

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE DJILALI BOUNAAMA-KHEMIS MILIANA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA
TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

MODULE
ECOLOGIE MICROBIENNE
DESTINEAUX ETUDIANTS DU MASTER I SPECIALITE
MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Présenté par : Pr. GUETARNI H.

Guetarni H. (2024): Cours écologie microbienne. Master 1 Microbiologie appliquée. Éditions Complicités, Paris, France, 64p. ISBN: 978-2386470455.

Année universitaire: 2024-2025

1. Notions générales microbiologie environnementale

1.1. Historique de l'écologie microbienne

- L'écologie du grec oikos (la maison et son fonctionnement) et logos (la connaissance, le discours, les lois, la science qui étudie les relations entre les organismes et leurs environnements biotiques et abiotiques.
- Par extension, l'écologie microbienne est la science qui étudie plus spécialement les interrelations entre les micro-organismes et leurs environnements biotiques et abiotiques. Depuis le début des années 1960, ce terme a été fréquemment utilisé et cette science est fortement développée.

1. 2. Arbre évolutif

- L'étude comparative de certains gènes qui permet de retracer des phylogénies. La technique la plus employée repose sur le séquençage du gène ribosomal 16S.
- Les ribosomes font partie de ces outils moléculaires présents chez tous les êtres vivants. Ils sont une base de premier choix pour comparer les différentes espèces : quelques différences suffisent à caractériser chaque espèce et l'importance de ces différences doit refléter au mieux leur histoire évolutive.
- Cela permet de construire des arbres phylogénétiques c'est Carl Woese qui, le premier a employé cette technique (1970) qui lui a permis de séparer clairement le groupe des archées de celui des Eubactéries.

- C'est à lui que nous devons la première version de l'arbre à trois troncs : Eubactéries , Archées, Eucaryotes.

1.3. Grands types de métabolismes cellulaires

- Le Métabolisme est l'ensemble de toutes les réactions chimiques se déroulant dans la cellule.
- Le métabolisme peut être divisé en 2 parties principales:
Dans le catabolisme (du grec cata, en bas et ballein, jeter), des molécules plus grosses et plus complexes sont fragmentées en molécules plus petites et plus simples avec libération d'énergie. Une partie de cette énergie est captée et rendue disponible pour un travail, le reste est libérée sous forme de chaleur.

- L'énergie est piégée peut ensuite être utilisée dans l'anabolisme, la seconde partie du métabolisme.

A . Dégradation du glucose en pyruvate :

- Les micro-organismes utilisent plusieurs voies métaboliques pour dégrader le glucose et d'autres sucres (1-la glycolyse 2-la voie des pentoses phosphates 3- la voie d'Entner Doudoroff).

Glycolyse ou voie d'Embden Meyerhof :

- La plus commune de dégradation du glucose en pyruvate dans la deuxième étape du catabolisme elle fonctionne en présence ou en absence d'O₂.

- Elle est divisée en 2 étapes: Dans l'étape initiale à 6C, le glucose est phosphorylé deux fois et finalement converti en fructose 1,6 biphosphate. Deux molécules d'ATP sont dépensées par molécule de glucose.
- L'étape à 3 carbones de la glycolyse commence par le clivage du fructose 1,6 biphosphate en trioses. Un des produits, le glyceraldéhyde 3-P est directement converti en pyruvate dans un processus à 5 stades.

Voie des pentoses phosphates : voie des Hexoses Monophosphates

- Peut être utilisée en même temps que la glycolyse. Elle opère soit en aérobiose soit en anaérobiose.

- Elle débute par l'oxydation du glucose 6-phosphate en 6-phosphogluconate, elle se poursuit par l'oxydation du glucose 6-phosphate en 6-phosphogluconate en un pentose, le ribulose 5-phosphate et en CO₂.
- Du NADPH est produit durant ces oxydations. Le ribulose 5-P est alors converti en un mélange de sucres phosphates à 3 et 7 carbones.
- Le résultats final est la conversion de 3 glucose 6-P en deux fructose 6-P, un glycéraldéhyde 3-P et 3 CO₂.

Voie d'Entner-Doudoroff: Voie du 2-Céto-3-Désoxy-6-Phosphogluconate

- Cette voie dégrade le glucose en pyruvate en produisant (par molécule de glucose): 1 ATP, 1 NADPH, 1 NADH.
- Les bactéries pour la plupart, possèdent les voies de la glycolyse et des pentoses phosphates, mais quelques-unes utilisent la voie d'Entner-Doudoroff au lieu de la glycolyse.

2. Consortia microbiens (biofilms),
communication cell to cell, transfert
d'éléments génétiques mobiles

3.1. Consortia microbiens (biofilms)

- Un biofilm est une communauté microbienne adhérente à une surface et fréquemment incluse dans une matrice de polymères exocellulaires.
- Le développement de l'architecture des biofilms bactériens est en grande partie lié à la production de la matrice extracellulaire par les bactéries du biofilm.
- Cette matrice est essentiellement composée d'eau (jusqu'à 97 %), de polymères polysaccharidiques, de produits de dégradation et de substances provenant du milieu extérieur.
- Le biofilm n'est pas un environnement homogène (des zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments, des valeurs de pH différentes).

- Cette hétérogénéité physico-chimique s'accompagne d'une hétérogénéité métabolique, source de microenvironnements qui permet la coexistence organisée d'espèces bactériennes aux propriétés métaboliques différentes et souvent complémentaires.
- L'adhésion est une accumulation de micro-organismes et de matériels extracellulaires sur une surface solide.
- C'est un processus s'effectuant en plusieurs étapes :
 - Transport vers la surface;
 - Adhésion non spécifique ou réversible;
 - Adhésion spécifique ou irréversible.

- Des variations d'adhésion selon la nature et l'état de surface : la rugosité et les altérations des surfaces modifient la structure de formation des biofilms.
- La concentration locale en cations divalents (Ca^{++} , Mg^{++} ..) facilite plus ou moins l'adhésion.

Adhésion non spécifique: théorie (Dejarguin-Landau-Verwey-Overbeek)

- La théorie DVLO: la variation d'énergie entre l'énergie d'attraction (VA) (due aux interactions dipolaires intermoléculaires) et l'énergie de répulsion (VR) en fonction de la distance entre deux particules.
- La somme des deux énergies VA et VR donne l'énergie totale d'interaction VT.

Adhésion spécifique

- Structures moléculaires à la surface des micro-organismes bactériens (*phospholipides, acides teichoïques, LPS, résidus d'acides gras*) (*pili ou fimbriae et flagelles*).

Adhésion spécifique intercellulaire

- L'un des éléments essentiels à la formation d'un biofilm et son maintien à la surface d'un tissu cellulaire réside dans la liaison spécifique qui relie les micro-organismes bactériens et la surface cellulaire.
- L'adhésine bactérienne se lie spécifiquement à un récepteur cellulaire complémentaire différent selon le type de tissu.

Formation du biofilm

- L'adhésion initiale(non spécifique) des micro-organismes avec une entrée en contact avec la surface.
- L'adhésion irréversible (spécifique) avec la formation de colonie à la surface avec des attachements par leurs organelles.
- La colonisation avec deux étapes de maturation:
Une maturation primaire marquée par une croissance en surface, la formation d'une matrice de polymères extracellulaires sur laquelle se développe la fine monocouche de biofilm.

Une maturation secondaire marquée par une croissance en multicouches donnant un biofilm important.
- La dispersion/dissolution par rupture des liaisons intercellulaires et avec la matrice de polymères extracellulaires.

