.

Certains de ces composés ont été associés au cancer (ex: trichloroéthylène). Utilisé comme solvant industriel, agents dégraissants et isolants...

Problèmes de contamination des nappes phréatiques.

La biodégradation des plastiques

Le devenir des déchets solides (plastiques) est crucial pour des questions environnementales

L'industrie des plastiques = 40 millions de tonnes/an

Plastiques = polymères: polyéthylène, polypropylène, polystyrène...

Inaltérable pendant des décennies dans les décharges

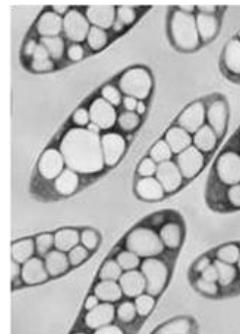
Recherche de substituts biodégradables : les biopolymères (amidon, plastiques microbiens)

- Plastiques photobiodégradables = polymères dont la structure est dégradée par la lumière UV et donne des polymères sensibles à l'attaque microbienne
- Polymères à base d'amidon: dégradation par les bactéries amylolytiques du sol
- Plastiques synthétisés par voie microbienne: polymères de stockage du carbone

PHA: poly- β -hydroxyalcanoate

PHB: poly- β -hydroxybutyrate

PHV: poly- β -hydroxyvalérate



Grand succès commercial mais supplanté par les dérivés du pétrole.

16. Interactions entre plantes et microorganismes

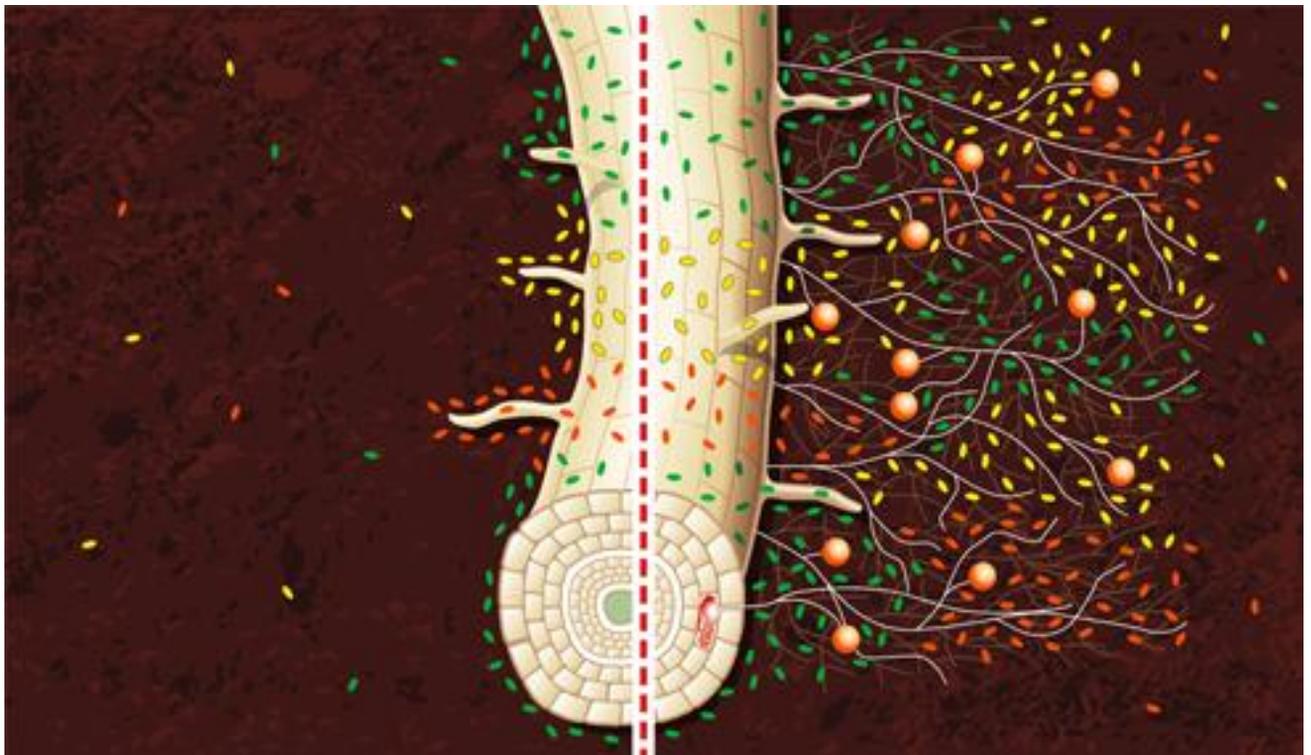
16.1. L'environnement des plantes

Phyllosphere



B) Electron micrograph showing bacteria on the surface of an Arabidopsis leaf.
Picture: G. Innerebner and R. Wepf (EMEZ). Coloring by G. Innerebner (Vorholt lab).

Rhizosphere



Rhizosphere et mycorrhizosphere (photo courtesy of Plant Health Care, Inc.)

16.2. Lichens et mycorrhizes

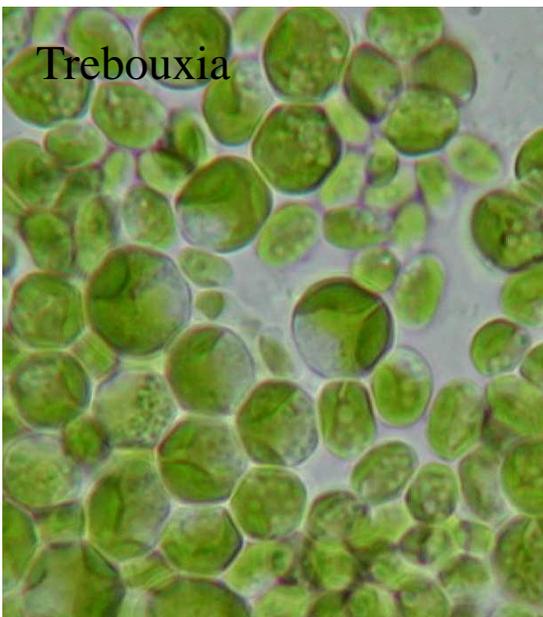
1. Lichens

Symbiose entre un champignon (majoritairement *Ascomycète* plus rarement *Basidiomycète* ou *Deutéromycète*) et une algue verte ou une *cyanobactérie, autotrophes* (chlorophylliens).

- Trebouxia (80%) algue unicellulaire
- Trentepohlia algue filamenteuse
- Cyanobactérie filamenteuse (Nostoc)

= 90% des **photobiontes**

- 40% des ascomycètes (15-20000 espèces décrites)
- 1/5 des champignons connus
- Résistants aux conditions extrêmes



Caractéristiques du thalle

On distingue trois types de lichens selon l'aspect global de leur thalle.

1. Lichen crustacé: thalle fortement plaqué au support, formant une croûte.
2. Lichen foliacé: thalle formant de petits lobes arrondis, comme de petites feuilles qui s'écartent un peu du support.
3. Lichen fruticuleux: thalle formant des prolongements plus ou moins longs, redressés ou pendants.



