

# INTERACTIONS MICROBIENNES

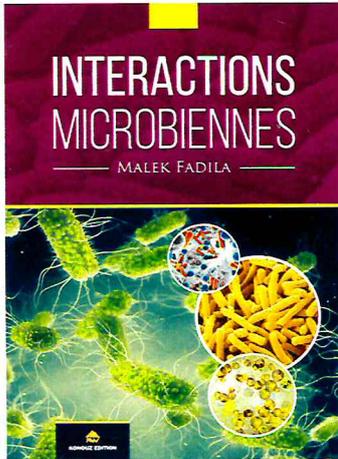
— MALEK FADILA —



KONOUZ EDITION

# INTERACTIONS MICROBIENNES

MALEK FADILA



Les interactions microbiennes s'expriment le plus souvent en termes de symbioses positives (commensalisme, coopération, mutualisme) ou négatives (antagonisme, parasitisme, prédation) et sont des composantes essentielles de tout écosystème vivant. Les conséquences de ces interactions à l'égard des organismes supérieurs sont illustrées via des exemples classiques tels que les associations bénéfiques des mycètes avec les plantes ou mycorhizes, ainsi que celles plus complexes du microbiote intestinal et de son impact sur la santé de l'homme. Des exemples plus originaux sont également abordés à travers de brèves

descriptions de l'endosymbiose obligatoire des thiobactéries avec les vers tubicoles, de la stratification verticale des communautés des tapis microbiens, ou de la synécologie du yaourt. Un système de régulation à la base des interactions microbiennes: le quorum-sensing ou QS, est également décrit.

**Dr. Malek Fadila** est Maître de conférences en Microbiologie et enseignante à l'université de Tlemcen depuis 1996. Sa thèse de doctorat soutenue en 2013 à l'université de Tlemcen, traite du problème des bactéries sporulées, en particulier *Bacillus cereus*, et de leurs biofilms en industrie laitière, thème de recherche auquel elle s'est consacrée pendant près de deux décennies. Elle est également l'auteure d'un article revue sur cette thématique, publié en 2019 dans *Canadian journal of microbiology*. Après un enseignement diversifié dans le domaine de la microbiologie, elle se consacre uniquement à la formation des mastérants. Elle est à l'origine de la création du 1er master de microbiologie en 2008, et a pris en charge la création en 2015, du 2eme master: Microbiologie appliquée, devenu Microbiologie et contrôle de qualité après l'harmonisation des masters en 2016.



المركز العلمي للنشر والتوزيع  
حبيب المخوخ الباب الخلفي  
المستشفى - تلمسان الجزائر  
الهاتف/فاكس: 043 - 41 - 72 - 61 - 213  
المحمول: 04 - 29 - 96 - 551 - 01 - 213

[www.kkonouz.com](http://www.kkonouz.com) [kkounouz@yahoo.fr](mailto:kkounouz@yahoo.fr)

Bibliothèque Nationale d'Algérie, 2020  
Dépôt légal: 2<sup>ème</sup> semestre, 2020



789931 828051

Malek Fadila

# **Interactions Microbiennes**



**KONOUZ EDITIONS**

© Bibliothèque nationale d'Algérie. 2020

ISBN : 000 - 0000 - 000 - 00 - 0

Dépôt légal : 2<sup>ème</sup> semestre, 2020.

## Introduction

Ce fascicule de microbiologie à vocation informative et pédagogique est le fruit d'un parcours long de plusieurs années d'enseignement de la matière: Interactions microbiennes aux étudiants de master en microbiologie. Il est destiné aux étudiants de cette spécialité, en premier cycle (licence) et en 2eme cycle (master). Il s'agit d'une synthèse simplifiée, construite sur la base de la lecture et de l'analyse des références scientifiques citées à la fin de l'ouvrage et illustrée par des représentations choisies dans ces références, dans le respect de la propriété intellectuelle de leurs auteurs, tout le mérite leur revenant en premier. Qu'ils en soient remerciés.

La diversité des écosystèmes microbiens, dans leur simplicité ou leur complexité, rend impossible l'étude des interactions des microorganismes, entre eux, avec les autres organismes vivants ou avec leur milieu, comme un tout indissociable. Celles-ci ne peuvent être abordées que par rapport à un contexte particulier qui est le propre de l'écosystème considéré. Cette ambiguïté relève de celle liée à l'écologie microbienne qui correspond à l'étude des microorganismes dans *leurs* environnements (Prescott et al., 2010). Ces derniers peuvent être un grain de sable, une radicule, ou une matrice cellulaire, alimentaire ou environnementale plus complexe. Les situations qui en résultent sont innombrables.

Cet ouvrage regroupe les interactions microbiennes à partir d'exemples bien choisis, pour permettre aux étudiants d'accéder à un ensemble de connaissances et de concepts scientifiques dans le domaine de la microbiologie, et d'en saisir pleinement la portée. Ces exemples simplifiés couvrent les différents domaines où la microbiologie est utile à savoir, les aliments, la santé, et l'environnement et sont accompagnés de nombreuses représentations graphiques dans le but de mieux expliciter les concepts théoriques et d'en comprendre les applications potentielles. L'utilisation des couleurs rend ces illustrations plus attrayantes pour les étudiants.

Ces exemples d'interactions sont ainsi des modèles prélevés dans des écosystèmes aussi variés que la rhizosphère, les abysses océaniques, les tapis microbiens, le tube digestif ou les matrices alimentaires tels que les laits fermentés, et constituent la 2eme partie de l'ouvrage. La première partie de celui-ci, consiste en une description sommaire des concepts propres à l'écologie microbienne et ses particularités, notamment la chimiosynthèse à la base des écosystèmes abyssaux, l'état viable et non cultivable des bactéries (VNC) et les contraintes liées à l'approche méthodologique pour caractériser les communautés microbiennes dans leurs environnements.

J'espère que ce petit ouvrage de microbiologie, traitant des interactions microbiennes telles que vues par le regard d'une enseignante universitaire, qui a essayé de synthétiser et de simplifier les travaux d'éminents scientifiques, sera utile aux étudiants de mon pays.

Table des matières

**I. Quelques éléments d'écologie microbienne1**

Introduction1

Notion d'écosystème1

**Le réseau trophique microbien2**

Les écosystèmes microbiens non conventionnels3

La chimiosynthèse4

L'écologie microbienne et ses méthodes: les contraintes5

Le microenvironnement5

Les microorganismes viables non cultivables (VNC)6

    Définition de l'état VNC6

    Les formes VNC des aliments6

    Les formes VNC de l'environnement7

Les techniques moléculaires d'écologie microbienne7

    La T-RFLP7

    La DGGE8

    L'ARISA8

    L'AFLP10

**II. Les interactions microbiennes11**

Les symbioses11

Les associations symbiotiques positives11

    Le mutualisme11

    La coopération11

    Le commensalisme12

Les associations symbiotiques négatives12

    La prédation12

        La prédation chez les protozoaires12

        La prédation fongique12

        La prédation chez les bactéries12

- Le parasitisme 14
  - L'amensalisme 14
- La compétition 14
- Les interactions microorganismes-plantes 14
  - Les mycorhizes 15
    - Les ectomycorhizes 16
    - Les endomycorhizes 17
    - Importance biotechnologiques des mycorhizes 18
  - Bactéries stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR) 18
  - Les associations tri et tétra-partites 19
  - Interaction pathogène à *Agrobacterium* 19
- Les interactions microorganismes-animal 21
  - Interaction termite-protazoaire 21
  - Interaction puceron-bactérie 22
  - Interaction coraux-zooxanthelles 23
- Les interactions microorganisme-microorganisme 24
  - Interaction mycète-algue: les lichens 24
  - Interaction bactérie-bactérie 25
    - Symbiose mutualiste 25
    - Synthrophisme 25
    - Processus symbiotique coopératif 25
    - Processus associatif commensal 26
      - Les bactéries de la nitrification 26
      - Les écosystèmes méthanogènes 26
      - La modification de l'environnement 26
  - Avantages de la prédation chez les microorganismes 27
    - Épuration des eaux usées 27
    - Les boucles microbiennes 27
    - Protection des pathogènes 27

Production de molécules bioactives27

La compétition chez les microorganismes28

### **III. Synécologie29**

Les tapis microbiens29

Organisation et composition des tapis microbiens30

Les groupes microbiens fonctionnels majeurs31

Structure verticale des communautés et gradients32

Synécologie des tapis microbiens33

Rôle fonctionnel des tapis microbiens33

Synécologie du yaourt34

Synécologie du microbiote intestinal35

Composition du microbiote intestinal humain36

Les entérotypes37

Rôle du microbiote37

Interaction microbiote intestinal et système immunitaire39

Etude des interactions du microbiote40

### **IV. Communication et signalisation intercellulaire41**

Chez les organismes eucaryotes41

Chez les bactéries: Le quorum sensing (QS)41

Définition et principe41

Le QS chez *Vibrio fisheri*44

Le QS chez *Pseudomonas aeruginosa*46

Implication du QS de *P. aeruginosa* en pathologie47

Rôle du QS dans la formation de biofilms48

Inhibition du QS48

Le QS chez *Staphylococcus aureus*49

Le QS chez *Myxococcus xanthus*50

### **Références bibliographiques51**



## 1. Quelques éléments d'écologie microbienne.

### 1.1. Introduction

Les microorganismes sont partout ce qui pose le problème de leur habitat et leur diversité est souvent supérieure à celle des organismes supérieurs. Toutefois ils abondent dans certains environnements plus que dans d'autres. Dans les milieux naturels, les interfaces sont les lieux de prédilection pour la croissance des microorganismes. Dans le sol la rhizosphère est un des lieux privilégiés entre plantes et microorganismes essentiellement les bactéries et les champignons. Dans les milieux anthropisés, tels que l'industrie, les processus technologiques sélectionnent des groupes microbiens particuliers et créent une biodiversité microbienne qui leur est propre.