1



Microorganismes sur une surface

2



Production de matrice extracellulaire

3

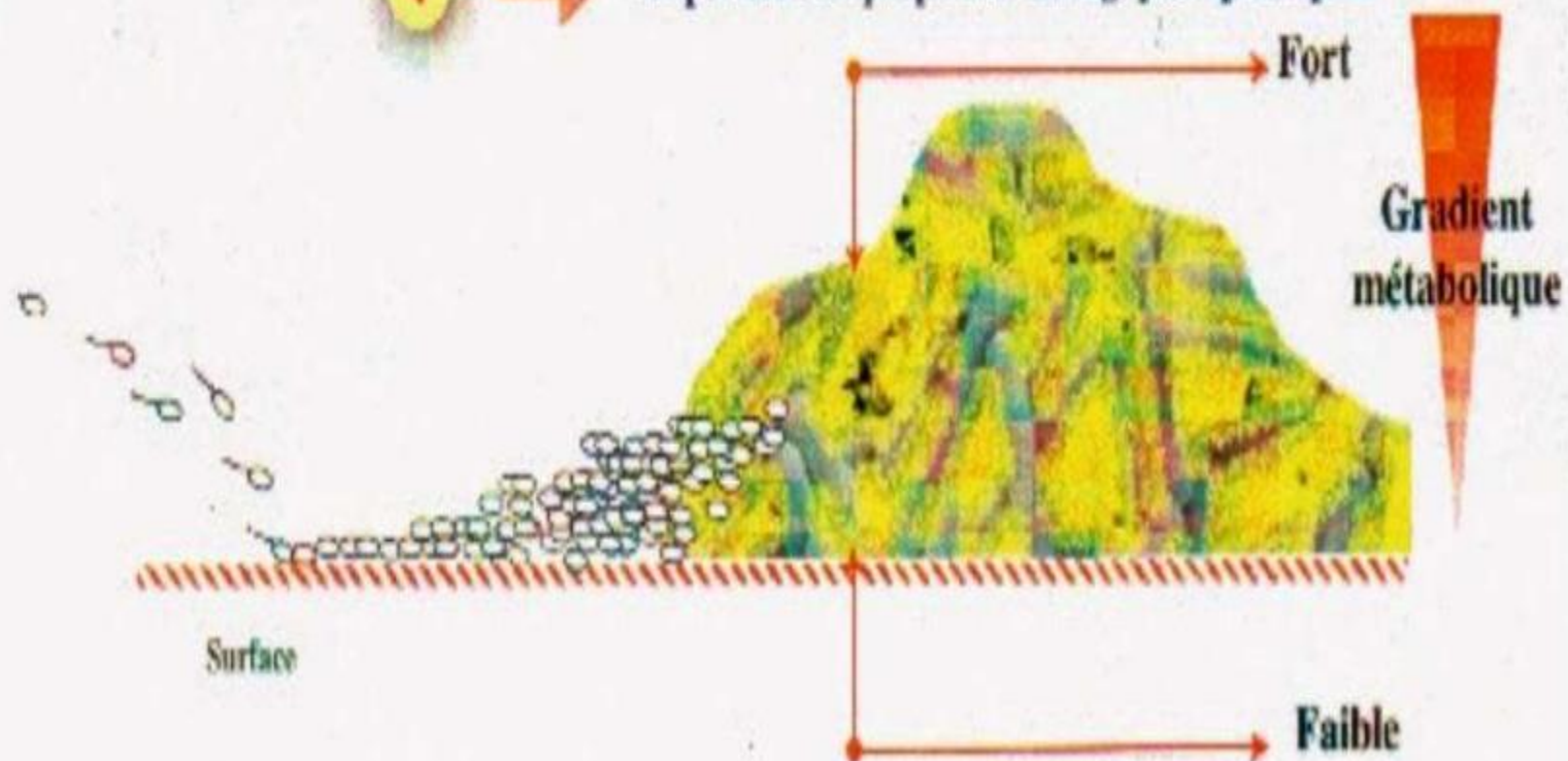


Un milieu profondément hétérogène

4



Expression de propriétés biologiques spécifiques



Signalisation au sein du biofilm

- La densité des bactéries et leurs contacts cellulaires facilitent la communication intercellulaire *via* un mécanisme appelé Quorum-sensing, qui implique la production, la sécrétion et la détection, par les bactéries, de petites molécules signal appelées des autoinducteurs (AI).

Biofilms et l'homme

- Les biofilms sont responsables d'infections chroniques et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical (les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés): *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

- En effet, les biofilms ont la capacité de se développer sur divers instruments médicaux: sondes urinaires, tubes de ventilation artificielle, prothèses orthopédiques etc...

Biofilms et les industries

- Dans l'industrie pétrolière: la colonisation des systèmes d'injection d'eau peut entraîner une acidification du pétrole qui devient alors inutilisable;
- La formation de biofilms dans les canalisations d'eau potable, en particulier par la bactérie *Legionella pneumophila*;
- Dans l'industrie agro-alimentaire, les biofilms constitués d'organismes pathogènes représentent un problème sanitaire sérieux.

Biofilms positifs:

- Cycle du carbone, de l'eau;
- Le traitement des eaux usées;
- La production et à la dégradation de la matière organique;
- Le recyclage de l'azote; du soufre et de nombreux métaux;
- La flore commensale humaine peut être considérée comme un biofilm qui protège son hôte contre les attaques des bactéries pathogènes;
- Dans l'industrie, les biofilms servent au traitement des déchets par un mécanisme appelé « bioremédiation »;
- Les micro-organismes composant les biofilms peuvent en effet utiliser des matériaux polluants comme source de carbone et d'énergie.

3.2. Communication cell to cell:

- Ce sont des signaux moléculaires émis par une cellule émettrice et reconnus par une autre cellule réceptrice.
- La réception du signal extérieur est suivie par une amplification du signal induisant des effets moléculaires variés ainsi qu'un changement d'état de la cellule réceptrice.

Transmission par les molécules de signalisation

- sécrétées par exocytose, par diffusion à travers la membrane plasmique, ou restent ancrées à la membrane.
- La cellule cible peut répondre grâce à la présence d'un récepteur.

Récepteurs

Récepteurs membranaires

Ils reconnaissent les facteurs de signalisation hydrosolubles.

Récepteurs intracellulaires

- Ils peuvent être intracytoplasmiques ou intranucléaires.
- Ces récepteurs se fixent sur des séquences spécifiques de l'ADN.

Interaction ligand - récepteur

La constante de dissociation : $KD = k_d / k_a = [H][R] / [RH]$

Interactions cellule / substrat

- Les interactions se font par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques, se liant à des composants de la MEC.

Interactions cellule - cellule:

- L'adhérence intercellulaire est le résultat de la formation de structures spécialisées, les jonctions d'adhérence et les desmosomes.
- Elles comprennent des éléments du cytosquelette de chaque cellule et des protéines qui en assurent le lien.

3.3. Transfert d'éléments génétiques mobiles

Mécanismes de transfert de gènes:

Transduction;

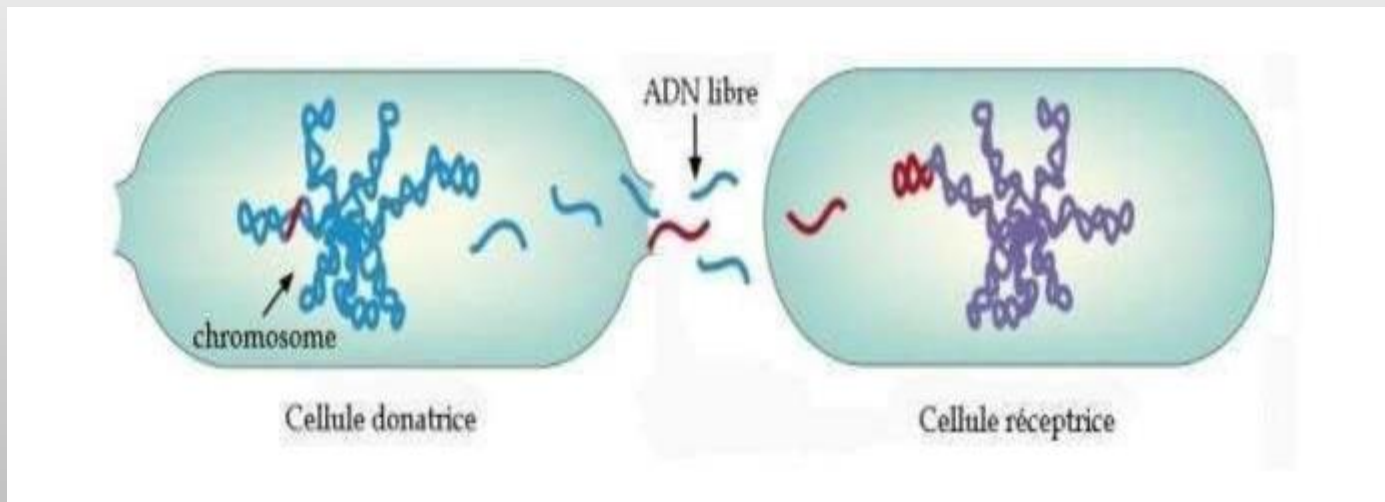
Transformation;

Conjugaison;

Nanotubes.