Autres caractéristiques

1. Résistants aux conditions extrêmes (teneur en eau de 2% - températures de -70° à $+70^{\circ}$ c).
2. Croissance excessivement lente: certaines espèces quelques centièmes de mm par an !
3. Grande longévité : certaines colonies > 4000 ans.
4. Indicateur de pollution
5. Alimentation: rennes, caribous
6. Industrie teinturière: teintes de bleu, pourpre (rouge violacé) et violet sont données par la pabelle d'Auvergne, *Ochrolechia* (*Lecanora*) *parella*, l'oseille des Canaries (*Roccella tinctoria*).

2. Les mycorhizes

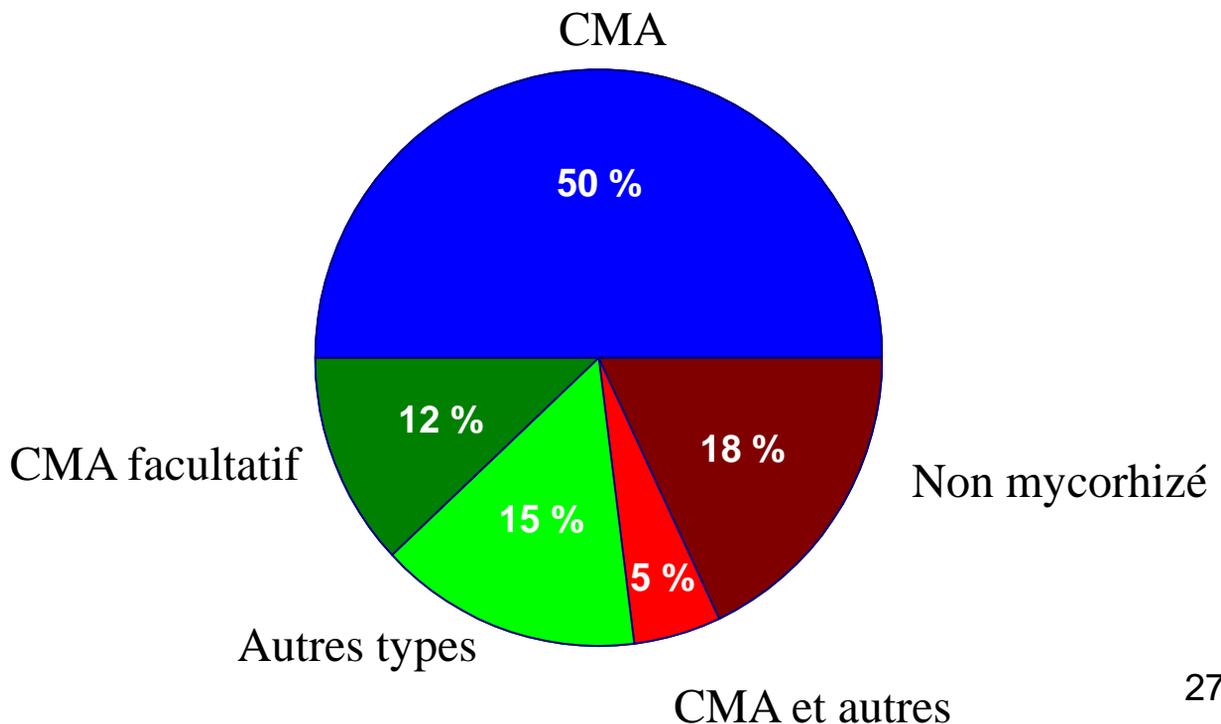
Association symbiotique entre le système racinaire de la plupart des plantes vasculaires et des champignons du sol.

Types de mycorhizes

Sept types sont généralement reconnus :

1. Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA)
2. Les champignons ectomycorhiziens (ECM)
3. Les champignons ectendomycorhiziens
4. Les mycorhizes des éricacées
5. Les mycorhizes arbutoides
6. Les mycorhizes monotropoides
7. Les mycorhizes des orchidées

Proportion des angiospermes mycorhizés





Quercus robur



Tuber macrosporum



Oryza sativa



Glomus intraradices

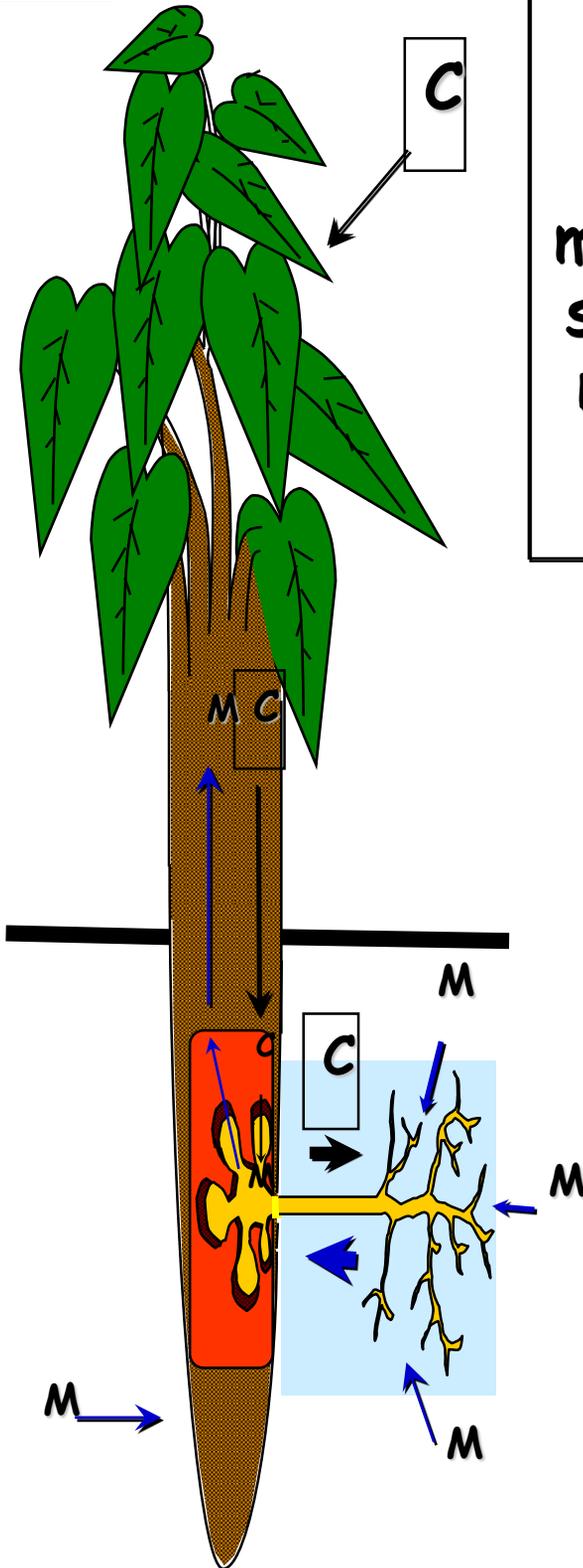


Sarcodes sanguinea



Russula brevipes

FONCTION



MYCORRHIZAS:

"...a symbiosis in which an external mycelium of a fungus supplies soil derived nutrients to a plant root."