L'expression écologie microbienne est aujourd'hui utilisée d'une façon générale pour décrire la présence des microorganismes et leurs contributions, au travers de leurs activités, aux endroits où on les trouve. Dans la définition qui en est donnée, le terme *leur* environnement remplace l'environnement: L'écologie microbienne est l'étude du comportement et des activités des microorganismes dans leurs environnements naturels. En outre, l'environnement des microorganismes est constitué d'une multitude de microenvironnements caractérisés par des communautés microbiennes spécifiques et parfois l'émergence de groupuscules inhabituels. Par ailleurs, une façon dont les microorganismes créent leur propre environnement et niches est la formation de biofilms qui sont des systèmes organisés faits de couches de cellules associées à des surfaces. Les biofilms constituent un facteur important dans presque tous les domaines de la microbiologie.

Cette introduction souligne l'importance de l'écologie microbienne qui permet de comprendre les fonctionnements des microorganismes et des écosystèmes microbiens pour mieux les utiliser, les maîtriser ou les combattre.

### 1.2. Notion d'écosystème

Dans les milieux naturels ou anthropisés, les microorganismes fonctionnent en tant que populations ou assemblage d'organismes similaires et en tant que communautés ou mélanges de populations microbiennes différentes et font partie d'écosystèmes complexes où ils jouent des rôles essentiels. Les microorganismes jouent un rôle absolument central pour le bon fonctionnement des écosystèmes, notamment aquatiques. Ils interviennent ainsi de façon décisive dans les cycles biogéochimiques (carbone, azote, oxygène, etc.) et exercent une influence directe sur la chimie des eaux. Les processus tels que la fixation de l'azote, la réduction des sulfates ou la méthanogenèse ne pourraient se produire en conditions naturelles sans l'activité biologique des procaryotes.

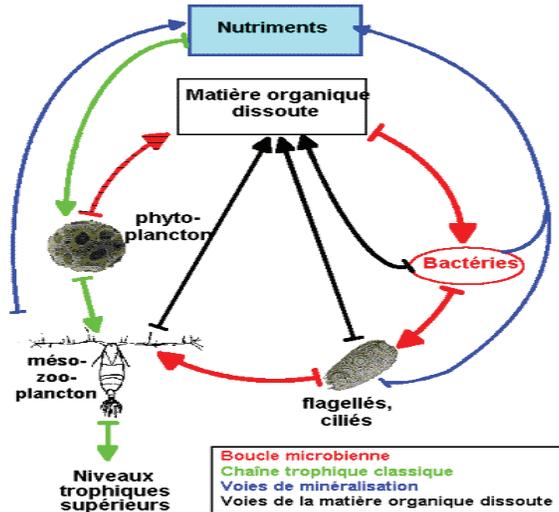
Les écosystèmes microbiens se mesurent à l'échelle du micromètre d'où la difficulté de leur étude *in situ*. En outre, le microenvironnement est caractérisé par sa grande diversité dans sa simplicité ou sa grande complexité.

Les écosystèmes vivants sont caractérisés par des flux d'énergie et des échanges de matières et fonctionnent à travers la chaîne alimentaire. Les microorganismes jouent des rôles clés dans les chaînes alimentaires classiques où ils peuvent intervenir en tant que producteur, consommateur et décomposeur. Ce dernier rôle les rend totalement irremplaçables, sachant qu'ils sont les seuls organismes vivants capables de la minéralisation de la matière organique.

### 1.3. Le réseau trophique microbien

Les microorganismes interviennent dans les toutes chaînes alimentaires classiques, mais ils s'intègrent aussi dans ces dernières sous la forme de chaînes trophiques microbiennes appelées les boucles microbiennes. Les bactéries hétérotrophes utilisant la matière Organique Dissoute (MOD) détritique, sont consommées par le nanoplancton hétérotrophe (flagellés et ciliés), à son tour consommé. Une partie de la

biomasse bactérienne produite va parvenir jusqu'aux consommateurs terminaux plus rapidement en s'ajoutant aux flux décrits par la chaîne alimentaire classique (figure 1).



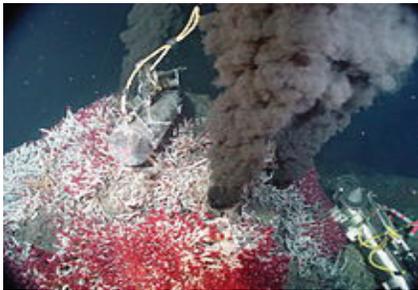
**Figure 1: Représentation simplifiée du réseau trophique microbien**

Le concept de la boucle microbienne a été formulé dans les années 80 (Azam et al., 1983). Dans ce modèle, il est sous-entendu que 25% de la production primaire est utilisée par la boucle microbienne. Les bactéries, les Flagellés et les Ciliés permettent ainsi un transfert de matière et d'énergie vers les maillons trophiques supérieurs. Les bactéries consomment une fraction importante de la matière organique dissoute, dont une large partie provient du phytoplancton. Elles sont une source de nourriture pour les Protozoaires (Flagellés, Ciliés), eux-mêmes consommés par le zooplancton. Sur le modèle « classique » de chaîne trophique linéaire vient se brancher une « boucle microbienne » où les bactéries hétérotrophes jouent un rôle clef.

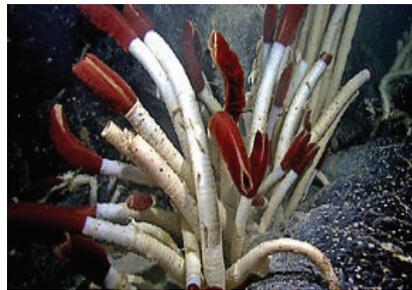
#### 1.4. Les écosystèmes microbiens non conventionnels.

Des écosystèmes vivants caractérisés par une faune luxuriante ont été découverts en 1977 dans les fonds abyssaux, à plus de 2500 m de

profondeur dans les îles Galapagos (océan pacifique), lors d'expéditions sous-marines effectuées par des géologues américains. Près de sources hydrothermales, se développent dans l'obscurité la plus totale, des communautés animales d'une grande richesse, poissons, mollusques bivalves gastéropodes et crevettes en plus de formes animales nouvelles: les vers tubicoles, *Riftia pachyptila* (figure 2). Ces vers dépourvus de bouches et de tube digestif vivent d'une symbiose mutualiste avec des thiobactéries.



Une communauté de vers tubicoles géants à la base d'un mont hydrothermal



Vers tubicoles géants *Riftia pachyptila*

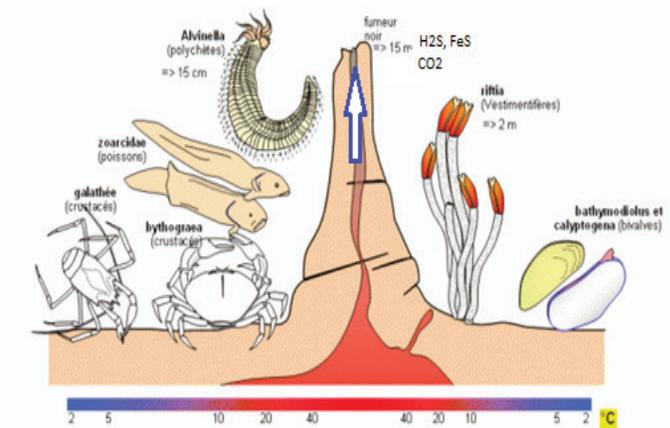


Figure 2:Faune hydrothermale.

Des bactéries qui utilisent l'énergie de l'oxydation des sulfures présents dans le fluide hydrothermal sont le premier maillon de cette chaîne alimentaire. Elles sont directement consommées par des organismes

brouteurs (gastéropodes) eux même la cible de consommateurs secondaires (crustacés et poissons). Mais ces bactéries peuvent également établir de véritables symbioses avec des organismes tels que les vers tubicoles et quelques bivalves.

### 1.5. La chimiosynthèse

Ces écosystèmes fonctionnent en l'absence de photosynthèse et avec des organismes pouvant supporter des conditions de température, de pression, et d'acidité incompatibles avec la vie. Il s'agit de milieux extrêmes non conventionnels dont la production primaire est une chimiosynthèse et non la photosynthèse classique.

Cet écosystème est basé sur une production primaire assurée par des bactéries chimiolithotrophes qui vivent libre ou en symbiose avec les vers tubicoles dans un organe spécialisé: le trophosome (figure 4). Les fluides issus des fontaines hydrothermales sont anoxiques, contiennent de fortes concentrations de sulfures d'hydrogène ( $H_2S$ ) et peuvent atteindre une température de  $350^{\circ}C$ . Cependant à cause de la pression atmosphérique, l'eau ne bout pas. L'eau de mer aux alentours de ces fontaines accusent des concentrations en sulfures voisines de  $250 \mu M$  et des températures supérieures de  $10$  à  $20^{\circ}C$  à celle de l'eau de mer ambiante qui est de  $2^{\circ}C$ . L'oxygène et les sulfures nécessaires à la chimiosynthèse des bactéries sont puisés par le ver au niveau des filaments branchiaux dans la fumée chargée de gaz libérés par la cheminée, puis sont transportés vers les bactéries grâce à une hémoglobine particulière et transformés en matière organique assimilable.