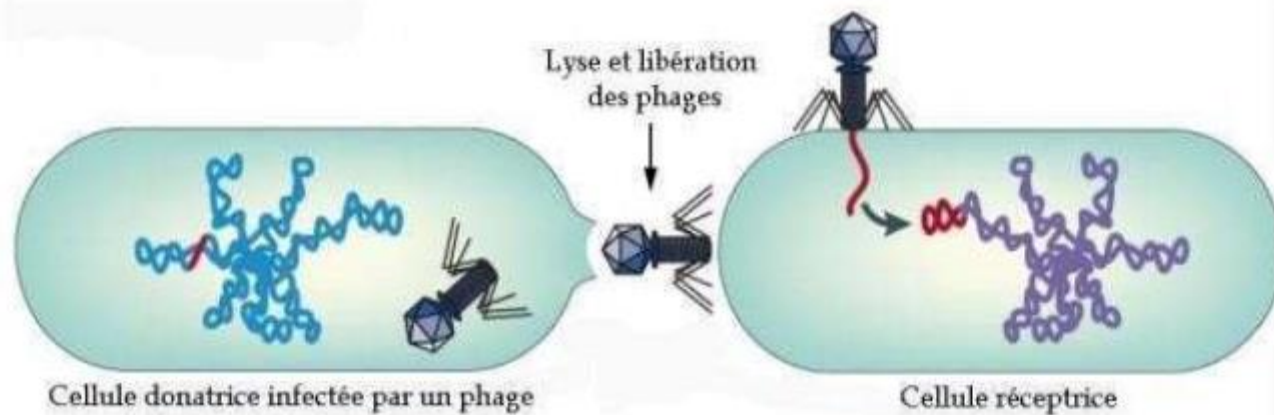
Transformation

- La transformation correspond à l'acquisition d'ADN exogène provenant du milieu extracellulaire ainsi qu'à son incorporation dans un réplicon de la cellule réceptrice.



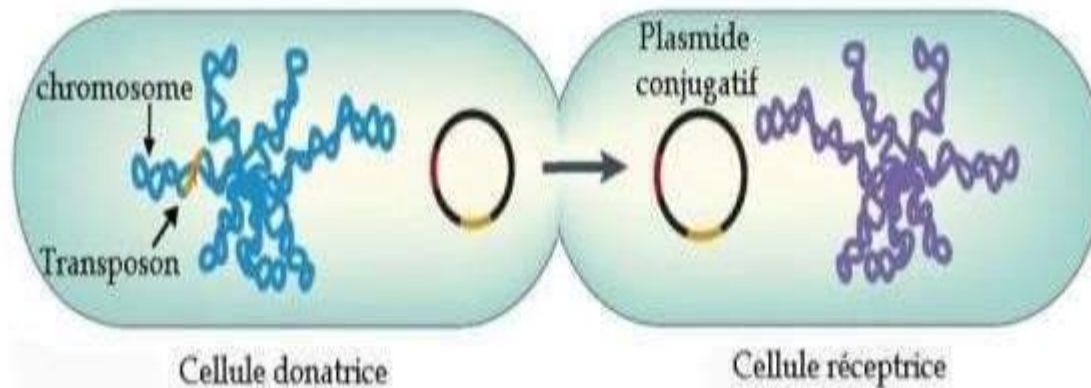
Transduction

- La transduction est un mécanisme où l'ADN bactérien est transféré via une capside protéique, généralement, celle d'un phage.



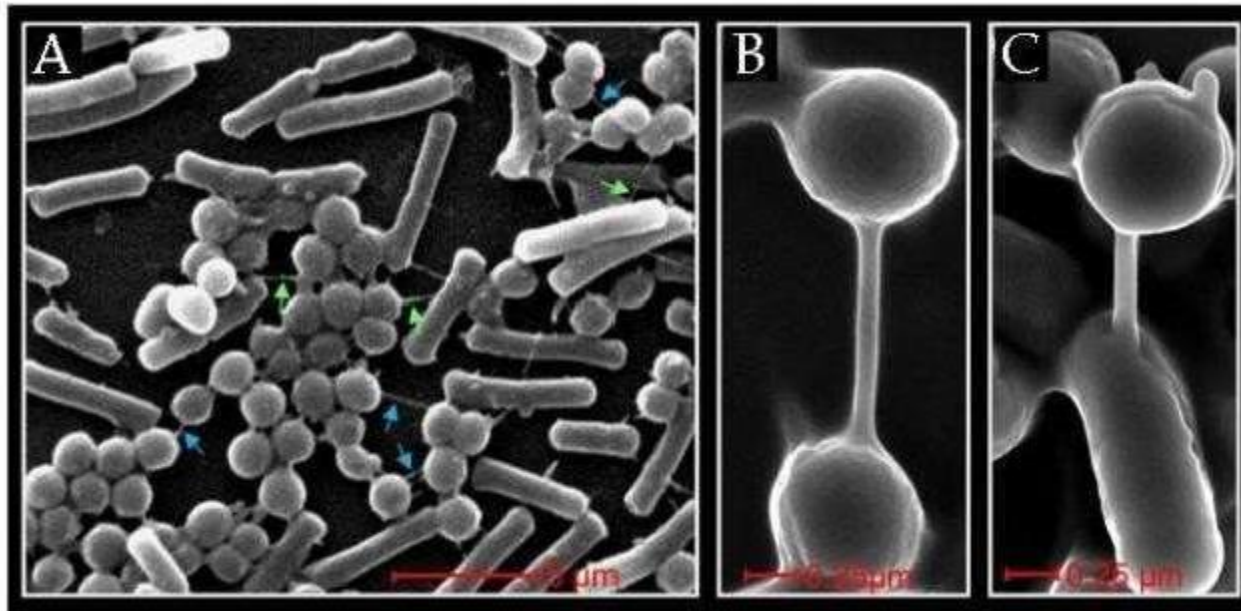
Conjugaison

- La conjugaison nécessite un contact direct entre les bactéries donatrice et réceptrice. Le lien physique est assuré par un pilus chez les bactéries Gram négatives.



Nanotubes

- C'est un nouveau système de communication bactérien. Des nanotubes intercellulaires permettraient en effet le passage de protéines et de plasmide et donc l'échange d'information entre bactéries voisines, appartenant ou non à la même espèce.



A: *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, **B:** Nanotubes inter-espèces connectant *Staphylococcus aureus*, **C:** Nanotubes inter-espèces connectant *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*

Éléments génétiques mobiles

- Ce sont des fragments d'ADN qui sont insérés dans le génome d'un organisme hôte et qui ont la propriété remarquable de se déplacer d'un point à un autre du génome « de transposer ».
- On peut les classer en deux grands groupes:

les transposons;

les rétrovirus et phages lysogènes.

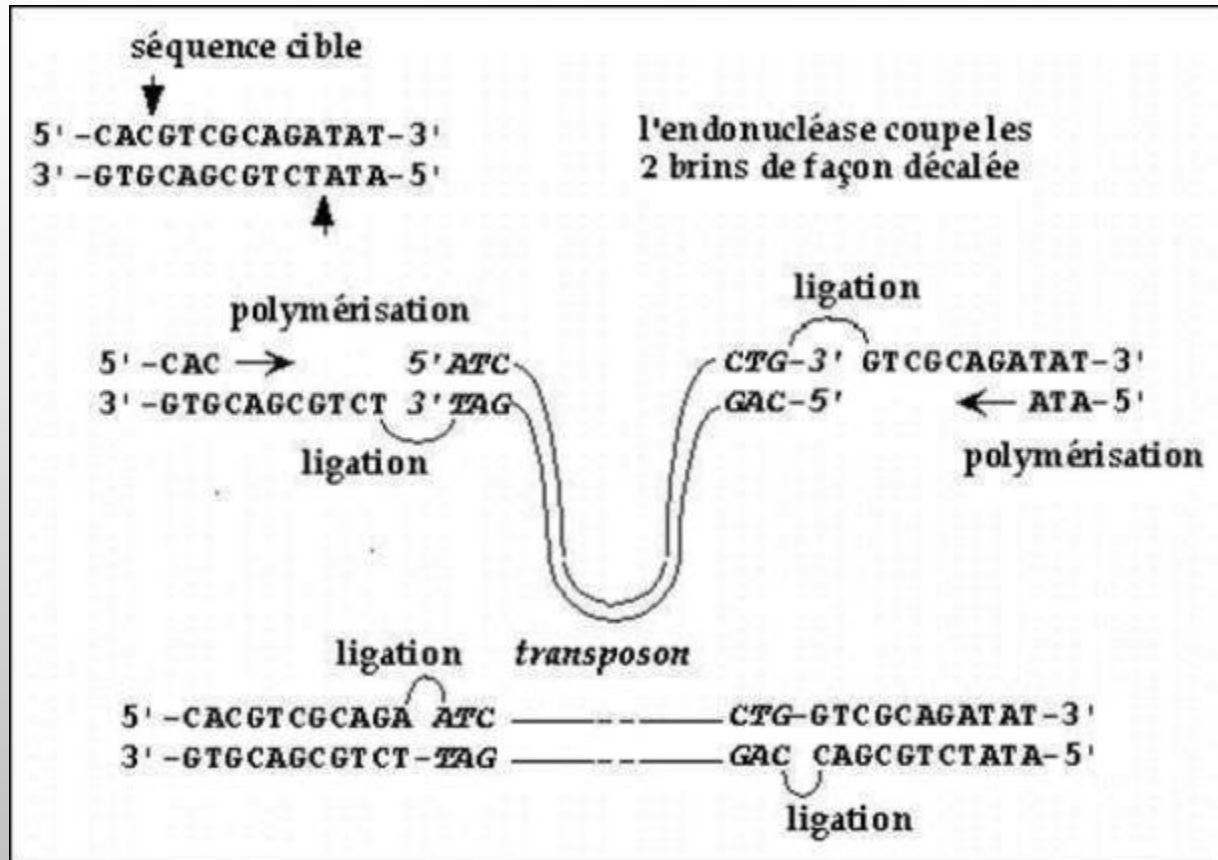
Deux grands types de transposons

- les transposons à ADN, dits aussi « bactériens », bordés de séquences inversées répétées appelées IR;

- les rétrotransposons de classe I qui transposent par l'intermédiaire d'un ARN; ils sont bordés de deux "long terminal repeats" appelées LTR, en répétition directe;

Insertion du transposon dans le génome

- les transposons s'insèrent au hasard dans les génomes
- L'insertion d'un transposon entraîne la duplication de la séquence-cible génomique.
- Le transfert horizontal de gènes est le processus par lequel un organisme intègre du matériel génétique provenant d'un autre organisme sans en être le descendant.