(Smith and Read, 1997)

La symbiose accroît la biomasse végétale

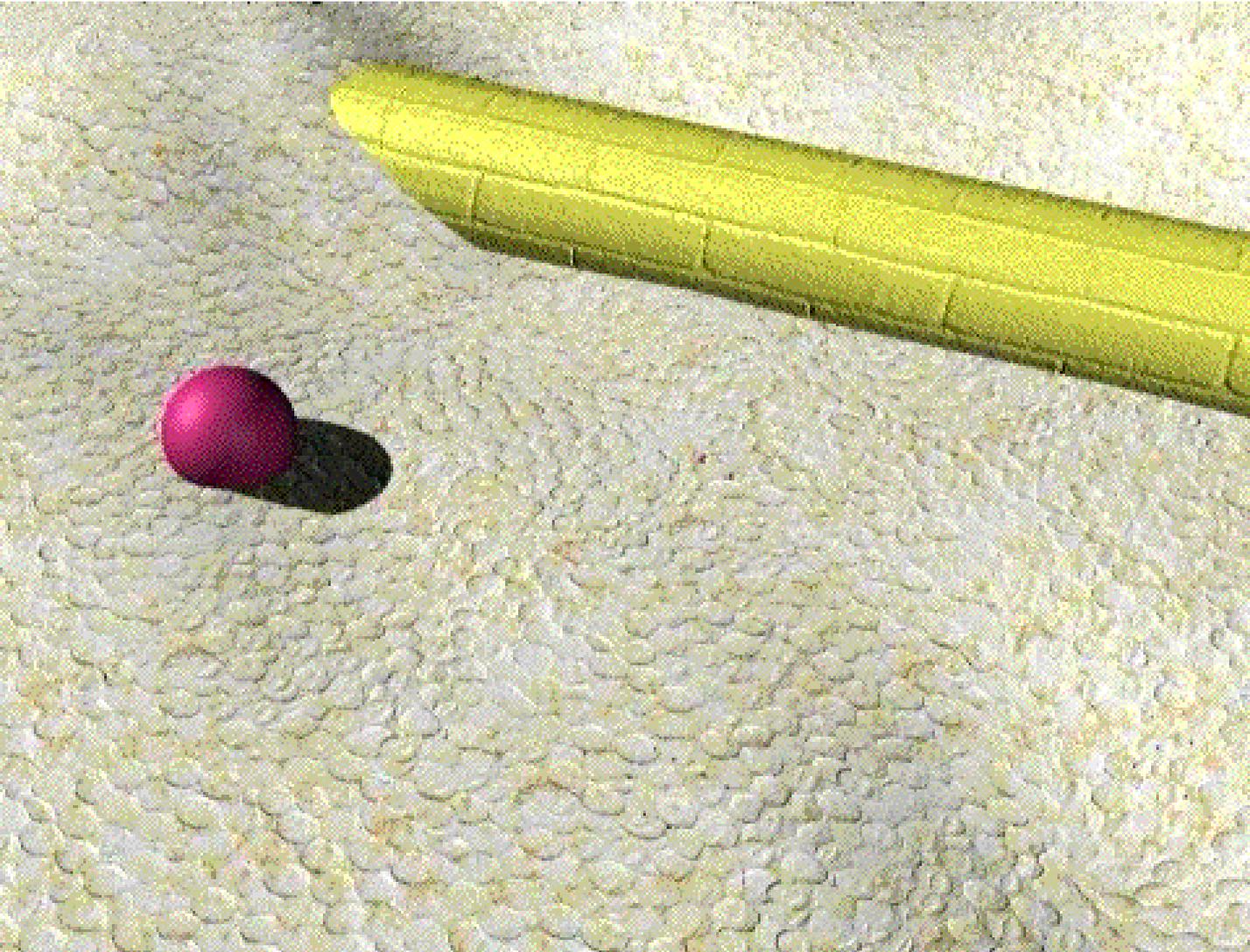


En conséquence, la plante hôte accroît son activité photosynthétique 4 - 20%



...cela signifie que +/- 5 milliards de tonnes sont mobilisés annuellement par les plantes mycorrhizées !

Cycle de vie d'un champignon MA



16.3. *Agrobacterium* et la maladie du crown gall

Agrobacterium rhizogenes (*Rhizobium rhizogenes*)

Présents dans la rhizosphère. Attiré vers les racines de plantes qui présentent des lésions induites par des pathogènes ou autres sources. Il en résulte la sécrétion de composés phénoliques qui ont un effet chémo-attractif sur la bactérie.

A travers la blessure la partie T-DNA du plasmide Ri (root inducing) de la bactérie est transféré dans la plante. Il en résulte le phénotype « hairy root ».

Agrobacterium tumefaciens (*Rhizobium radiobacter*)

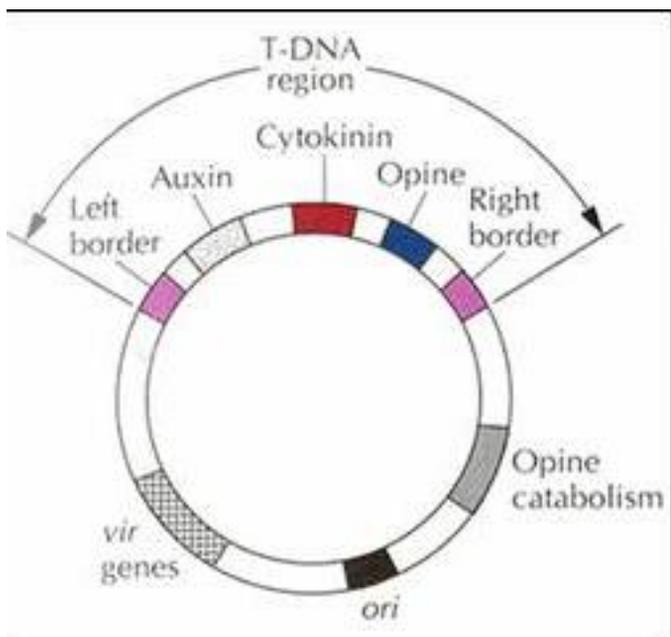
Cause la gale du collet

La maladie se caractérise par une croissance tumorale souvent à la jonction entre la racine et la tige.