La réaction au niveau des sources hydrothermales est souvent la suivante:

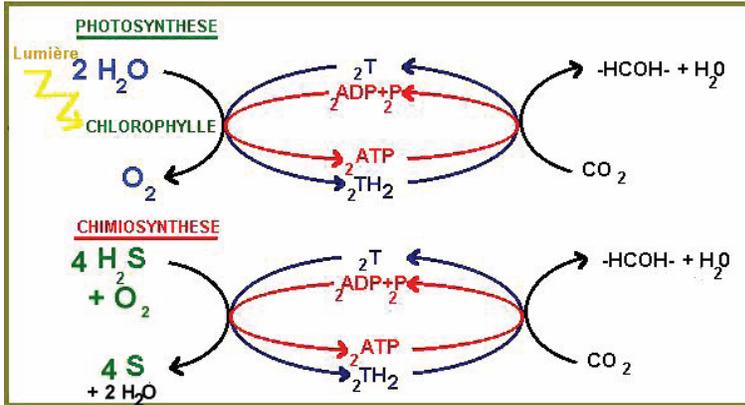


Figure 3: La chimiosynthèse dans les monts hydrothermaux.

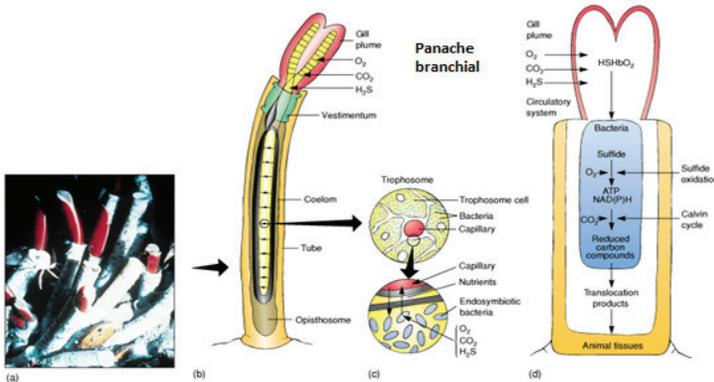


Figure 4: La relation ver tubicole-bactérie.

- (a) Une communauté de vers tubicole (*Riftia pachyptila*). Chaque ver mesure plus d'un mètre de long et possède un panache branchial de 20 cm. (b, c) illustration schématique de l'organisation anatomique et physiologique de l'animal (tube protecteur, panache branchial respiratoire, trophosome). (d) oxygène, dioxyde de carbone et sulfure d'hydrogène sont absorbés par le panache branchial et transportés

jusqu'aux cellules sanguines du trophosome contenant les bactéries endosymbiotiques. Le sulfure d'hydrogène se fixe à l'hémoglobine du ver ( $\text{HSHbO}_2$ ) et est acheminé vers ces bactéries. Celles-ci oxydent ce sulfure d'hydrogène et utilisent une partie de l'énergie libérée pour fixer le  $\text{CO}_2$  via le cycle de calvin. Une fraction des composés carbonés réduits, synthétisés par l'endosymbiote est transférée aux tissus de l'animal.

## **1.6. L'écologie microbienne et ses méthodes: les contraintes.**

Deux problèmes majeurs se posent à l'étude des microorganismes dans leur environnement et à la compréhension des interactions microbiennes.

### **1.6.1. Le microenvironnement**

La taille des microorganismes pose le problème de leur microenvironnement dont l'étude requiert une amplification des activités microbiennes par des appareils appropriés. En effet, la petite taille du microenvironnement impose des contraintes pour la mise au point d'instruments adaptés à des mesures au voisinage du microorganisme. Des micro-électrodes pour la mesure du taux d'oxygène ou du pH en sont deux exemples. Ces sondes très fines sont pourvues d'extrémités dont le diamètre est compris entre 5 et 10  $\mu\text{m}$ . Grâce à ces instruments, il a été montré qu'à proximité d'une colonie la concentration en oxygène et le pH pouvaient varier sur une distance de quelques  $\mu\text{m}$ .

### **1.6.2. Les microorganismes viables non cultivables (VNC).**

Un autre problème dans l'étude des communautés microbienne des écosystèmes complexes est que la plupart des microorganismes observables ne sont pas cultivables. Ceci a constitué un véritable obstacle à l'identification et la caractérisation des communautés microbienne du sol, du milieu aquatique et du microbiote intestinal. Des différences sont notées entre les microorganismes observables par microscopie et les microorganismes cultivables à partir des mêmes échantillons microbiens

du sol ou de l'eau. De nombreuses études ont montrées que plus de 99% des espèces présentes dans l'environnement seraient dans un état VNC, c'est-à-dire que la proportion de cellules cultivables sur des milieux de culture conventionnels peut être très faible par rapport au nombre total de cellules (de l'ordre de 1% voire 0.1%). Plusieurs hypothèses ont été émises: complexité des matrices environnementales, compétitivité de la flore viable et cultivable dans ces matrices. L'état viable non cultivable (VNC) a été étudié en détail chez les bactéries. En revanche, chez d'autres microorganismes y compris en particulier les eucaryotes, il a reçu beaucoup moins d'attention.

### **Définition de l'état VNC**

Une bactérie à l'état viable non cultivable a perdu sa capacité à se multiplier sur milieu de culture conventionnel mais possède une activité métabolique. Ces bactéries peuvent retrouver leur « cultivabilité », phénomène appelé parfois « ressuscitation ». Le passage à l'état VNC d'une bactérie est une stratégie qui permet aux cellules de survivre dans des conditions non favorables, il s'agit d'un état réversible à l'image de la sporulation des bacilles à Gram positif tels que *Bacillus* ou *Clostridium*. Les cellules bactériennes entrent en état VNC lorsqu'elles sont soumises à des stress tels que les basses ou hautes températures, variation de la pression osmotique, carence nutritive, stress oxydatif provoqué par l'oxygène et les dérivés actifs de l'oxygène, la déshydratation, l'exposition prolongée à la lumière naturelle ou le déficit nutritionnel.

### **Les formes VNC des aliments**

Les bactéries présentes dans les aliments sont soumises à des stress générés par les traitements tels que le stockage prolongé à 4°C, aliments salés ou fumés, agents conservateurs ou encore pasteurisation. Ces traitements peuvent empêcher la prolifération bactérienne et induire la présence de formes VNC. De nombreuses espèces bactériennes, et notamment celles pathogènes pour l'Homme, sont décrites comme pouvant se trouver dans un état non cultivable dans l'environnement ou dans les

denrées alimentaires. Beaucoup de pathogènes alimentaires pourraient se trouver dans les denrées alimentaires à l'état VNC et constituer un danger en se développant dans l'organisme de l'hôte. L'état de pathogénicité d'un microorganisme n'est pas lié à son état de cultivabilité. Il a été démontré que les microorganismes viables non cultivables peuvent jouer des rôles critiques dans l'apparition des maladies. Ce constat soulève un problème de santé publique. Les formes VNC dans l'alimentation humaine seraient par définition non détectables par les méthodes conventionnelles de recherche de germes pathogènes, ces méthodes se basant principalement sur l'utilisation de milieux de culture.

### **Les formes VNC de l'environnement**

De même, dans l'environnement, les conditions naturelles dans lesquelles se trouvent les bactéries ne sont pas toujours optimales pour leur croissance et favorisent l'apparition de formes VNC. L'état VBNC permet de maintenir en survie les bactéries touchées par les différents stress environnementaux. Il pourrait aussi correspondre à une forme programmée d'adaptation et de résistance durable. Dans les milieux tellurique ou aquatique, l'état VNC est également présent chez une fraction non négligeable de la flore bactérienne de ces milieux à savoir les bactéries oligotrophes. Celles-ci se développent en présence de faibles concentrations de carbone organique de l'ordre de quelques mg par litre de milieu de culture et ne sont pas mises en évidence sur milieux ordinaire.

### **Les techniques moléculaires d'écologie microbienne.**

Ce sont les méthodes de biologie moléculaire qui ont apporté la solution au problème de la cultivabilité des microorganismes, et ont montré que la biodiversité microbienne des écosystèmes complexes (tube digestif, milieu aquatique, sol..) était sous-estimée. La biologie moléculaire a permis de réaliser de grands progrès dans l'identification taxonomique et la caractérisation fonctionnelle des communautés microbiennes dans ces environnements. Grâce à la PCR qui permet d'amplifier par milliards des fragments de gènes, des techniques moléculaires reposant principa-

lement sur l'étude du gène ADNr 16S, ont donné un nouvel élan à l'écologie microbienne. A partir de ces approches, il est possible de décrire la diversité microbienne *in situ* à un instant  $t$ , et dans un espace donné. Les paramètres définissant la diversité à savoir la richesse en espèces (nombre d'espèce au sein d'une communauté) et la régularité (Evenness) sont désormais plus aisés à déterminer.