Intérêts des transposons

- Les transposons jouent un rôle important dans la dynamique des génomes.
- Création de mutations nouvelles, de recombinaisons, de réarrangements des génomes. Ils contribuent au polymorphisme.
- Apparition de nouvelles fonctions cellulaires.
- En génétique moléculaire appliquée, nombreux usages:
 - Mutagenèse et sélection de mutants,
 - Clonage de gènes,
 - Vecteurs pour transfert de gènes.

3. Techniques utilisées pour étudier les micro-organismes *in situ*

3.1. Observations *in situ* avec des méthodes de coloration totale des acides nucléiques (DAPI et orange d'acridine):

- La microscopie en épifluorescence est une technique d'observation et de comptage direct des micro-organismes.
- Deux méthodes sont couramment pratiquées selon le fluorochrome utilisé :
 - coloration au 4'-6-diamidino-2-phenylindole dihydrochlorure (DAPI),
 - coloration au 3,6-tétraméthyl diamino acridine ou Acridine Orange (A.O.).
- Les deux colorants ont la propriété de se lier aux acides nucléiques bactériens. Leur pénétration cellulaire passive présente l'avantage de pouvoir utiliser des échantillons fixés au formol.

- Acridine orange :Excitée en lumière bleue (450-490 nm), la liaison A.O.-DNA fluoresce en vert et la liaison A.O.-RNA en rouge-orangé ou jaune.
- DAPI: Excitée en lumière U.V. (340-380 nm), la liaison DAPI-DNA bicaténaire fluoresce en bleu brillant.
- L'utilisation d'un fluorochrome permet le dénombrement de l'ensemble des cellules intactes d'un échantillon.
- Une part de cette microflore totale est en dormance ou en état de stress nutritionnel selon les conditions environnementales.
- Pour évaluer la fraction bactérienne active, diverses approches sont utilisées telles que l'étude des synthèses cellulaires, l'incorporation de substrats marqués ou la mesure de la fonctionnalité des systèmes de transport d'électrons.

3.2. Application des techniques moléculaires: Hybridation *in situ*

- La génétique moléculaire fait appel à des manipulations de molécules organiques, qui sont à l'origine synthétisées, digérées, liées, détruites *in vivo*.
- La plupart des techniques utilisées en génétique moléculaire sont mises au point en combinant les outils de base.
- Les techniques utilisées peuvent être classées selon leurs objectifs, à savoir fragmenter l'ADN, séparer les fragments, repérer les morceaux d'ADN d'intérêt puis multiplier le fragment à étudier et, enfin, à l'échelle la plus petite, lire directement la séquence d'ADN.

- L'hybridation *in situ* (HIS) est l'utilisation de sondes d'acides nucléiques pour mettre en évidence et localiser, dans des cellules ou des tissus, des séquences d'acides nucléiques, complémentaires de la sonde par leurs bases.
- L'HIS est un outil incomparable pour étudier l'expression des gènes.
- Elle est très proche, dans son principe, des Southern et des Northern Blot, seulement l'HIS s'effectue sur une coupe histologique de tissu, apportant ainsi des informations précises sur la localisation des acides nucléiques étudiés.

- Les sondes utilisées sont le plus souvent de l'ADN (double brin ou plus rarement monobrin), un ARN-messager ou des oligonucléotides synthétiques (de 20 à 50 nucléotides).

Hybridation sur colonies

- Elle consiste à un transfert de colonies d'une boîte de Pétri sur un filtre ou une membrane avant de procéder à une hybridation moléculaire de leur matériel génétique avec une sonde marquée.

Hybridation sur chromosomes (FISH)

- La FISH (*Fluorescence in Situ Hybridization*) repose sur la capacité d'hybridation de deux brins d'ADN complémentaires.

- La région à étudier située sur un chromosome préalablement légèrement dénaturé est repérée grâce à une sonde oligonucléotidique complémentaire.
- Certains de ces nucléotides de cette sonde sont couplés à une molécule antigénique reconnue par un anticorps fluorescent. On peut ainsi visualiser simultanément plusieurs séquences sur un ou plusieurs chromosomes.
- Technique permettant de déterminer la position d'un fragment d'ADN dans le génome.

3.3. Adaptation des techniques de cytométrie (en image et/ou en flux) au comptage des micro-organismes *in situ*

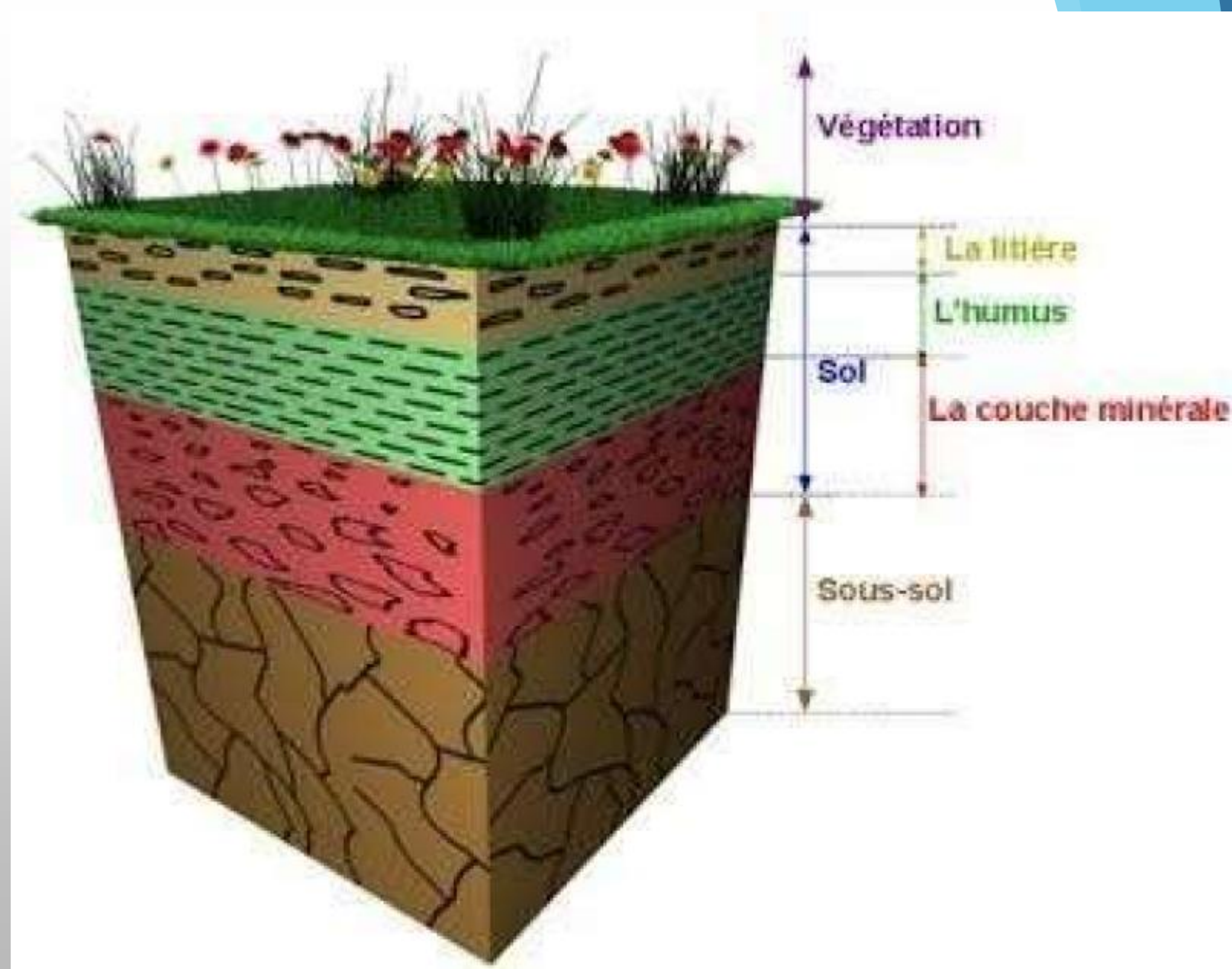
- L'introduction de la cytométrie en flux couplée au marquage des cellules par des fluorochromes ou par des sondes moléculaires a permis de compter et d'identifier des cellules par leur fluorescence.
- Les premières applications de cette technique aux dénombrements bactériens ont concerné des bactéries présentant un rapport direct avec les actions humaines.