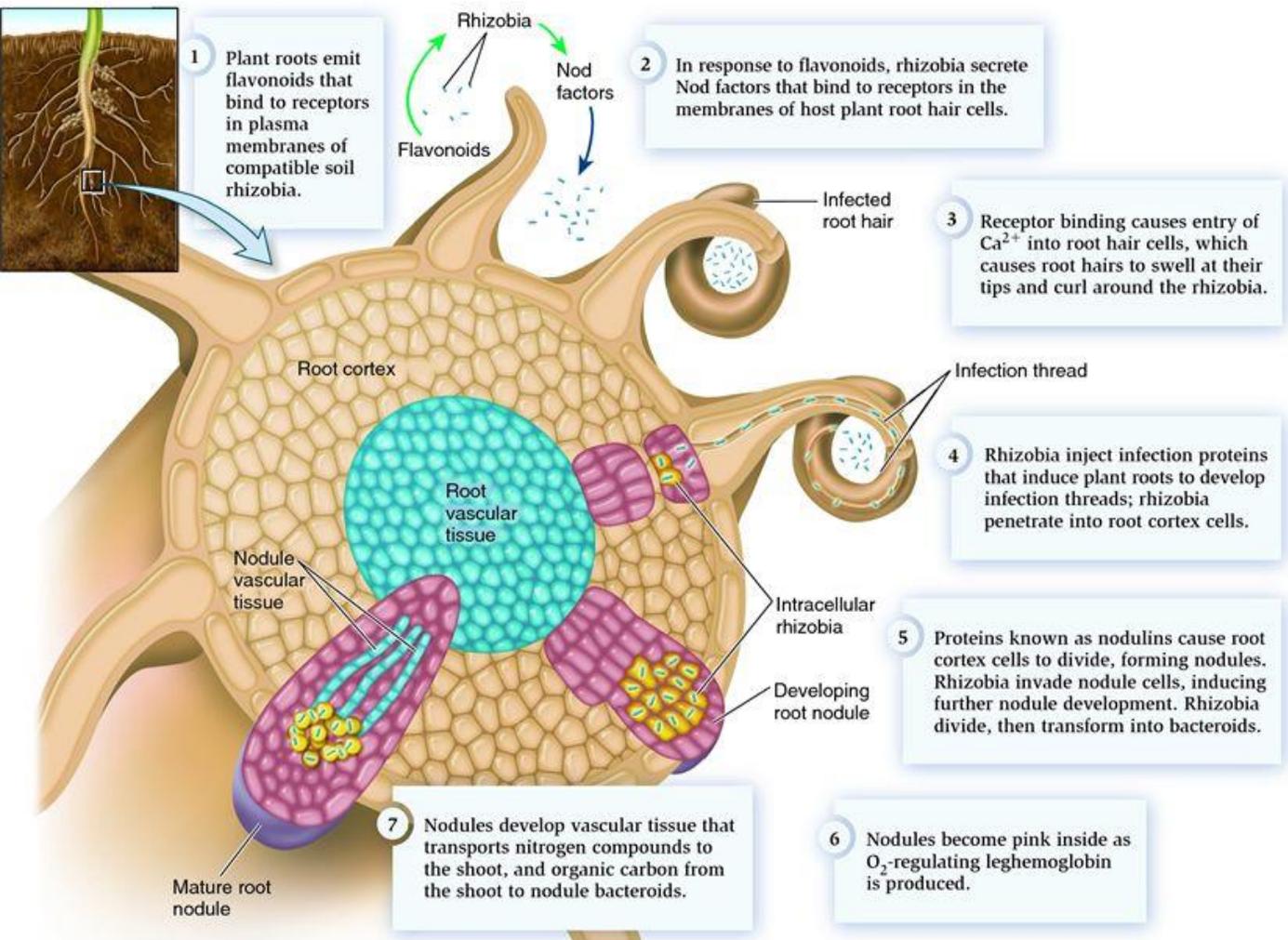
La tumeur est induite par le transfert de la partie T-DNA du plasmide Ti (tumor inducing).

Utilisés en biotechnologie pour transférer des gènes d'intérêt vers les plants (Schell et Van Montagu pionniers).

1. Retirer les gènes virulents sans affecter la capacité de transfert
2. Insérer un gène d'intérêt



16.4. Associations symbiotiques des bactéries des nodosités racinaires chez les légumineuses



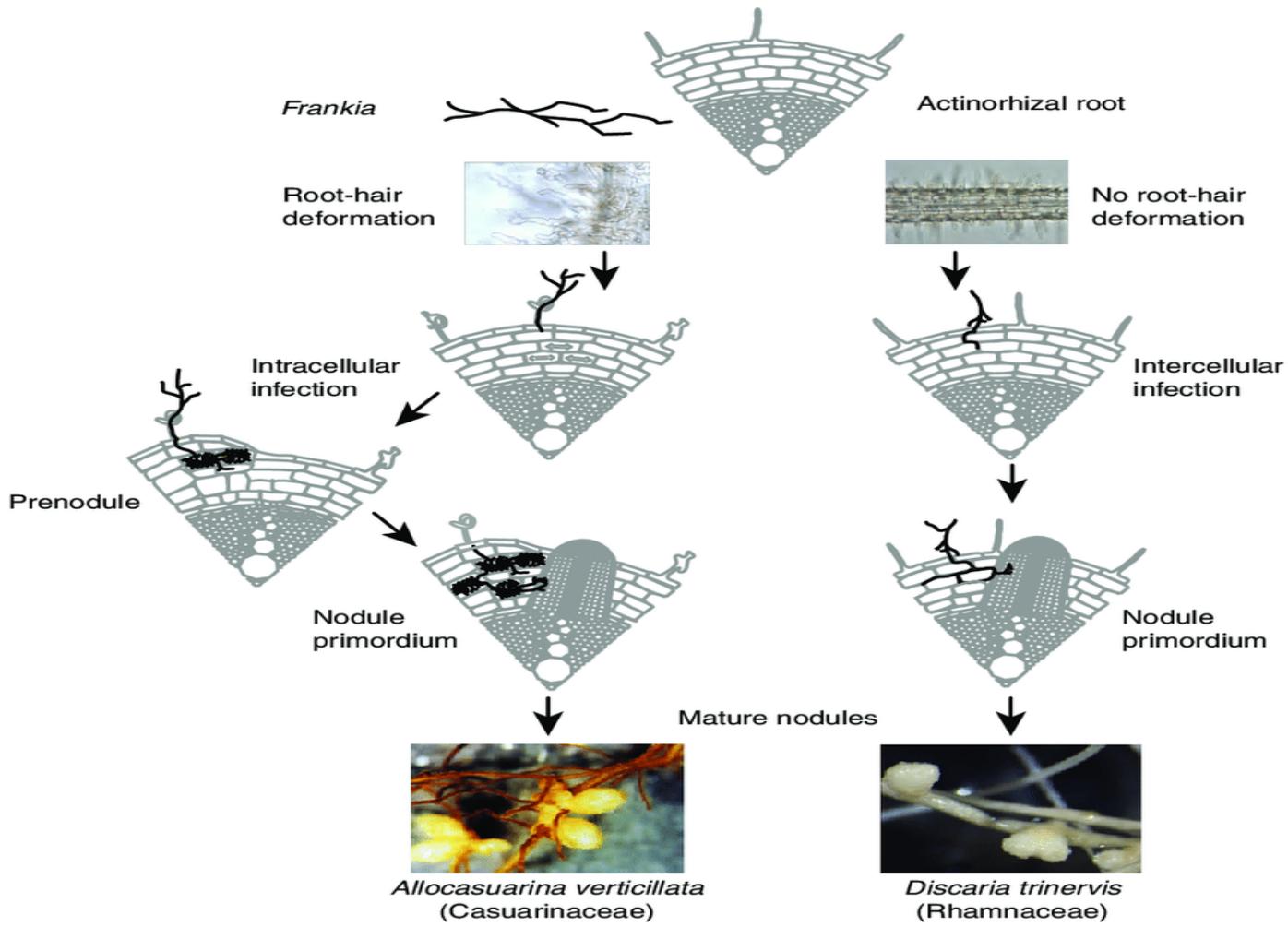
La symbiose fixatrice d'azote: Frankia

Vit en symbiose avec un large spectre de **plantes dicotylédones**. Ces plantes, avec leurs bactéries symbiotiques, sont collectivement responsables de 15% des entrées d'azote fixé biologiquement sur Terre.