Ces techniques sont nombreuses mais comprennent en général un canevas semblable. Tout d'abord, l'ADN doit être extrait, puis amplifié, parfois traité et enfin visualisé ou séquencé. Parmi les nombreuses techniques moléculaires d'analyse de la biodiversité la T-RFLP, la DGGE, l'AFLP et plus récemment l'ARISA sont décrites comme étant des méthodes efficaces pour étudier la diversité microbienne.

### **La T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism).**

La T-RFLP est une méthode rapide d'analyse des communautés microbiennes basée sur le polymorphisme de restriction. A partir de l'ADN génomique extraits d'échantillons, une PCR amplifiant le gène codant pour l'ADNr 16S est réalisée à l'aide d'amorces marquées en 5' par un fluorochrome. Le produit d'amplification est ensuite digéré par une ou plusieurs endonucléases de restriction. Les fragments sont séparés par électrophorèse capillaire. Seuls les fragments de restriction terminaux fluorescents seront détectés. Les résultats obtenus constituent une empreinte de la communauté analysée. L'analyse des fragments de restriction terminaux ou T-RFs est possible grâce aux bases de données des séquences ADNr 16S et des programmes d'analyse des profils. Les profils obtenus peuvent être enregistrés dans des bases de données, comme, par exemple, le Ribosomal Database Project, ce qui permet aujourd'hui d'identifier une espèce présente sur un profil de T-RFLP sans passer par un séquençage.

De par la rapidité de cette technique, la quantité d'information et de résultats produits demandent des analyses statistiques supplémentaires à

l'analyse des profils T-RFLP. Ceci permet la possibilité d'intégrer des données additionnelles tels que les facteurs environnementaux afin d'appréhender leur rôle dans la diversité observée. Des approches de clonage des T-RFs ont également été développées afin de compléter cette technique de la T-RFLP par une identification des communautés observées.

### **La DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)**

La technique de la DGGE permet de discriminer des fragments d'ADN de tailles identiques (200-700 pb), mais de composition en bases différentes (substitution de bases). Son principe est basé sur la différence de mobilité électrophorétique des fragments d'ADN amplifiés en fonction de leurs températures de fusion. La température de fusion d'un produit PCR, c'est-à-dire la température moyenne de dénaturation des deux brins est fonction de sa séquence. Une modification de séquence entraîne ainsi une modification de la température de fusion. Cette modification est mise en évidence par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence d'un gradient d'agent dénaturant (formamide, urée).

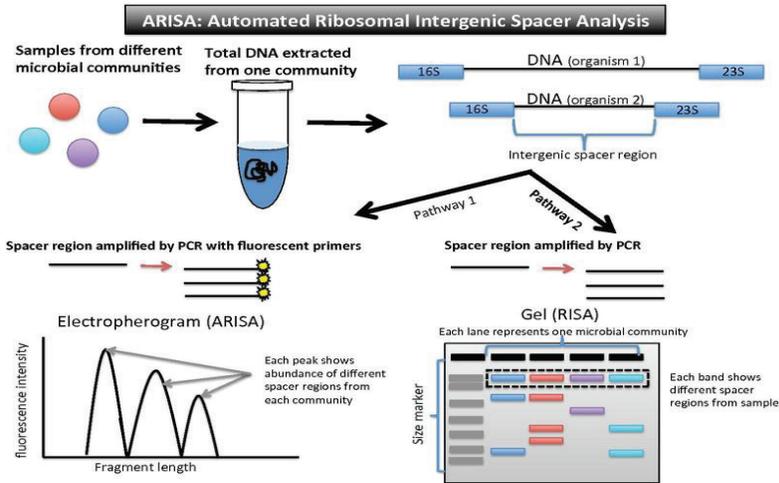
En écologie microbienne, les échantillons étudiés sont comparés sur leurs contenus en ADNr 16S, image des différentes communautés bactériennes présentes. L'avantage de cette technique est de pouvoir déterminer les différentes séquences détectées par excision des bandes du gel, ré-amplification et séquençage. Cette méthode est fortement appropriée à l'étude d'écosystèmes microbiens et à leur dynamique des populations.

La DGGE présente quelques variantes, au niveau des gradients mis en jeu:

- TGGE (Temperature Gradient Gel Electrophoresis): la séparation des fragments amplifiés se fait sous l'effet d'un gradient de température.
- TTGE (Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis): la séparation se fait sur un gel sous l'effet d'un agent dénaturant en concentration uniforme et d'une température graduellement croissante.

**L'ARISA (Automated Ribosomal IntergenicSpacerAnalysis).**

L'analyse automatisée de l'espace intergénique de l'ADN ribosomal (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis ou ARISA) est un profil automatisé de RISA. L'ITS est amplifié par PCR en ajoutant un marqueur de fluorescence aux amorces. Les amplicons sont ensuite séparés par électrophorèse capillaire et les pics de fluorescence sont enregistrés. L'inconvénient principal est toujours lié au nombre de copies différentes de cette séquence intergénique, 85 % des espèces produisant deux voire trois pics. L'ARISA fournit rapidement des profils contenant peu d'informations mais permettant des comparaisons entre les populations. Tout comme la T-RFLP, elle a une très bonne répétabilité.

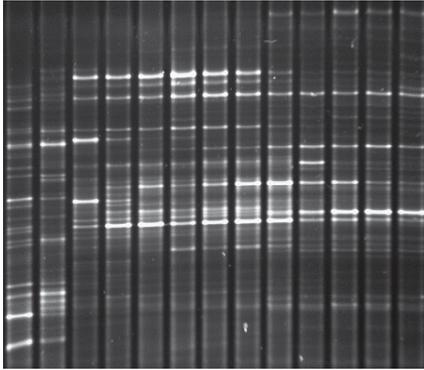


**Principe de la méthode ARISA (Automated Ribosomal IntergenicSpacer Analysis).**

Les données des profils ARISA sont convertis par le logiciel PrepRISA en un tableau de données intégrant la taille des bandes et l'intensité des bandes. Une analyse en composante principale réalisée sur une matrice de covariance obtenue à partir de ce tableau de données est ensuite réalisée, permettant de rendre compte des différences ou similitude entre communautés bactériennes. Seul le plan factoriel des axes 1 et 2 est pré-

senté car la variabilité expliquée par ces deux axes renseigne sur les différences entre traitements. Sur l'axe 3 la variabilité observée correspond à de la variabilité entre répétitions au sein d'un même traitement.

40 60 90 100 160 180 220 240 260 270 320 360 400



Analyse de communautés bactériennes par électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE). Les différentes bandes correspondent à autant d'espèces et leur intensité donne une indication de la fréquence relative de l'espèce concernée.

**Empreintes moléculaires**



**L'ARISA: méthode de génotypage des communautés microbiennes.**

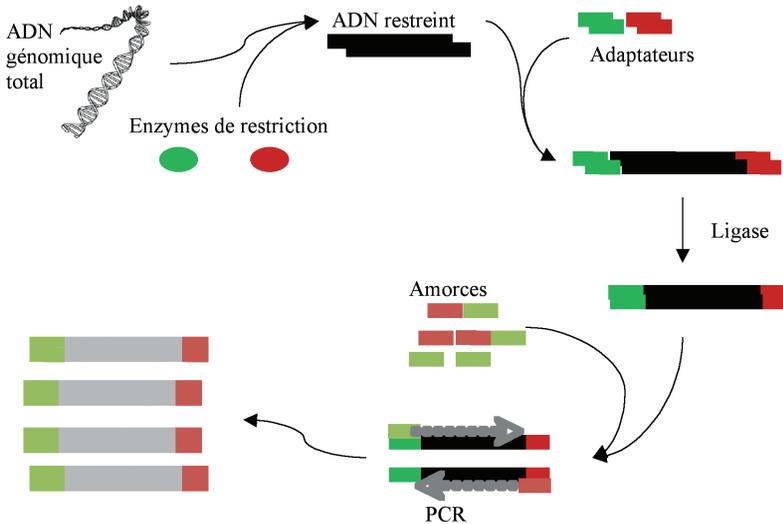
**AFLP (Amplified Fragment-Length Polymorphism).**

Le polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) est une technique puissante pour différencier des espèces voire des sous-espèces et comparer les populations bactériennes de milieux complexes (sol, eau.)

Le principe de cette technique est schématisé dans la figure ci-dessous. L'ADN génomique est digéré par deux enzymes. Des adaptateurs sont ajoutés aux extrémités des sites de restriction. Les amorces peuvent

ensuite se fixer sur les fragments obtenus et ceux-ci sont amplifiés. La PCR peut être réalisée en plusieurs étapes: une première avec des amorces dont la séquence est identique à celle des adaptateurs et qui amplifie ainsi tous les fragments ; la seconde avec des amorces possédant de 1 à 3 nucléotides supplémentaires en 3' sélectionnant ainsi un plus petit nombre de fragments étant donné que ceux-ci peuvent être très nombreux. L'utilisation d'amorces fluorescentes permet une comparaison standardisée de cette technique par électrophorèse capillaire. Il existe de nombreuses possibilités pour réaliser des AFLP *in silico*, c'est-à-dire simuler des PCR et des gels grâce à des programmes informatiques. Ces simulations permettent de cibler au mieux les enzymes et amorces à utiliser lors de la réalisation de l'expérience mais nécessitent de connaître la séquence génomique complète de certaines espèces présentes dans l'échantillon.