- Dans les milieux aquatiques, elles sont surtout utilisées pour les organismes photosynthétiques dont les pigments chlorophylliens constituent d'excellents marqueurs.
- L'utilisation de nouveaux colorants (TOTO-1, TO-PRO-1, SYBR Green I) se fixant sur les acides nucléiques et excités par une lumière bleue ou U. V. a permis de différencier les procaryotes photosynthétiques, comme les *Synechococcus*: et les *Prochlorococcus*, des procaryotes hétérotrophes.

4- Microbiologie des sols et de la rhizosphère

4.1. Définitions du sol

- Le sol est le résultat d'une interaction dynamique entre milieu physique (lithosphère) et milieu biologique (biosphère).
- Le sol est en effet un milieu vivant composé de matières organique et minéral.
- Le sol est la couche superficielle meuble, de l'écorce terrestre, dans laquelle se développent les racines des plantes.



4.2. Texture du sol:

- Le sol comporte 3 phases: une phase solide (minérale et organique), une phase liquide (solution du sol) et une phase gazeuse (air, CO₂, CH₄).
- On appelle texture la résultante du mélange de terres fines et grossières dont les pourcentages varient d'un sol à l'autre.

Échelle granulométrique de la texture du sol

Terre fine					Terre grossière	
Argiles	Limons fins	Limons grossiers	Sables fins	Sables grossiers	Graviers	Cailloux
< 2 μ m	2 – 20 μ m	20 – 50 μ m	50 – 200 μ m	0.2 – 2 mm	2 – 20 mm	> 20 mm

4.3. Rhizosphère

- La rhizosphère, volume de sol situé autour des racines vivantes et interagissant avec elles.
- Un processus majeur dans la rhizosphère consiste en la rhizodéposition de composés carbonés par les racines.
- Un tiers de ce C permet l'élaboration de la biomasse racinaire, un second tiers est respiré par les racines, alors qu'un dernier tiers correspond à la rhizodéposition qui constitue une source d'énergie essentielle pour les micro-organismes du sol.

4.4. Composition et propriétés d'un écosystème

□ Un écosystème se compose :

-d'une biocénose, qui regroupe tous les organismes vivants dans cet écosystème : on parle aussi de composantes biotiques.

-d'un biotope, qui regroupe tous les éléments non vivants, appelés aussi composantes abiotiques : il s'agit principalement de composantes climatiques comme la lumière, la température, l'altitude, les précipitations et de composantes du milieu de vie soit aquatique(salinité, pH, profondeur, pollution, oxygénation) soit terrestre (nature et composition du sol, pH, pollution).

4.5. Microbiologie du sol

- La microbiologie du sol est une des branches de l'écologie microbienne qui a essentiellement pour objectif l'étude du rôle des microorganismes dans le sous écosystème (dénommé système sol-plante) constitué par le sol, la microflore, la faune du sol et les plantes.
- Les microorganismes du sol y jouent deux rôles essentiels :
 - sont responsables de maintes transformations chimiques et même physiques qui se déroulent dans les sols ;
 - agissent directement ou indirectement sur la nutrition des plantes.
- En fait, il existe tout un réseau d'interactions complexes entre les micro-organismes du sol, les plantes, la faune du sol et les composantes chimiques et physiques du système sol-plante.

Transformations microbiennes des propriétés des sols

- Dans tout écosystème terrestre, les éléments nécessaires à la vie sont successivement incorporés dans les différentes composantes vivantes (plantes, animaux, microflore), puis libérés.

Micro-organismes des sols et de la rhizosphère

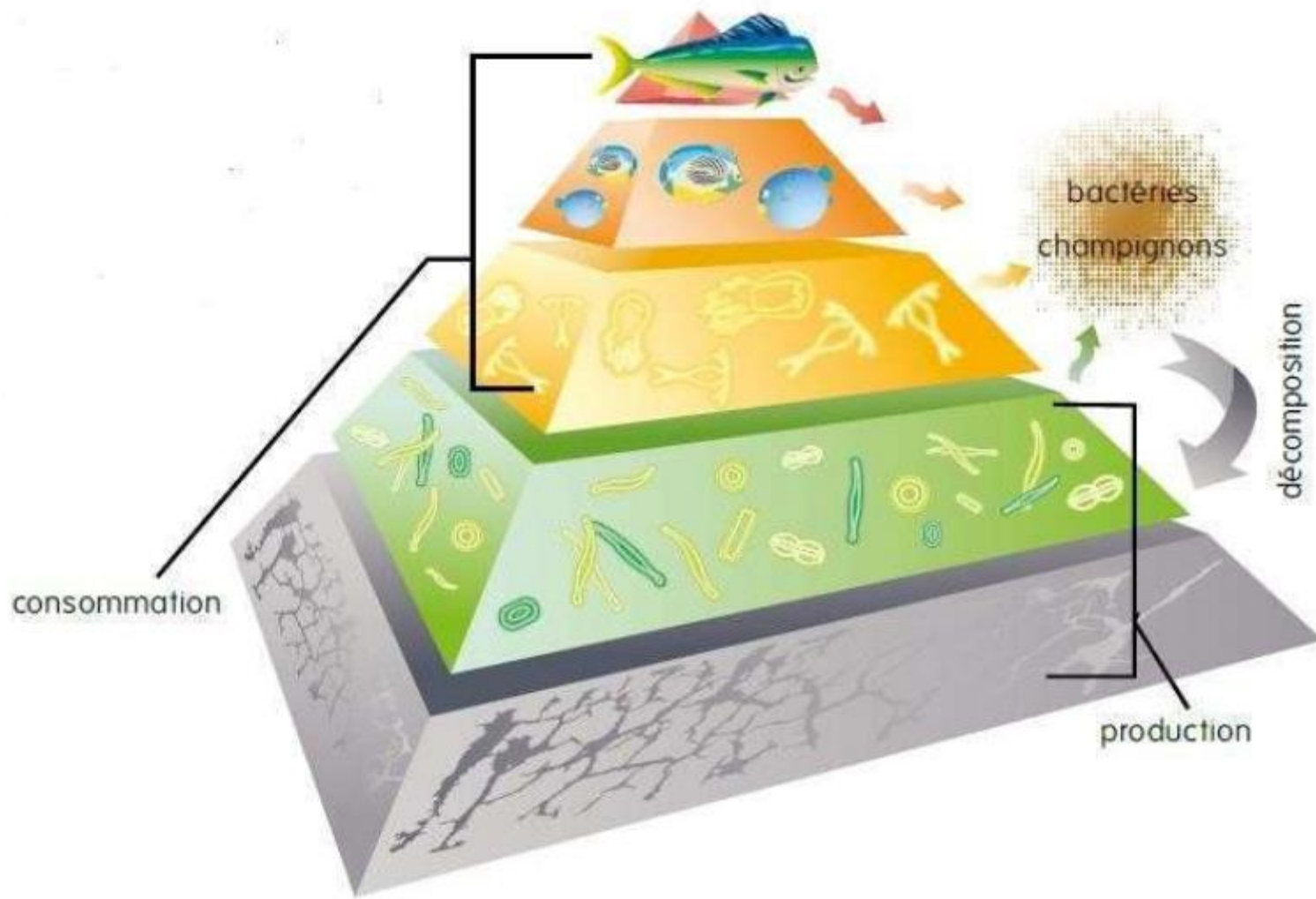
- La microflore du sol est complexe et variée .Elle comprend des bactéries, des champignons, des protozoaires et des virus.
- La distribution des micro-organismes du sol est hétérogène et dépend des facteurs nutritionnels et des facteurs physico chimiques.

- Protistes inférieurs (bactéries, actinomycètes, cyanobactéries) et des protistes supérieurs (champignons, algues, protozoaires) (localisées dans toutes l'épaisseur du sol);
- Les rhizobactéries, les bactéries non symbiotiques :
Agrobacterium radiobacter, *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp.,
Pseudomonas spp. *fluorescents*.

5- Microbiologie des milieux aquatiques (eaux douces, océans)

5.1. Ecosystème aquatique:

- L'écosystème aquatique est le résultat d'un équilibre entre un milieu naturel et les espèces animales et végétales qui y vivent.
- Le soleil fournit énergie et lumière aux écosystèmes. On distingue trois grands groupes d'acteurs dans ces écosystèmes qui participent à la chaîne alimentaire:
 - Les plantes aquatiques et les algues;
 - Les consommateurs qui se nourrissent de ces matières végétales sont essentiellement les animaux aquatiques, comprenant des espèces extrêmement variées, allant des micro-organismes aux poissons;
 - Les décomposeurs, comme les bactéries et les champignons.