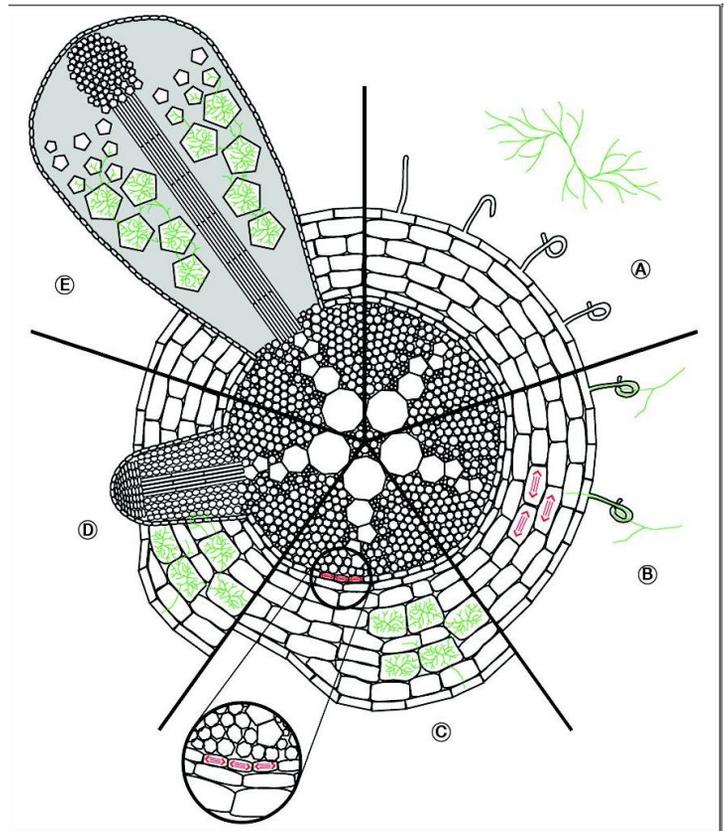
Frankia alni (chez l'aulne) **cause des déformations des poils racinaires** de l'hôte. Elle pénètre dans les cellules corticales et **induit la formation de nodules, qui ressemblent à ceux induits par *Rhizobium* chez les légumineuses**. Ces nodules sont alors colonisés par des **hyphes végétatifs** (filaments du mycélium) qui se différencient en **diazo-vésicules**. C'est dans ces cellules spécialisées sphériques à paroi épaisse que la **fixation d'azote** a lieu.



Test de nodulation de *Frankia alni* souche ACN14a sur des semis d'*Alnus glutinosa* croissant sur un substrat artificiel sans azote. Les semis de gauche sont des témoins non inoculés dont la croissance est fortement diminuée (photo B. Mullin).



Etapes de développement du nodule symbiotique chez *Casuarina glauca* (Péret et al., 2007)



17. Microbiologie industrielle

17.1. Microorganismes industriels et formation des produits

Microbiologie industrielle = utilisation de microorganismes (cultivés à grande échelle) pour élaborer des produits à valeur ajoutée.

Objectif: surproduire le produit visé.

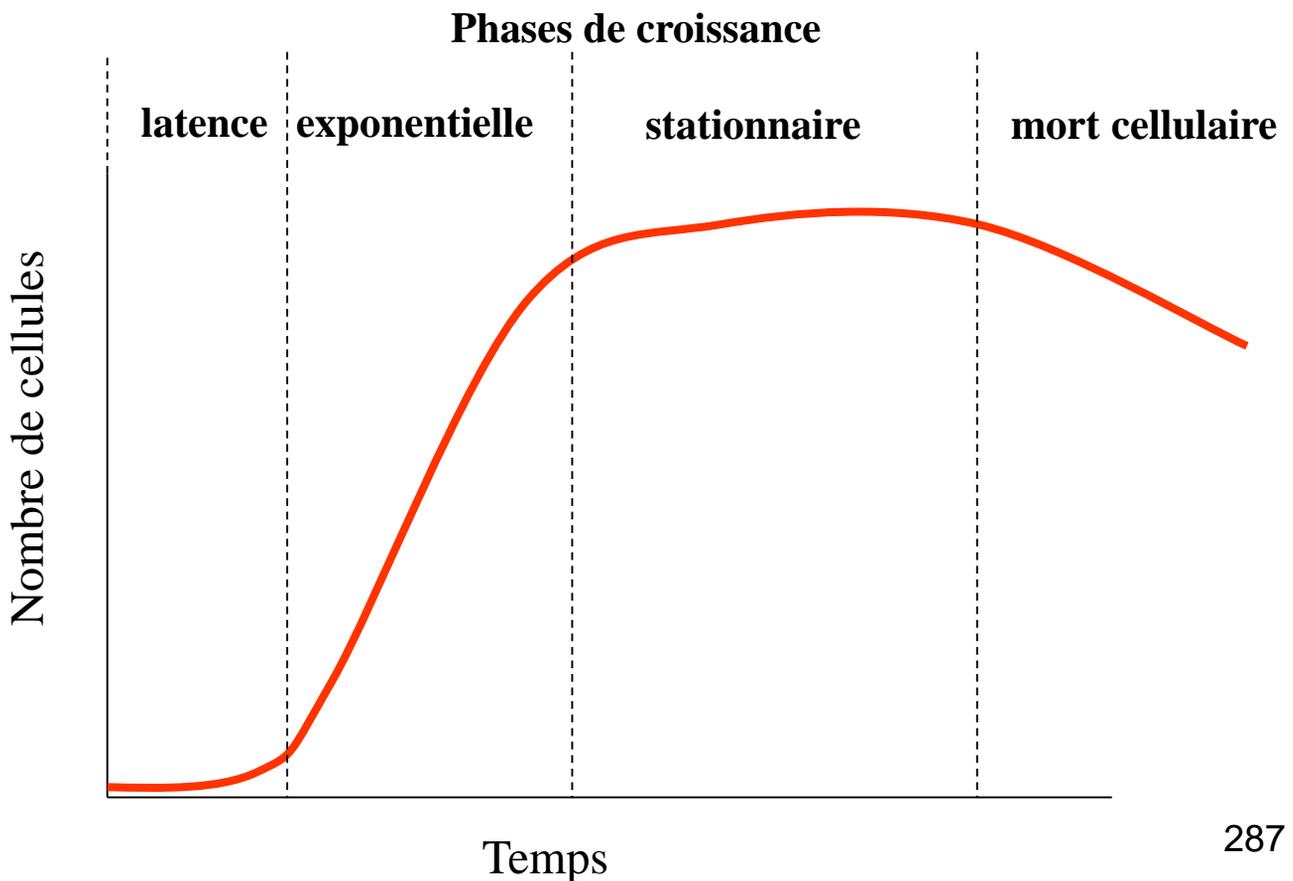
Microorganismes d'intérêt : champignons (levures – moisissures), certains procaryotes (streptomyces)

Propriétés des microorganismes:

1. Produire la substance d'intérêt
2. Croître et sécréter la substance à grande échelle
3. Croître rapidement et produire le métabolite à court terme
4. Croître sur un milieu bon marché
5. Ne doit pas être pathogène
6. Doit pouvoir être manipulé génétiquement

Exemples de produits industriels:

1. Les cellules elles-mêmes: ex. levures de boulangerie, brasserie...
2. Les substances produites par les cellules:
 1. Enzymes: glucose isomérase – sirops
 2. Antibiotiques : penicilline
 3. Additifs alimentaires: aspartame
 4. Des produits chimiques bon marché: ethanol, acide citrique



Métabolites primaires et secondaires

Certains métabolites sont formés en phase exponentielle et d'autres en phase stationnaire.