**Principe général de l'Amplified Fragment-LengthPolymorphism (AFLP)**



## **2. Les Interactions microbiennes**

Dans leur évolution dans les différents écosystèmes, les microorganismes interagissent avec le monde inorganique, entre eux et avec les organismes supérieurs et ils jouent des rôles largement bénéfiques, car les microorganismes responsables de maladies ne constituent qu'un composant mineur du monde microbien. Les interactions microbiennes sont importantes pour comprendre les contributions microbiennes au monde naturel et les rôles des microorganismes dans les processus pathologiques ou technologiques. En effet, la caractérisation des populations microbiennes et la modélisation permettent une maîtrise de la qualité nutritionnelle, organoleptique et sanitaire des aliments ou d'appréhender les évolutions des populations de microorganismes en milieux naturels, éléments de base de la chaîne alimentaire.

### **2.1. Les interactions symbiotiques**

Les microorganismes peuvent être associés à d'autres organismes de multiples façons. Le terme symbiose ou vie en commun, tel qu'utilisé dans son sens originel le plus large (H. A. de Bary, 1879) désigne l'association de deux ou plusieurs espèces d'organismes différents. Les nombreuses interactions positives ou négatives entre microorganismes ou avec des organismes supérieurs animaux ou végétaux comprennent: les interactions positives: le mutualisme, la coopération et le commensalisme, et les interactions négatives: le parasitisme, la prédation, l'amensalisme ou antagonisme et la compétition. D'une manière générale, les symbioses impliquent un contact physique entre les différents partenaires. Un microorganisme peut s'installer à la surface (ectosymbiose) ou à l'intérieur (endosymbiose) d'un autre. Le terme consortium est utilisé pour décrire la relation physique établie à la surface entre des groupes de microorganismes appartenant à des espèces différents vivant ensemble. Dans le milieu aquatique, les consortiums sont complexes et formés de plusieurs couches de microorganismes semblables d'aspect mais qui ont souvent des propriétés physiologiques complémentaires (ex.

les tapis microbiens). Ces associations physiques peuvent être intermittentes, cycliques ou permanentes.

### 2.1.1. Les associations symbiotiques bénéfiques

**Le mutualisme:** est un cas particulier de symbiose dans lequel un certain bénéfice réciproque revient aux deux partenaires. Il s'agit d'une relation obligatoire où le métabolite et l'hôte dépendent métaboliquement l'un de l'autre.

**La coopération:** est une relation mutuellement bénéfique semblable à celle du mutualisme, la différence en est que dans la coopération la relation n'est pas obligatoire. Des ressources complémentaires bénéfiques sont fournies par chacun des microorganismes. Mais si les ressources qu'offre l'organisme complémentaire sont fournies par l'environnement, chacun des microorganismes fonctionnera indépendamment.

**Le commensalisme** désigne une relation dans laquelle un organisme, le commensal, tire un avantage de l'hôte alors que celui-ci n'est ni affecté ni aidé. C'est un processus unidirectionnel, le commensal se nourrit de substances captées ou ingérées par l'hôte, sans dépendre du métabolisme de l'hôte et ne cause chez ce dernier aucun dommage particulier. Lorsque le commensal est séparé expérimentalement de son hôte, il peut survivre en l'absence d'un ou plusieurs facteurs fournis par l'hôte.

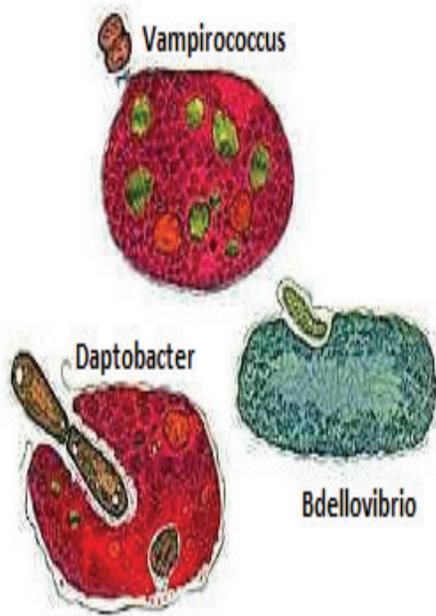
### 2.1.2. Les associations symbiotiques négatives.

**La prédation:** est un phénomène répandu où le prédateur engloutit ou attaque une proie. La proie peut-être plus grande ou plus petite que le prédateur et le résultat est la mort. De nombreux microorganismes prédateurs, bactérie, mycètes et protozoaires sont décrits. Un ensemble de bactéries prédatrices sont actives dans la nature, les plus connues appartiennent aux genres *Bdellovibrio*, *vampirococcus* et *Daptobacter*. Chacun d'eux a une façon qui lui est propre d'attaquer une bactérie sensible.

**Bdellovibrio**, perce la paroi cellulaire et se multiplie entre la paroi et la membrane cellulaire: c'est un mode d'attaque périplasmique, suivi d'une lyse de la paroi qui libère la descendance.

**Vampirococcus**, présente une forme d'attaque non lytique. Il s'attache à la surface de la proie (relation dite épibiotique) et sécrète des enzymes qui libèrent le contenu cellulaire.

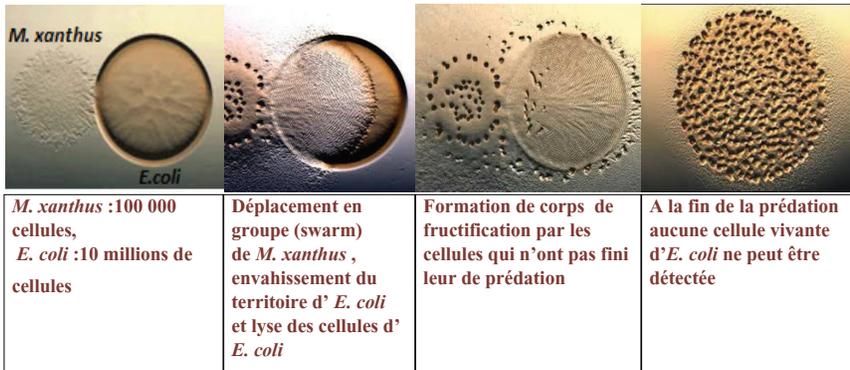
**Daptobacter**, pénètre son hôte et se nourrit du contenu cytoplasmique.



**Bactéries prédatrices**

### **Prédation chez *Myxococcus xanthus***

*Myxococcus xanthus* appartient à la famille des myxobactéries. C'est une bactérie à gram négatif qui possède un cycle de vie complexe caractérisé par la formation de corps de fructification et de spores. Celles-ci sont une forme de protection de la bactérie. *M. xanthus* est également caractérisée par la formation d'essaims bactériens et par un mode déplacement particulier: swarm ou déplacement en groupe. L'ondulation et la formation de vague ou ride (rippeling) chez les essaims bactériens de *M. xanthus*, sont associées à une alimentation collective, décrite comme un style de prédation en « meute de loups ». Dans les milieux aquatiques, les cellules de *M. xanthus* forment des colonies sphériques autour de leurs proies et sécrètent des enzymes digestives qui attaquent les bactéries et absorbent les nutriments.



### Prédation d'une colonie d'*E. coli* par des cellules de *M. xanthus*

*Myxococcus xanthus* se déplace en groupe de milliers de bactéries pour trouver ses proies (chasser en meute) ou de nouvelles ressources pour se développer.

**Prédation fongique:** les champignons montrent aussi des dispositions prédatrices intéressantes. Certains peuvent capturer des protozoaires grâce à des hyphes collants ou à des protubérances ou à des anneaux capables ou non de constriction. *Arthrobotrys*, qui piège les nématodes au moyen d'anneaux constricteurs constitue un exemple classique. Lorsque le nématode est pris, les hyphes s'insinuent dans cette proie immobilisée et utilisent son cytoplasme comme nourriture. D'autres champignons forment des conidies qui, une fois ingérées par une proie, se développent dans le système digestif de l'hôte et l'attaquent. Dans ce cas, le champignon pénètre dans les cellules hôtes par un processus interactif complexe.

**Le parasitisme** est l'une des interactions microbiennes les plus complexes, la frontière entre parasitisme et prédation s'avérant souvent difficile à établir. Il s'agit d'une relation où l'un des deux partenaires tire profit de l'autre et où l'hôte est habituellement lésé. Cela peut comprendre un prélèvement de nourriture et/ou l'installation physique dans ou sur l'hôte.

Dans cette relation parasite et hôte coexistent en association jusqu'à un certain degré. Selon l'équilibre établi entre les deux organismes, cette coexistence peut varier et passer d'une relation parasite stable à

une relation pathogène qui peut être considérée comme une prédation. Les exemples sont nombreux dans le monde animal, végétal et chez l'homme. Chez ce dernier on peut citer les maladies infectieuses à évolution chronique stable.

**L'amensalisme**, décrit l'effet négatif qu'un organisme exerce sur un autre. Il s'agit d'un processus unidirectionnel basé sur la production par un organisme d'un composé spécifique qui agit négativement sur un autre organisme. L'exemple le plus classique est la production d'antibiotiques qui peuvent inhiber ou tuer un organisme qui y est sensible. D'autres classes de substances inhibitrices telles que les bactériocines sont également produites.

Enfin, l'amensalisme peut aussi dépendre de produits métaboliques comme les acides organiques issus des fermentations. Ces composés inhibent la croissance microbienne en modifiant le pH du milieu.