5.2. Océans

- Un océan est une vaste étendue d'eau salée.
- Les océans recouvrent près des trois-quarts de la Terre où ils déterminent le climat sur Terre et ils produisent la moitié de l'oxygène que nous respirons.
- Ils constituent une source de matière organique pratiquement inépuisable pour l'homme.
- La fertilité des océans est directement en rapport avec leur capacité de produire du plancton, c'est-à-dire une flore et une faune variées comprenant des bactéries, des algues, des protozoaires, des champignons et des levures.

- Lorsque cette population est à prédominance d'algues, on parle de phytoplancton, si au contraire, les protozoaires sont en majorité, on l'appelle zooplancton.
- Les formes bactériennes les plus fréquentes sont les bacilles à Gram négatif des genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Cellvibrio*. Les espèces à Gram + sont plus facilement représentées : *Bacillus*, *Clostridium*.

5.3. Eaux douces

- L'eau douce, par opposition à l'eau de mer, est une eau dont la salinité est suffisamment faible pour pouvoir être consommée.
- L'eau douce se renouvelle en permanence par le cycle de l'eau. Elle passe de la mer à l'atmosphère, puis de la terre à la mer, en suivant un cycle qui se répète indéfiniment.
- L'eau douce utilisable par l'homme regroupe les eaux de surface (baies côtières, lacs, fleuves, cours d'eau) et les eaux souterraines (aquifères).

- Les bactéries sont les éléments clefs du cycle biologique normal des eaux douces.
- Ce sont elles, en effet, qui vont débarrasser le milieu des matières organiques en solution qu'il contient.
- Le résultat est une augmentation considérable de la masse microbienne qui devient alors la proie des protozoaires prédateurs.
- Les eaux de surface assurent en outre le développement des algues qui se multiplient par photosynthèse et grâce aux sels minéraux en dissolution dans l'eau et qui deviennent ensuite la nourriture des protozoaires ou des poissons.

- Les algues sont les principaux producteurs primaires des composés organiques et jouent un rôle central dans la chaîne alimentaire des écosystèmes aquatiques.
- Certaines espèces constituent une source d'alimentation pour l'homme et le bétail, les extraits chimiques des algues sont utilisés dans les industries alimentaires et beaucoup d'autres produits.
- Par ailleurs, des espèces appartenant aux genres *Scenedesmus*, *Chlorella* ont un effet inhibiteur sur *Bacillus cereus* et *Pseudomonas* tandis que d'autres espèces présentent des effets biocides vis-à-vis des coliformes et des Salmonelles. La cyanophytine des algues bleues est inhibitrice de certaines espèces des champignons et des levures pathogènes.

6- Microbiologie des milieux souterrains (aquifères, champs pétrolifères)

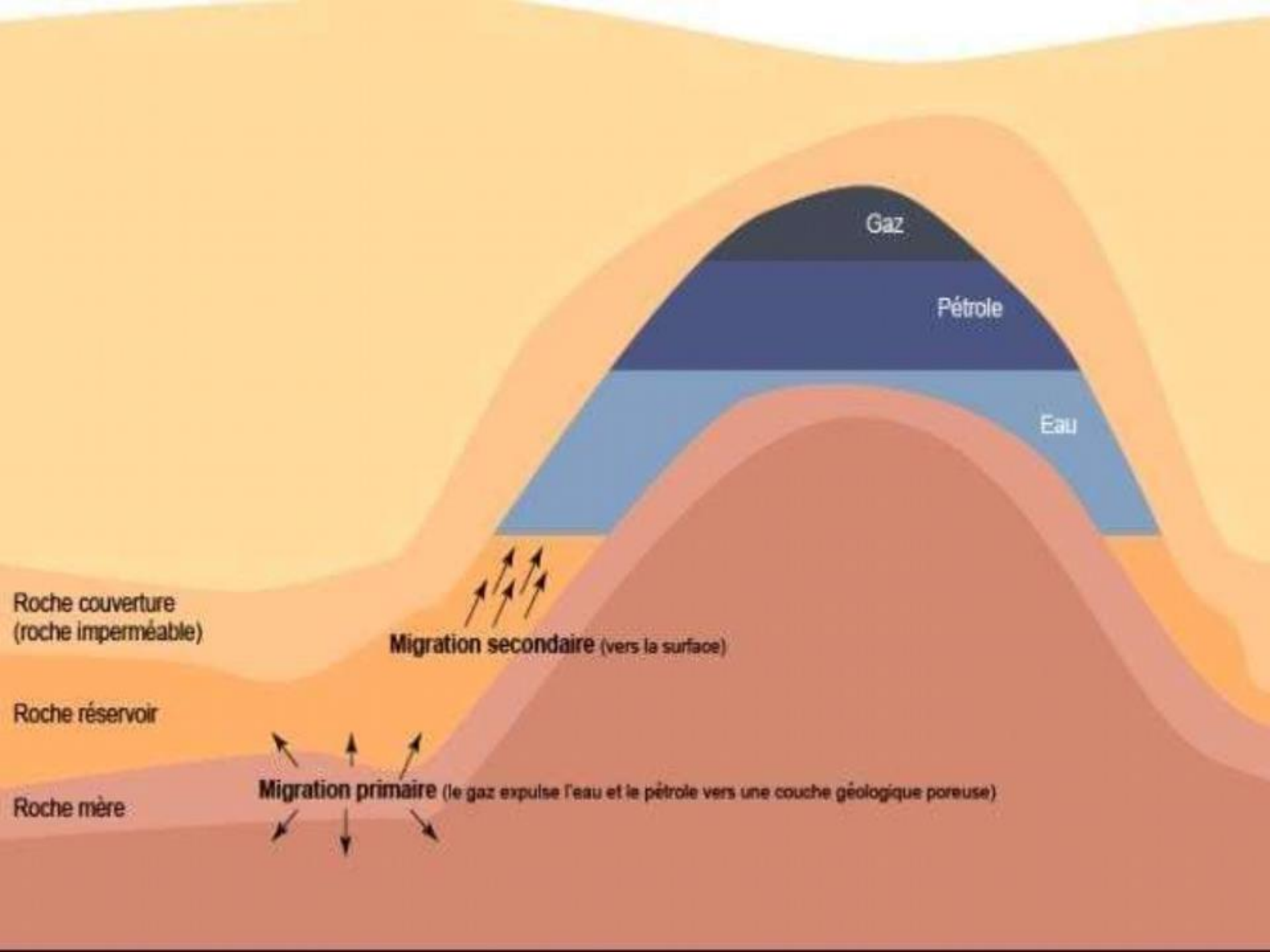
6.1. Microbiologie des champs pétroliers

- Le mot pétrole est d'origine latin « petroleum » qui signifie « huile de roche » ; petra «roche » et oleum « huile ».
- Le pétrole, dont les réserves déterminent notre quotidien, s'est formé, il y a 20 à 350 millions d'années, dans les bassins sédimentaires peu profonds des océans.
- Le pétrole provient d'un mélange d'hydrocarbures et de molécules que l'on retrouve dans des pétroles lourds appelés résines et asphaltènes (contenant eux aussi d'autres atomes, principalement du soufre, de l'azote et de l'oxygène).
- Le pétrole peut se retrouver à l'origine à l'état gazeux, liquide ou solide selon la température et la pression liée à ses conditions d'enfouissement dans le sous-sol.

- Ces différences de compositions imposent une retransformation chimique afin d'obtenir les produits finis escomptés (carburants, bitumes, goudron, kérosène,...).
- Sont désignés comme réservoirs de pétrole, les roches souterraines poreuses et perméables contenant des hydrocarbures (pétrole ou gaz).
- Ces réservoirs de pétrole sont regroupés dans différentes formations géologiques.
- Les micro-organismes animaux et végétaux - le plancton - flottaient dans les couches supérieures des étendues d'eau car la lumière est indispensable à leur survie.

- Lorsqu'ils mouraient, leurs restes se déposaient au fond des océans, où ils se sont accumulés et mélangés aux boues sous-marines pour former des couches de sédiments riches en matières organiques.
- Dans les fonds marins, pauvres en oxygène, les restes de plancton ne pouvant plus se décomposer se sont transformés, au cours des millénaires, en un mélange complexe d'hydrocarbures: le pétrole.
- Cette transformation n'a été possible que par des processus chimiques et biologiques continuels, à des températures de 65°C à 120°C et sous forte pression.