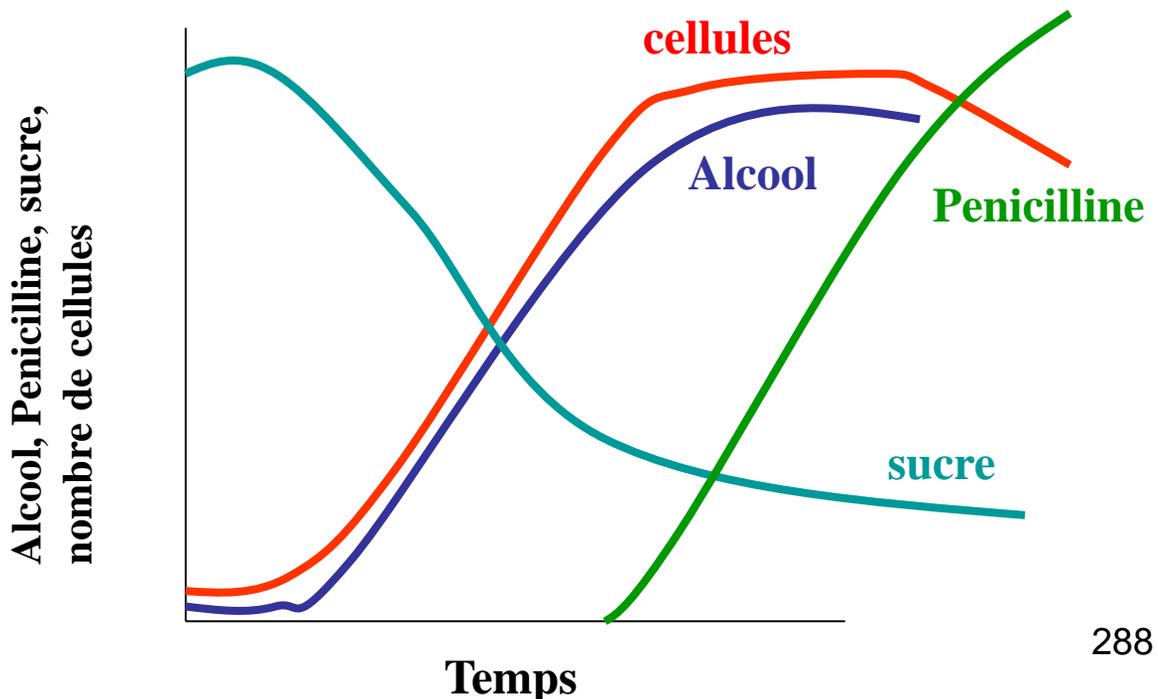
Deux types de métabolites: primaires et secondaires

Primaire = formé durant la phase exponentielle

Ex: alcool. Fait partie du métabolisme énergétique. Comme la croissance ne peut se faire qu'avec la production d'énergie, l'éthanol est produit en phase de croissance exponentielle

Secondaire = formé durant la phase stationnaire

Ex: pénicilline. Métabolite non essentiels à la croissance ou à la reproduction. Leur formation est très dépendante des conditions de milieu.



17.2. Produits pharmaceutiques

Exemple des antibiotiques

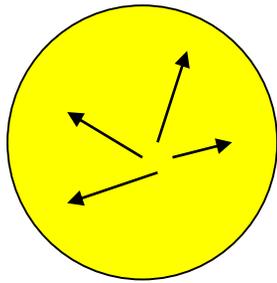
Métabolites secondaires typiques – produit par les champignons filamenteux et bactéries (actinomycètes/actinobactéries)

Antibiotique	Microorganisme producteur
Céphalosporine	<i>Cephalosporium sp.</i>
Cycloheximide	<i>Streptomyces griseus</i>
Erythromycine	<i>Streptomyces erythreus</i>
Griséofulvine	<i>Penicillium griseofulvum</i>
Kanamycine	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>
Penicilline	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Streptomycine	<i>Streptomyces griseus</i>
Tétracycline	<i>Streptomyces rimosus</i>

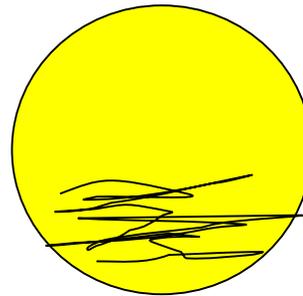
Découverte traditionnelle par criblage

1. Grand nombre de souches isolées en culture pure
2. Tests sur organismes cibles (bactéries)
3. Tests pour évaluer si l'antibiotique est nouveau
4. Si nouveau: production en quantité pour structure, toxicité, activité clinique sur animaux infectés
5. Si activité: production commerciale

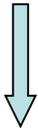
Isolement et criblage de souches productrices d'antibiotiques



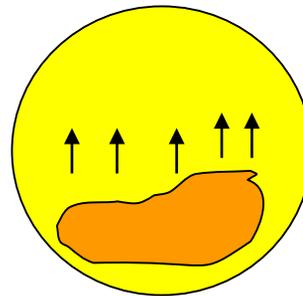
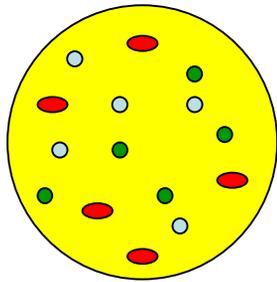
Etaler une dilution de terre sur milieu sélectif



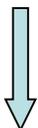
Inoculer par stries la souche productrice présumée sur le tiers inférieur de la boîte



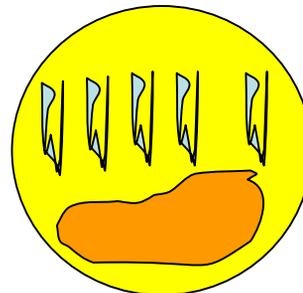
Incuber



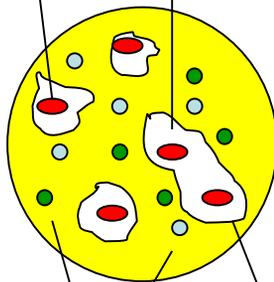
Incuber pour permettre la croissance et la production d'antibiotiques