**La compétition**, s'installe lorsque différents microorganismes d'une population ou d'une communauté cherchent à s'approprier une même ressource, qu'il s'agisse d'occuper un endroit physique ou de consommer un aliment limitant particulier, pouvant aboutir, dans le cas extrême, à l'exclusion de l'une d'elle. La compétition est un phénomène largement répandu dans la nature où les différentes espèces microbiennes doivent partager les ressources et l'espace.

## **2.2. Les interactions microorganismes-plantes**

La grande majorité des microorganismes du sol sont hétérotrophes, raison pour laquelle beaucoup d'entre eux ont développé d'étroites relations avec les végétaux, principale source de la production primaire terrestre. Ces associations sont de type symbiose mutualiste, parasite ou commensale et se déroulent principalement dans la rhizosphère.

La rhizosphère, est la partie du sol qui comprend le système racinaire des végétaux et est un environnement hautement favorable au développement des microorganismes qui, à leur tour influencent positivement

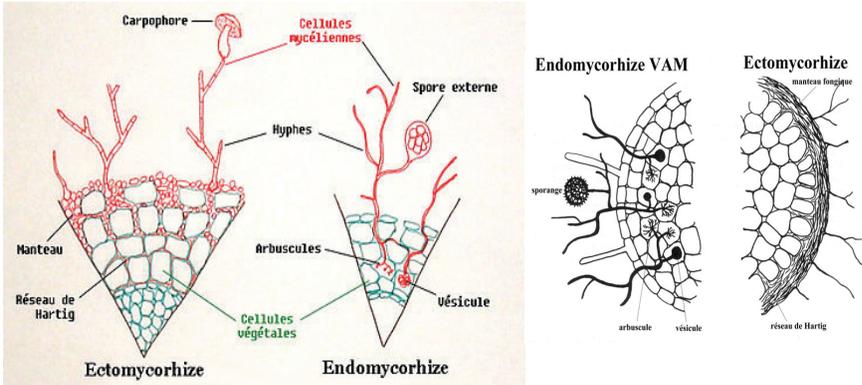
ou négativement la croissance des plantes. Très diversifiée, la flore microbienne rhizosphérique est essentiellement composée de bactéries et de champignons, symbiotiques ou non et dont beaucoup manifestent des effets bénéfiques sur la croissance et la santé des plantes. L'usage à bon escient et la préservation de cette ressource microbienne naturelle est un élément clé du développement durable. En effet, les systèmes agricoles et la production végétale sont les premiers bénéficiaires des bienfaits des communautés microbiennes du sol.

### **2.2.1. Les mycorhizes**

Les mycorhizes sont le résultat de l'association d'une racine et d'un champignon. Ce sont des relations mutualistes qui se développent entre la plupart des plantes et un nombre limité d'espèces fongiques. Les champignons mycorrhizogènes vivent en partie à l'intérieur des tissus de la plante et en partie à l'extérieur où leurs filaments prospectent un volume de sol très important. Les champignons reçoivent de la plante des substrats carbonés simples et des substances de croissance et sont à l'abri des compétiteurs. Les plantes bénéficient de l'amélioration de leur nutrition en divers éléments peu solubles, comme surtout le phosphore. Une assimilation accrue du zinc et de l'azote par des plantes mycorhizées a également été observée. La rhizosphère d'une racine mycorhizée est différente que celle d'une plante non mycorhizée, et on parle ainsi de mycorrhizosphère.

L'effet mycorrhizosphère se traduit souvent par une résistance plus grande des racines contre un grand nombre de parasites telluriques. D'autre part, la structure du sol peut être également nettement améliorée par des racines mycorhizées. Les mycorhizes sont classées:

- en endomycorhizes: celles où les champignons pénètrent dans les cellules des plantes
- et en ectomycorhizes: celles où ils restent extracellulaires et forment une gaine de filaments interconnectés autour des racines ou réseau de Hartig.



Représentation schématique des endo et ectomycorhizes

**Les ectomycorhizes (ECM):** sont formées par des champignons Ascomycètes et basidiomycètes. Les ECM colonisent presque tous les arbres sous les climats frais. Leur importance vient de leur capacité de transférer dans la racine les nutriments essentiels spécialement le phosphore et l’azote. Le développement d’une ECM commence par la croissance d’un mycélium fongique autour de la racine. En s’épaississant ce mycélium forme une gaine ou manteau, le manchon mycorhizien, qui peut recouvrir la racine entière. Du côté interne de la gaine, les hyphes s’insinuent entre les cellules corticales de la racine. Il se forme ainsi un réseau caractéristique appelé le réseau de Hartig.



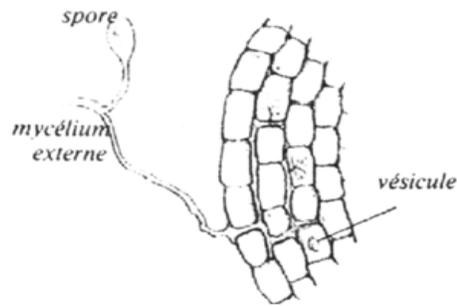
Ectomycorhizes

Le développement d’une ECM commence par la croissance d’un mycélium fongique autour de la racine. En s’épaississant ce mycélium forme une gaine ou manteau, le manchon mycorhizien, qui peut recouvrir la racine entière. Du côté interne de la gaine, les hyphes s’insinuent entre les cellules corticales de la racine. Il se forme ainsi un réseau caractéristique appelé le réseau de Hartig.

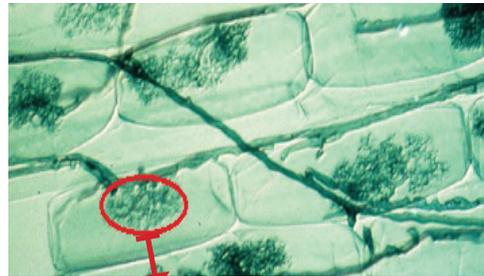
**Les endomycorhizes:** ou mycorhizes internes sont les formes les plus répandues. Il existe plusieurs types d’endomycorhizes dont les plus importantes sont Les mycorhizes à arbuscules (MA). Cette symbiose est rencontrée chez près de 80% des plantes dont la majorité des plantes de cultures (arbres fruitiers et d’ornement, céréales, plantes ornementales et maraichères, plantes aromatiques). Celles-ci contribuent pour une augmentation nette de la photosynthèse de 5 à 20%. Elles sont faites

par les glomeromycètes avec la majorité des plantes (environ 90% des espèces de plantes supérieures et beaucoup de plantes inférieures). Les champignons pénètrent dans les cellules de la racine entre la paroi végétale et des invaginations de la membrane cytoplasmique. Et bien que les MA soient des endomycorhizes, elles ne percent pas la membrane cellulaire. Elles développent dans les replis de la membrane cytoplasmique des réseaux d'hyphes en arborescence appelés des arbuscules. Les MA fournissent de nombreux services à leur plante hôte, notamment, la protection contre la maladie, la sécheresse, les nématodes et autres organismes nuisibles, en plus de leur capacité de transférer aux racines du phosphore et de l'azote.

En formant ce nouvel organe (l'arbuscule), la plante modifie considérablement ses relations avec le sol et augmente prodigieusement (grâce aux hyphes extra radiculaires du champignon) sa surface d'exploration: on estime que le volume de sol exploité par la plante est multiplié par 1000 grâce aux mycorhizes. Ce phénomène permet à la plante d'absorber de façon optimale les nutriments du sol (principalement azote, phosphore et oligo-éléments) et de l'eau. Ce qui permet d'améliorer la qualité et le rendement des cultures.



Les endomycorhizes ne modifient pas l'aspect externe des racines, le champignon se ramifie à l'intérieur.



Arbuscule

Endomycorhize: Mycorhize à arbuscules (MA)

### **Importance biotechnologique des mycorhizes.**

L'exploitation des mycorhizes est une technologie biologique permettant de doter les plantes d'un système racinaire plus performant et d'augmenter leurs défenses naturelles: de ce fait, les mycorhizes sont des bio-fertilisants, des bio-protecteurs et des bio-régulateurs du développement des plantes.

Les techniques agricoles utilisées depuis ces dernières décennies (utilisation de grandes quantité d'engrais et de pesticides, tassement des sols...) ont provoqué une raréfaction, voire une absence des champignons mycorhizogènes de la plupart des substrats de culture utilisés en horticulture et des sols soumis à des traitements intenses en intrants chimiques. La ré-introduction de ces champignons va permettre d'améliorer la croissance des plantes par des moyens biologiques, tout en réduisant considérablement l'apport d'engrais chimiques de synthèse et de pesticides. L'exploitation de ces nouveaux outils biologiques ouvre des perspectives d'innovation et d'amélioration des systèmes de culture conduisant à minimiser les risques de pollution de l'environnement (sol, eau et air) et de contamination des aliments.