- On a trouvé des archéobactéries hyperthermophiles dans des milieux souterrains. Elles sont probablement indigènes de ces régions.
- Les bactéries Gram positives, qui montrent des degrés divers de ramification et de croissance mécyliale constituent une partie importante de la communauté microbienne du sol.
- On y trouve les corynéformes et les vraies bactéries filamenteuses ou actinomycètes. Ces bactéries jouent un rôle majeur dans la dégradation des hydrocarbures, de la matière végétale ancienne de l'humus des sols.
- Les actinomycètes filamenteux, essentiellement le *Streptomyces*, produit un composé colorant appelé géosmine, qui donne aux sols leur odeur de terre caractéristique.




6.2. Microbiologie de l'aquifère et la nappe

- Le bassin hydrologique est délimité par les lignes de crêtes topographiques isolant le bassin versant d'un cours d'eau et de ses affluents. Il correspond en surface au bassin hydrographique.
- Le bassin hydrogéologique correspond à la partie souterraine du bassin hydrologique.
- Un *aquifère* est un corps (couche, massif) de roches perméables comportant une zone saturée suffisamment conductrice d'eau souterraine pour permettre l'écoulement significatif d'une nappe souterraine et le captage de quantité d'eau appréciable. Un aquifère peut comporter une zone non saturée (définition de Margat et Castany).

- L'aquifère est homogène quand il a une perméabilité d'interstices (sables, graviers); la vitesse de percolation y est lente. Il est hétérogène avec une perméabilité de fissures (granite, calcaire karstique); la vitesse de percolation est plus rapide.
- Une *nappe* est l'ensemble des eaux comprises dans la zone saturée d'un aquifère, dont toutes les parties sont en liaison hydraulique.
- Dans le cas des aquifères, la composition des communautés bactériennes peut également varier en fonction de la disponibilité en carbone et des niveaux de contamination par des composés xénobiotiques.

- Les procaryotes thermophiles et hyperthermophiles vivent à des températures optimales de croissance de l'ordre de 60°C et 80°C, respectivement.
- Ces micro-organismes sont retrouvés dans des habitats géothermiques naturels largement répandus sur notre planète et souvent associés à des zones tectoniques actives.
- Ces écosystèmes peuvent avoir une origine géothermique terrestre : la nature de l'eau va dépendre des roches traversées et elle est généralement associée à une activité volcanique ; la température de l'eau *in situ* sera fonction de la profondeur d'origine pour atteindre des températures inférieures.

7- Adaptation des micro-organismes aux environnements extrêmes

- 
- Un environnement est qualifié d'extrême lorsque les paramètres physico-chimiques qu'il renferme sont le plus souvent hostiles à la vie conduisant en une spécialisation et/ou une diminution de la biodiversité existante :
 - pH inférieur à 5 ou supérieur à 9,
 - pression supérieure à 20 MPa,
 - température supérieure à 50°C ou inférieure à 10°C,
 - concentrations en NaCl supérieures à 3-4 % jusqu'à saturation (35 % en NaCl).

7.1. Micro-organismes psychrophiles

- Les bactéries psychrophiles sont des bactéries adaptées au froid pouvant vivre dans des environnements variés : régions arctiques, glaciers et les océans profonds.
- Ce sont les alpha-, et gamma-protéobactéries mais également les cytophagas-flavobactéries qui dominant.
- Les archées représenteraient jusqu'à 30 % de la population totale dont une majorité de Methanoarchaea.
- Les genres bactériens les plus rencontrés sont : *Alteromonas*, *Colwellia*, *Glacieola*, *Pseudoalteromonas*, *Shewanella* et *Polaribacter*

7.2. Micro-organismes thermophiles et hyperthermophiles

- Ce sont des micro-organismes qui appartiennent aux domaines des *Bacteria* et des *Archaea*.
- Ils interviennent dans la plupart des grands cycles biogéochimiques et notamment celui du soufre.
- Chez les *Bacteria*, il existe un grand nombre de bactéries thermophiles anaérobies hétérotrophes à Gram positif de l'ordre des *Clostridiales* (*Thermoanaerobacterium*, *Carboxydibrachium*, etc.), mais également des espèces aérobies appartenant au phylum des *Deinococcus-Thermus* telles que les espèces des genres *Thermus*, *Rhodothermus*, etc.

- À des températures plus élevées (parfois au-delà de 80°C), on retrouve des membres des phylums *Aquificae*, *Thermotogae* et *Thermodesulfobacteria* qui sont pour la plupart anaérobies capables de réduire les composés soufrés, excepté les *Aquificae*.
- Chez les *Archaea* thermophiles et hyperthermophiles, il existe deux phylums, celui des *Euryarchaeota* regroupant des hyperthermophiles (croissance possible jusqu'à 110°C pour certains) producteurs de méthane ou *Methanoarchaea*.
- On distingue chez les *Methanoarchaea* en particulier, les *Methanococcales* isolées d'environnements hydrothermaux sous marins ou terrestres, les *Methanopyrales* dont l'unique représentant, *Methanopyrus kandleri*, est la *Methanoarchaea* la plus thermophile.

7.3. Micro-organismes halophiles

- Les bactéries halophiles sont classées en trois catégories : les légèrement halophiles (optimum de croissance entre 2 et 5 % de NaCl) ; les modérées halophiles (optimum de croissance entre 5 et 20 % de NaCl) ; et les halophiles extrêmes (optimum de croissance entre 20 et 30 % de NaCl).
- La majorité des halophiles habitent le milieu marin où la concentration est voisine de 3,5 % en sel.
- Les bactéries halophiles (modérées et extrêmes) anaérobies appartiennent à l'ordre des Halanaerobiales qui comprend deux familles : les Halanaerobiaceae et les Halobacteroidaceae.

- On retrouve également dans le domaine des Bacteria, des micro-organismes sulfatoréducteurs modérés halophiles pouvant croître jusqu'en présence de 24 % de NaCl: *Desulfohalobium*.
- Chez les Archaea, les Methanoarchaea anaérobies sont spécialisées dans l'utilisation de composés méthylés.
- En ce qui concerne les aérobies hyperhalophiles, ils appartiennent à la famille des Halobacteriaceae.
- Ils nécessitent un minimum de 10 % de NaCl pour croître et sont hétérotrophes.

7.4. Micro-organismes acidophiles

- Les environnements où sont retrouvés les micro-organismes acidophiles ont généralement un pH 4, et sont souvent riches en métaux lourds et métalloïdes.
- Ils peuvent avoir pour origine des activités volcaniques où l'acidité résulte de l'activité oxydative aérobie des mésophiles ou thermophiles du soufre élémentaire en sulfates et ions hydrogène et les activités minières où les composés sulfurés principalement la pyrite subissent les attaques abiotiques et biotiques en conditions oxydantes pour donner des écoulements d'eaux minières acides composées d'hydroxyde de fer, de sulfates et d'ions hydrogène.

- On compte dans ces environnements acides des chimio-lithotrophes appartenant aussi bien au domaine des Bacteria (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum* spp. etc. chez les mésophiles et *Sulfobacillus* spp. chez les thermophiles) qu'à celui des Archaea (*Ferroplasma* et *Sulfolobus* spp.).
- Les hétérotrophes strictes et facultatives colonisent également les environnements acides, elles appartiennent aux genres *Acidiphilium* et *Acidimicrobium* du domaine des Bacteria.

7.5. Microorganismes alcaliphiles

- Les bactéries alcaliphiles vivent à un $\text{pH} \geq 9$: les alcalitolérantes capables de se développer à $\text{pH} \geq 9$ mais avec un pH optimum de croissance proche de la neutralité et les alcaliphiles dont le pH optimum de croissance est ≥ 9 .
- Les bactéries alcaliphiles peuvent également être halophiles et se développer jusqu'à des concentrations en sel proches de la saturation (35 % de NaCl), notamment dans les lacs et déserts sodiques ou les sources alcalines.

- En ce qui concerne les environnements alcalins salés à fortement salés, ce sont des bassins fermés qui permet d'atteindre une salinité de 35 % en NaCl pour des pH compris entre 8 et 12.
- La diversité microbienne retrouvée dans ces environnements est très variée mais les bactéries halo-alcaliphiles les plus étudiées sont les communautés productrices primaires telles que les cyanobactéries filamenteuses (*Spirulina*, *Anabaenopsis* et *Arthrospira*) ; et les bactéries pourpres anoxygéniques (*Ectothiorhodospira* et *Halorhodospira*) mais également les bactéries fermentaires anaérobies Gram positif à faible G+C %.
- À l'inverse les environnements alcalins faiblement salés sont plus rares.

8- Biotransformation et biodégradation de polluants

8.1. Pollution

- Le terme de pollution désigne les effets des composés toxiques rejetés par l'homme dans l'environnement.
- Il s'applique également à d'autres altérations du milieu de nature physique ou chimique (émission de gaz carbonique dans l'atmosphère par exemple) qui, sans être nocives par elles-mêmes pour la santé humaine, sont susceptibles de provoquer des perturbations écologiques d'ampleur catastrophique.