Organismes producteurs

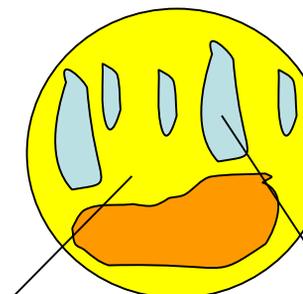


Contre-strier avec les souches tests



Recouvrir avec une suspension d'un micro-organisme indicateur
Incuber

Zone d'inhibition de croissance



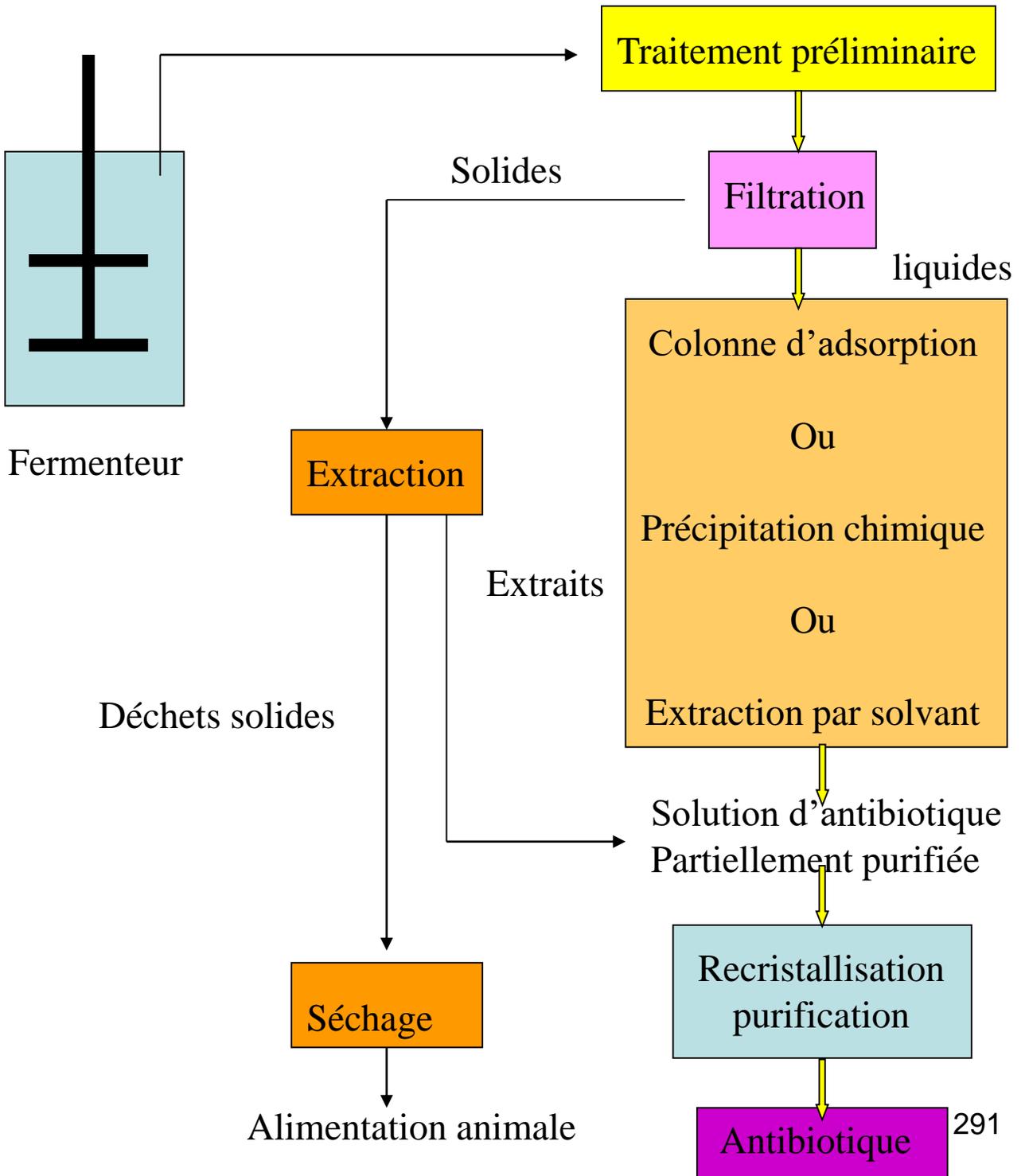
Incuber pour permettre aux souches tests de croître

Zone de croissance des souches tests

Zone d'inhibition des souches tests

Purification

1. Développement à grande échelle
2. Purification (extraction)
3. Cristallisation



Augmentation des rendements

Il faut sélectionner les souches à haut rendement

1. Mutagenèse de la culture initiale
2. Culture des mutants
3. Tester activités antibiotiques

Génie génétique: Insertion de copies de gènes intéressants – plasmides

Altération des processus de régulation

Difficulté: beaucoup de gènes impliqués dans les biosynthèses

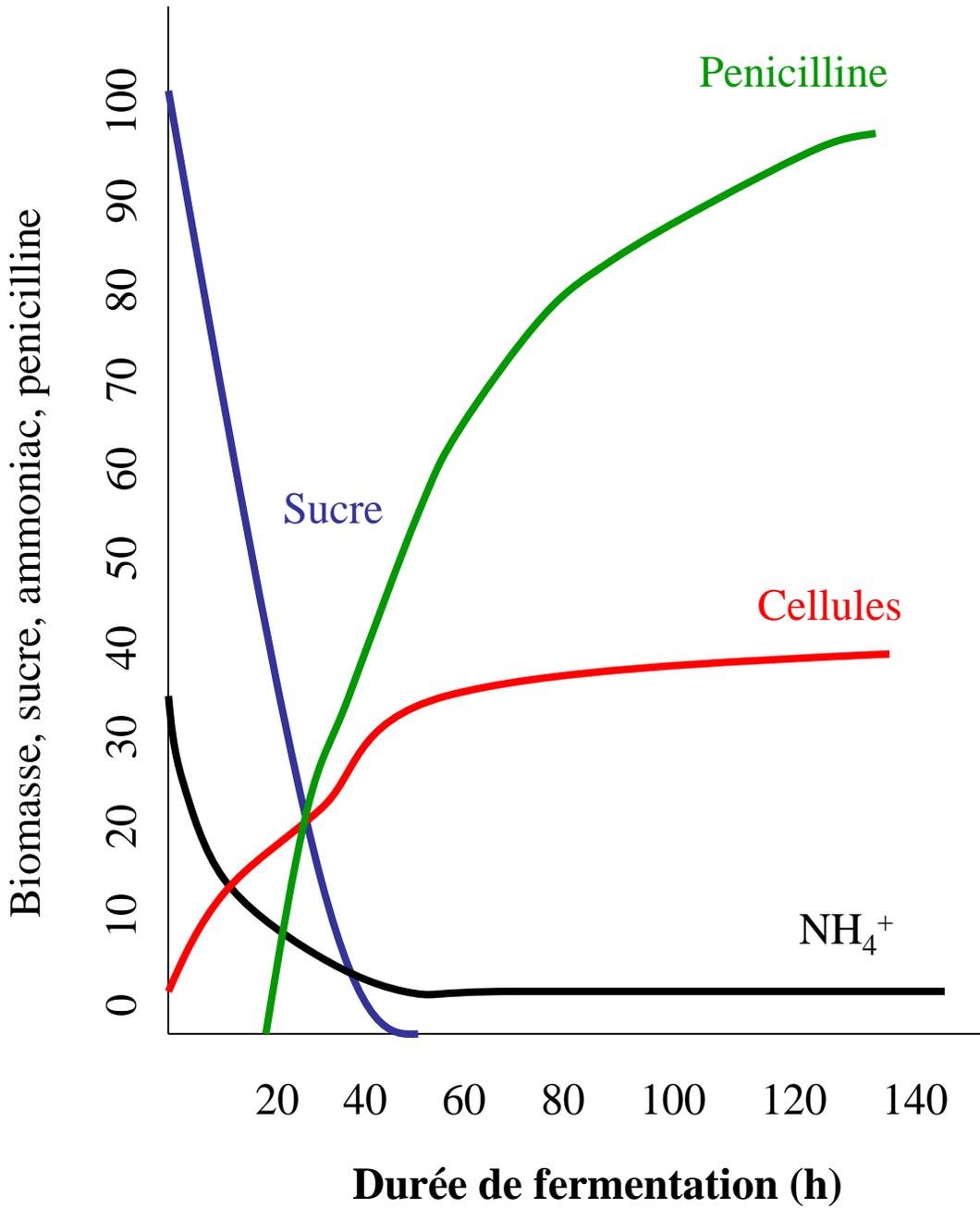
Impact des modifications de certains gènes difficile à savoir

Connaissance des étapes clés des voies de biosynthèse

Rendement est une donnée commerciale critique.