### **Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR)**

L'effet de stimulation de la croissance des plantes, connu sous l'acronyme PGP: plant growth-promoting, a été décrit chez des bactéries colonisant la rhizosphère ou rhizobactéries, appelées pour cette raison PGPR: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Cette flore bactérienne utile est hétérogène et comprend de nombreux taxa dont les plus fréquents correspondent aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. Les propriétés des PGPR portent sur trois axes principaux: la nutrition de la plante (fixation de l'azote atmosphérique, solubilisation du phosphate, éléments minéraux essentiels), la production d'hormones telles que les auxines (ex. l'acide indole acétique: IAA), et sa protection contre les parasites. Elles assurent de ce fait la fonction d'engrais biologiques et/ou de biopesticides et constituent les éléments de base du développement agricole durable, en

tant qu'une alternative écologique attractive, aux produits agrochimiques polluants, responsables de la dégradation des agroécosystèmes, et de la destruction de la flore microbienne autochtone utile.

A titre d'exemple, la sélection de populations de *Pseudomonas* adaptées à la carence en fer et produisant des sidérophores très efficaces, se traduit pas une très forte compétition pour le fer à l'encontre d'un oomycète phytopathogène. Cette forte compétition provoque une réduction de la croissance saprophyte de l'agent pathogène, et de la fréquence des infections racinaires, ce qui s'accompagne d'une amélioration de la santé de la plante hôte. De plus, les plantes ont développé des stratégies actives d'acquisition du fer complexé aux sidérophores microbiens qui contribuent ainsi significativement à leur nutrition en cet élément essentiel pour leur physiologie mais peu disponible dans les sols.

### **Les associations tripartites et tétrapartites**

Un ensemble supplémentaire d'interaction s'établit lorsque la même plante développe des relations avec deux ou trois types de microorganismes. Ces interactions plus complexes sont importantes pour une variété de types de végétaux. Décrites pour la première fois en 1896, ces associations impliquent l'interaction des microorganismes symbiotiques entre eux et avec l'hôte végétal. Il existe plusieurs associations tripartites: Endomycorhize et *Rhizobium*, Endomycorhize et actinorhize Ectomycorhize et actinorhize. Il existe également des associations tétrapartites. Elles comprennent des endomycorhizes, des ectomycorhizes, *Frankia* (actinorhize) et l'hôte végétal. Ces associations complexes semblent très profitables à la plante. Les plantes à nodules et mycorhizes sont, en effet, mieux adaptées pour faire face à des milieux déficients en éléments nutritifs.

### **Interaction pathogène à *Agrobacterium***

Les microorganismes peuvent également provoquer des maladies de la plante ou la tuer. Parmi les phytopathogènes microbiens, la bacté-

rie *Agrobacterium tumefaciens* est responsable d'une pathologie dont le mécanisme s'apparente à une transformation génétique. L'interaction *Agrobacterium* - plante pouvant être vue comme une manipulation génétique naturelle au cours de laquelle la bactérie détourne à son profit l'activité métabolique de la plante.

### ***Agrobacterium tumefaciens***

*A. tumefaciens* est l'agent d'une maladie de la plante connue sous le nom de galle du collet, caractérisée par la formation d'excroissances tumorales sur une large variété de plantes. Le mécanisme par lequel la bactérie induisait ces tumeurs a fait l'objet de beaucoup de travaux. La génétique moléculaire par laquelle ce pathogène infecte son hôte est la base de l'ingénierie génétique végétale.



Sur une racine végétale



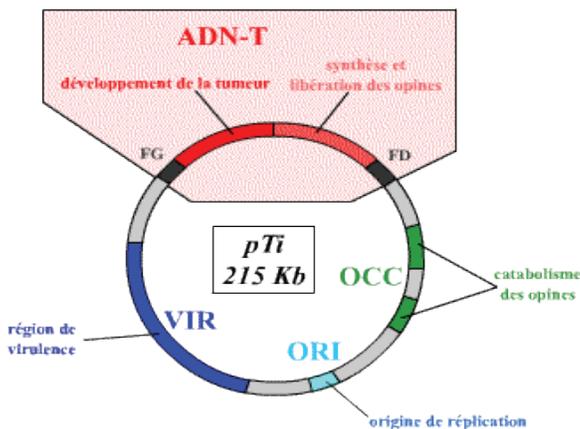
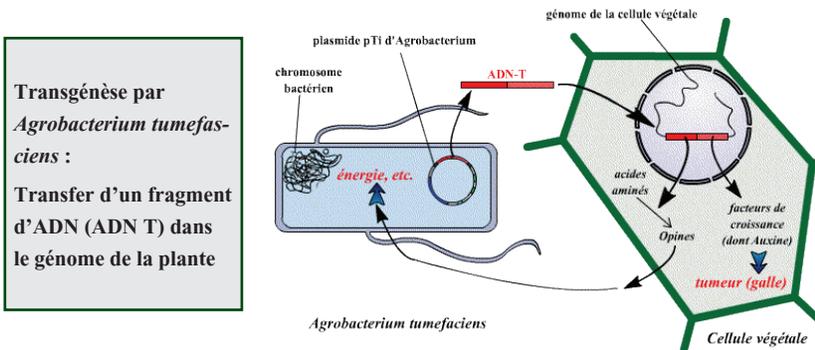
Sur les feuilles de *Gaillardia* sp. (Asteraceae)

### **Galle provoquée par *Agrobacterium tumefaciens***

Les gènes de l'infection de la plante et de la virulence sont encodés sur un plasmide d'*A. tumefaciens*, le plasmide Ti (tumor inducing: inducteur de tumeur). Ces gènes comprennent 21 gènes *vir*, qui se trouvent dans six opérons séparés. Deux de ces gènes *virD1* et *virD2* codent pour des protéines qui clivent une région particulière du plasmide Ti, appelée ADN T. Après son excision, ce fragment ADN T est intégré dans le génome de la plante hôte. Une fois incorporé dans le génome de la cellule végétale, l'ADN T dirige la surproduction de phytohormones (auxine,

cytokinine et opines) qui dérèglent la croissance et la reproduction des cellules de la plante, ce qui génère une tumeur ou galle de la plante.

Les opines sont spécifiquement utilisées par les agrobactéries qui ont induit la formation de la tumeur. Cette spécificité est liée au fait que les gènes déterminant l'utilisation des opines sont portés par le plasmide Ti. De plus, certaines opines induisent le transfert du plasmide Ti d'une agrobactérie vers une autre par conjugaison. Les opines sont des médiateurs chimiques clefs de l'interaction *Agrobacterium* - plante, dont la présence dans la tumeur favorise la croissance des pathogènes et concourt à leur dissémination.



**Le plasmide Ti**

### 2.3. Interaction microorganisme- animal

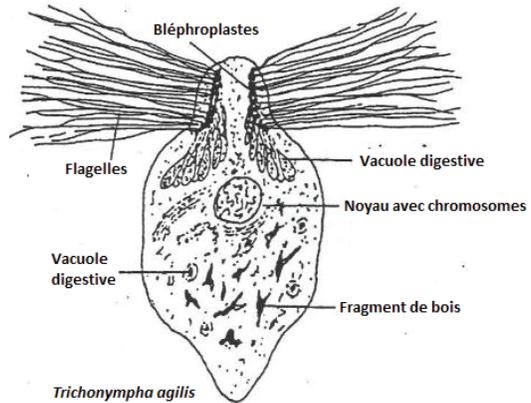
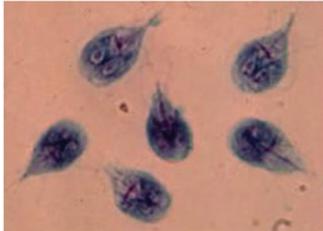
Des associations symbiotiques très variées avec les microorganismes sont très répandues dans le monde animal. Des exemples classiques impliquent le mutualisme, le commensalisme ou le parasitisme.

#### Interaction termite- protozoaire

##### Termite



Les associations mutualistes avec les insectes sont fréquentes. Ceci est en rapport avec les aliments ingérés par les insectes, débris, sèves végétales ou fluides animaux dépourvus des vitamines et acides aminés essentiels ou impossible à digérer en raison d'une déficience enzymatique. Ces facteurs nutritionnels nécessaires sont fournis par les symbiontes bactériens, en échange d'un habitat sûr et d'une nourriture abondante.



##### Trychonympha

Un exemple classique de mutualisme est la relation protozoaire-termite, dans laquelle les protozoaires flagellés vivent dans l'intestin des termites et de larves xylophages. Les termites réduisent le bois en poussière mais sont incapables de le digérer faute des enzymes nécessaires

pour la dégradation de la cellulose. Les protozoaires avalent les particules de bois, digèrent la cellulose et la métabolisent en acétate et autres produits.

D'autres bactéries profitent de cette interaction. En effet, les termites sont des constituants importants des écosystèmes tropicaux où par l'utilisation des matières cellulosiques végétales, ils permettent un recyclage rapide des matières végétales. Les termites abritent des populations d'archaées qui utilisent les produits de digestion de la cellulose y compris le  $\text{CO}_2$  et l'hydrogène, pour produire du méthane. On estime que les termites produisent annuellement dans l'atmosphère au moins  $1.5 \cdot 10^{14}$  g de méthane ainsi que de l'hydrogène et du  $\text{CO}_2$  et que ceci contribue à une augmentation mesurable du méthane de l'atmosphère. Les termites et leurs microorganismes intestinaux pourraient affecter le réchauffement climatique.