8.2. Biodégradation et Biotransformation

- Le terme de biodégradation sous-entend l'élimination complète d'un composé avec comme seuls rejets des produits simples tels que H_2O , CO_2 , CH_4 , H_2 , ou encore de l'acétate.
- Elle est souvent mise en évidence par l'emploi de molécules marquées par le C^{14} et la production de gaz carbonique radioactif.
- La biotransformation: transformation d'un produit par un agent biologique. Cette notion implique généralement un métabolisme incomplet du substrat à défaut d'une véritable assimilation par la cellule. Une oxydation, une hydrolyse ou le remplacement d'un atome de chlore par un hydroxyle réalisés dans une molécule par un microorganisme sont des biotransformations.

□ Alexander (1994) considère que six conditions doivent être réunies pour qu'un substrat soit biodégradable:

1. un enzyme capable d'effectuer la dégradation;
2. le microorganisme possédant cet enzyme doit être présent dans le même environnement que le substrat;
3. la molécule à dégrader doit être sous une forme disponible pour son utilisation par le microorganisme;
4. si l'enzyme est intra-cellulaire, le substrat doit pénétrer à l'intérieur de la cellule. Exemple: les polyéthylènes à haut PM;
5. dans le cas d'enzyme inductible, les conditions d'induction doivent être réunies (concentration suffisante de substrat ou présence d'un autre substrat permettant le cométabolisme);

- 6. les conditions de milieu doivent être favorables à la croissance du microorganisme (cas classique de l'aérobiose vs anaérobiose).
- D'une façon générale, bactéries, actinomycètes et champignons sont impliqués dans la dégradation des polluants et des pesticides dans les sols.
- Dans les sols submergés et les environnements anaérobies, ce sont surtout des bactéries qui sont impliquées.
- Dans la zone photique, cyanobactéries et micro-algues peuvent parfois dégrader certains polluants, dont des pesticides, mais sont surtout impliquées dans des processus de bioconcentration.

Composés polluants transformés ou dégradés par la méthane mono oxygénase de bactéries méthanotrophes.

Produit initial	Produit de transformation décelé	Bactéries	MMOs	MMOm	Taux de dégrad. (%)
dichlorométhane	chlorure	<i>Methylosinus OB3b</i> <i>Methylomonas</i>	oui non	oui oui	>98 86 >98
chloroforme	chlorure	<i>Methylosinus OB3b</i> <i>Methylomonas</i>	oui non	oui oui	>99 96 91
1,1-dichloroéthane	chlorure	<i>Methylosinus OB3b</i> <i>Methylomonas</i>	oui non	oui oui	<10 12 97
1,2-dichloroéthane	chlorure	<i>Methylosinus OB3b</i> <i>Methylomonas</i>	oui non	oui oui	>98 >98 >98
1,1,1-trichloroéthane	trichloroéthanol	<i>Methylosinus OB3b</i>	oui	oui	62 10
1,2-dichloropropane	1,2-dichloro-propane-2-ol	<i>Methylosinus OB3b</i>	oui	oui	>99 51
1,1-dichloroéthylène	ND	<i>Methylosinus OB3b</i>	oui	oui	40 18
cis-1,2-dichloroéthylène	cis-époxydes	<i>Methylosinus OB3b</i> <i>Methylomonas</i>	oui non	oui oui	>98 56 24
trans-1,2-dichloroéthylène	trans-époxydes	<i>Methylosinus OB3b</i> <i>Methylomonas</i>	oui non	oui oui	>98 >98 >98
trichloroéthylène	chlorure, trichloroéthanol, trichloroacétaldéhyde	<i>Methylosinus OB3b</i> <i>Methylomonas</i>	oui non	oui oui	>99 <10 <10
trans-1,3-dichloropropylène	chlorure	<i>Methylosinus OB3b</i>	oui	oui	85 48
2-chlorobiphényl	hydroxydichloro-biphényl	souche CSC1 <i>Methylomonas</i>	oui	non oui	40 <10
4-chlorobiphényl	hydroxydichloro-biphényl	souche CSC1 <i>Methylomonas</i>	oui	non oui	30 <10
2,4-dichlorobiphényl	hydroxydichloro-biphényl	souche CSC1 <i>Methylomonas</i>	oui	non oui	25 <10
4-hydroxy-2-chlorobiphényl	dihydroxychloro-biphényl	souche CSC1 <i>Methylomonas</i>	oui	non oui	15 <10

9- Relations symbiotiques / syntrophiques avec des organismes eucaryotes

9.1. Symbioses micro-organismes - eucaryotes

- Dans la définition originelle introduite par De Bary en 1879, « toute association qui s'établit dans la durée entre deux organismes spécifiquement distincts peut être qualifiée de symbiose ».
- La symbiose englobe ainsi un ensemble d'associations qui se positionnent sur un continuum allant du parasitisme au mutualisme.

- Les associations entre les micro-organismes et les eucaryotes constituent celles où la plus grande diversité est observée.
- Ces associations présentent également une caractéristique majeure : le symbiote possède un génome de taille relativement réduite, notamment dans le cas des symbiotes bactériens.
- Des associations avec des bactéries ont été mises en évidence aussi dans des organes concernés par l'excrétion des produits azotés chez les espèces à coquille (seiches).

- Divers organismes marins vivent en étroite symbiose avec des populations denses de bactéries chimioautotrophes.
- D'autres associations interviennent néanmoins de façon déterminante au niveau de processus physiologiques de l'hôte.
- Chez les végétaux, certaines plantes vertes fournissent à leurs associés les aliments glucidiques résultant de leur photosynthèse, en échange de l'humidité, de la protection, d'aliments azotés.

9.2. Syntrophisme:

- La coopération et le commensalisme sont deux types de symbiose positifs mais non obligatoires, largement répandus dans le monde microbien. Ils impliquent des relations syntrophiques.
- Le syntrophisme (du grec: syn, ensemble, et trophe, nourriture) ou cross feeding :est une association où la croissance d'un organisme dépend ou est améliorée par des facteurs de croissance, des nutriments ou des substrats, fournis par un autre organisme se développant à proximité. Parfois les deux organismes en tirent bénéfice.

10- Biotechnologie et bioprospection

10.1. Biotechnologie

- Même si le terme a été fondé en 1913 par Ereky, les biotechnologies prises dans le sens de l'utilisation de la matière vivante pour la production de biens et de services, ne datent pas de cette époque.
- Il s'agit un domaine d'activités qui consiste à caractériser et utiliser dans des applications variées, des molécules ou organismes vivants montrant des propriétés particulières et étonnantes. Elles sont telles, qu'elles présentent un intérêt indéniable pour l'homme.

En fonction de leur champ d'application on a classé les biotechnologies en catégories repérées par des couleurs :

□ **Biotechnologie rouge :**

Elle concerne la médecine (santé humaine ou médecine vétérinaire), la cosmétologie... Elle est la mieux perçue car touche le vaste domaine des médicaments (l'industrie pharmaceutique).

□ **Biotechnologie verte :**

Son domaine d'application : l'agriculture, l'agrochimie, l'agro-alimentaire. Elle fait appel au génie génétique, pour améliorer de façon ciblée, la résistance des végétaux aux insectes, aux champignons, aux virus....

□ Biotechnologie bleue :

Concerne essentiellement l'aquaculture.

□ Biotechnologie blanche :

Correspond aux applications de l'industrie chimique par utilisation de systèmes biologiques à la place des procédés chimiques classiques, pour la synthèse de molécules variées (carburants, polymères, dissolvants, peintures, textiles).

□ Biotechnologie grise ou jaune :

C'est le domaine des technologies environnementales : assainissement des sols, traitement des eaux, épuration des gaz résiduels et de l'air, recyclage des déchets et résidus.

10.2. Bioprospection

- La biotechnologie, telle qu'elle se pratique actuellement, est intimement liée à la biodiversité.
- La recherche de produits naturels et de propriétés originales dans des substances qui se trouvent dans la nature - ce que l'on appelle souvent la bioprospection - et leur exploitation à l'échelle industrielle ne sont apparues qu'au cours des dernières années.
- Même si elle débouche sur les biotechnologies industrielles, la démarche de bioprospection se situe en amont ; elle est aussi très antérieure au développement des biotechnologies.

- ❑ Scientifiquement, on peut la dater de 1820, date à laquelle Pelletier et Caventou ont extrait la quinine de l'écorce du quinquina.
- ❑ La bioprospection offre aujourd'hui des potentialités importantes, mais fait également problème, tant du fait d'une équation économique qui n'est pas toujours facile à valoriser, que du biopiratage des ressources auquel elle peut donner lieu.
- ❑ Plusieurs s'entendent pour dire que la bioprospection est porteuse de progrès et d'innovation, et que l'humanité pourra grandement bénéficier du développement de nouveaux produits provenant des découvertes.