Même après démarrage de la production, la recherche se poursuit pour des souches plus productrices.

Durée de vie d'un antibiotique : 10 ans – domaine public



Cinétique de production de pénicilline par *P. chrysogenum*

Vitamines et acides aminés

= facteurs de croissance – additifs alimentaires

Vitamine B12: exclusivement synthétisée par les microorganismes dans la nature

Production industrielle par bactéries (*Propionibacterium*, *Pseudomonas*)

Riboflavine:

Production par bactéries, levures, moisissures. Le champignon *Ashbya gossypii* en produit 7g/L

Acide glutamique: exhausteur de goût

Acide aspartique et phénylalanine = édulcorant artificiel
aspartame

Lysine: produit par *Brevibacterium flavum*

Les enzymes en tant que produit industriels

Produites commercialement à partir de champignons et de bactéries

Protéases

détergents pour lessives

Lipases

Dissolution des graisses

Amylases

conversion de l'amidon en glucose

Invertases

Hydrolyse du saccharose en glucose et fructose

Très utilisé en confiserie

Pectinases

Clarification des jus de fruit

Laccases

Dégradation de la lignine

Industrie du papier, des colorants

Extrémozymes (enzymes de procaryotes d'environnements extrêmes

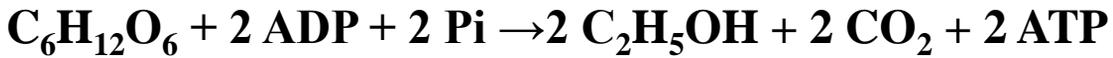
Enzymes fonctionnant dans des conditions extrêmes de °T, de pH, de salinité...

Ex. Taq polymérase: stable à 95°C (*Thermus aquaticus*)

17.3. Principaux produits alimentaires et boissons

Fermentations levuriennes

Alcool (fermentation éthylique (alcoolique))



Vin : levures indigènes sur la peau des grappes de raisin qui fermentent spontanément lorsque le raisin est pressé.

Bière: Ex. fermentation avec *Saccharomyces cerevisiae* & *S. carlsbergensis*.

Pain: levures sélectionnées pour leur production de CO₂ (pain aéré) et leurs qualités organoleptiques.

Production de vinaigre

Conversion de l'éthanol en acide acétique par bactéries acétiques

Produit à partir de vin, bière, cidre...

Acétobacter, Gluconobacter

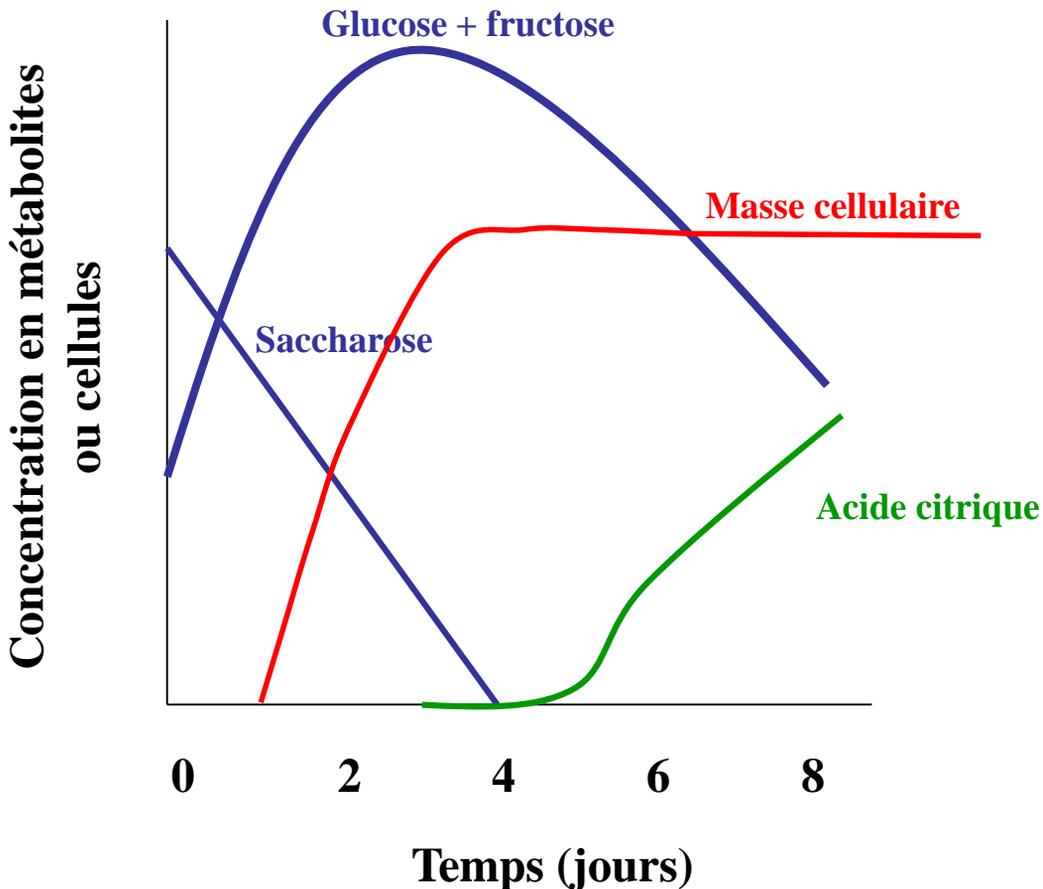
Production d'acide citrique

Utilisé comme additif alimentaire, boissons, confiserie, remplacement des phosphates dans les détergents...

Réalisé à partir d'amidon de pomme de terre, de mélasse, de sucre de canne ou betterave...

Aspergillus niger

Conversion de saccharose en glucose et fructose dans la phase de croissance exponentielle. En phase stationnaire conversion de ces hexoses en acide citrique (cycle de Krebs – cycle de l'acide citrique).



La levure en tant que nourriture et supplément diététique

Saccharomyces cerevisiae

Fermenteurs aérés à basse de mélasse (beaucoup de sucre comme source de C et d'énergie), minéraux, vitamines et acides aminés nécessaires à leur croissance.

Fermenteurs de 40 000 à 200 000 l

Apport fractionné de la mélasse pour éviter fermentation en alcool plutôt que la production de cellules.

Fin de croissance, le milieu de culture est éliminé, cellules lavées et centrifugées

Levure de boulangerie vendue sous forme de cubes de levure humide compressée ou sous forme de paillettes