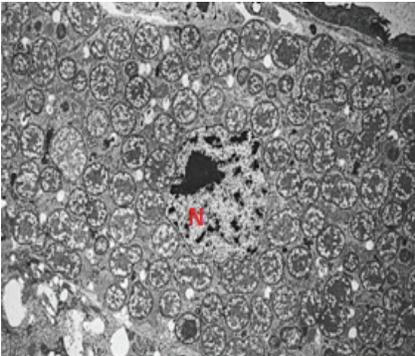
### Interaction puceron –Bactérie



Les pucerons constituent un excellent exemple de la relation mutualiste. Cet insecte abrite dans son cytoplasme une bactérie, *Buchnera aphidicola*, le corps d'un insecte majeur contient des millions de cette bactérie. *Buchnera* fournit les 10 acides aminés essentiels aux pucerons qui se nourrissent de la sève phloémienne des plantes, aliment particulièrement pauvre en apports protéiques, et si l'on traite l'insecte par des antibiotiques, il meurt.

*B. aphidicola* est un endosymbiote mutualiste obligatoire de toutes les espèces de pucerons dont la plus étudiée est *Acyrtosiphon pisum* (Aphidoidea). Il est admis qu'une *Buchnera* ancestrale ait été une bac-

térie non symbiotique à Gram négatif similaire aux Enterobacteriaceae actuels tel que *E. coli*. *B. aphidicola* mesure 3 µm de diamètre et possède des caractéristiques typiques des Enterobacteriaceae telle qu'une paroi cellulaire gram négatif. Cependant, contrairement à plupart des bactéries gram négatives, *B. aphidicola* ne possède pas de gènes responsables de la synthèse de lipopolysaccharides (LPS) pour la membrane externe. La symbiose avec l'hôte qui implique une transmission verticale de la bactérie a conduit à la perte des gènes requis pour la respiration anaérobie, la synthèse de sucres aminés, d'acides gras, des phospholipides et de glucides. La conséquence de ces pertes géniques est une réduction importante de la taille du génome.



On estime que l'endosymbiose entre *B. aphidicola* et le puceron s'est installée il ya environ 150 millions d'années et persiste par transmission maternelle et co-spéciation. Les aphidoidea possèdent des cellules spécialisées appelées bactériocytes (ou mycétocytes) qui accueillent les bactéries Buchnera.

***B. aphidicola* à l'intérieur d'un bactériocyte d'un puceron.**

N est le noyau de la cellule hôte.

Les cellules de Buchnera sont rondes et baignent dans le cytoplasme de la cellule hôte.

Les génomes de deux souches différentes de *B. aphidicola* ont été séquencés et annotés: ils révèlent une stabilité génomique extrême. Ces souches ont divergé voici 50 à 70 millions d'années, et depuis lors, il n'y a eu ni duplication de gènes, ni translocation, ni gènes acquis par transfert horizontal. Les génomes sont petits et ne comportent chacun que 0.64 Mb, avec 93% des gènes communs aux deux souches. En outre, deux gènes seulement n'ont pas d'orthologues dans leur proche parent *E. coli*. Ce grand degré de stabilité implique que, bien que l'acquisition

initiale des endosymbiotes par les pucerons ancestraux ait permis à ces derniers d'utiliser une source de nourriture déficiente (la sève), les bactéries n'ont pas continué à étendre la niche écologique de leur insecte hôte par l'acquisition de nouveaux caractères éventuellement avantageux.

## **Coraux –zooxanthelles**

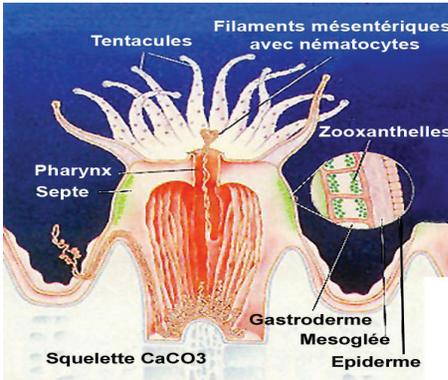
### **Récifs coralliens**



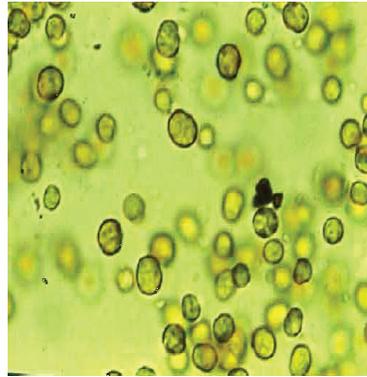
De nombreux invertébrés marins (éponges, méduses, anémones, coraux...) abritent dans leurs tissus des cellules sphériques endosymbiotiques d'algues appelées zooxanthelles. L'exemple le plus connu est celui des coraux. Les coraux hermatypiques (constructeurs de récifs) satisfont la majeure partie de leurs besoins énergétiques au moyen de zooxanthelles, que l'on retrouve à des densités variant entre  $5 \cdot 10^5$  et  $5 \cdot 10^6$  cellules par  $\text{cm}^2$  de surface du corail. En échange de 95% des produits de leur photosynthèse (carbone fixé), les zooxanthelles

reçoivent de leur hôte des composés azotés, des phosphates du  $\text{CO}_2$  et la protection contre les UV.

Cette forme efficace de recyclage de nutriments et de couplage étroit entre niveaux trophiques explique le succès des coraux constructeurs de récifs dans le développement de leurs écosystèmes. Cependant, au cours des quelques dernières décennies, le nombre de cas de blanchiment des coraux a dramatiquement augmenté. Le blanchiment des coraux consiste, soit en une perte par le corail des pigments photosynthétiques, soit en une expulsion des zooxanthelles.



Constitution du corail



Zooxanthelles

## Interaction microorganisme-microorganisme

### Les lichens: Interaction mycète-algue



Lichens

La symbiose lichénique longtemps considérée comme un mutualisme remarquable entre un mycète et une algue est une relation parasite-hôte contrôlée. On a découvert récemment qu'un lichen ne se formait que si les deux partenaires potentiels se trouvaient en manque de nourriture. Il s'agit d'une association entre un ascomycète spécifique (le mycobiote) et certains genres d'algues vertes ou de cyanobactéries (le phycobiote). Dans des milieux pauvres en nutriments, la relation entre le champignon et son partenaire photosynthétique a co-évolué

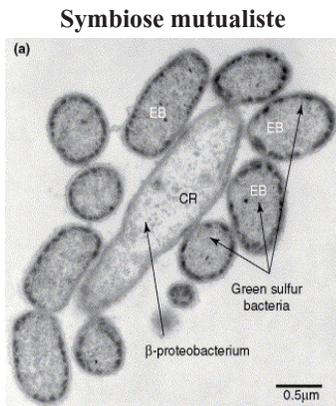
au point où la morphologie et les relations métaboliques du lichen sont extrêmement stables. La morphologie caractéristique d'un lichen donné

est une propriété de l'association et n'est présentée dans par aucun des deux symbiotes pris séparément.

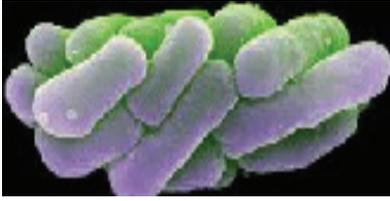
Les lichens sont, ainsi, considérés comme une entité biologique nouvelle ayant reçu des noms de genre et d'espèce et sont rattachés au phylum des Fungi. Le phycobiotte qui est un organisme photoautotrophe vivant de lumière, CO<sub>2</sub> et éléments minéraux, fournit au mycète de la matière organique. Celui-ci prélève ses nutriments chez son partenaire au moyen d'haustoriums (des projections d'hyphes fongiques) traversant la paroi du phycobiotte, ainsi que l'oxygène pour sa respiration. De son côté, le champignon protège le phycobiotte des fortes intensités lumineuses, lui fournit l'eau et les minéraux et forme un substrat fixe dans lequel le phycobiotte se développe à l'abri du stress de l'environnement. C'est la nature invasive du partenaire fongique qui fait considérer les lichens comme des relations parasites.

Un aspect important de nombreuses relations symbiotiques, y compris du parasitisme, est qu'avec le temps, une fois établie la relation avec l'hôte, le symbiote tendra à éliminer son information génomique non utilisée. C'est le processus dit de la réduction génomique. C'est le cas aussi chez l'endosymbiote du puceron *Buchnera aphidicola*.

### Interaction bactérie-bactérie



Une association originale s'est développée entre deux procaryotes: une bactérie phototrophe, et une bactérie non-phototrophe sulfatoréductrice. Dans cette symbiose mutualiste, l'interdépendance est si forte qu'elle est considérée comme une seule espèce et dénommée *Chlorochromatium aggregatum*. L'agrégation ou consortium s'organise autour d'une bactérie centrale immobile réductrice de sulfate et pro-



*Chlorochromatium aggregatum*

ductrice d'hydrogène sulfuré ( $H_2S$ ). Celle-ci est entourée par les cellules d'une bactérie verte sulfureuse. La bactérie verte photosynthétique utilise  $H_2S$  pour sa photosynthèse et fournit des substrats comme l'acétate pour la croissance de la bactérie réductrice de sulfates. Celle-ci étant immobile, son partenaire symbiotique mobile présente un chimiotactisme pour les sulfates.

### Synthrophisme

Le synthrophisme 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. La coopération et le commensalisme sont deux types de symbiose positive mais non obligatoire, largement répandus dans le monde microbiens. Ils impliquent des relations syntrophiques. Dans la coopération les deux organismes en tirent bénéfice.

- **Processus symbiotique coopératif**

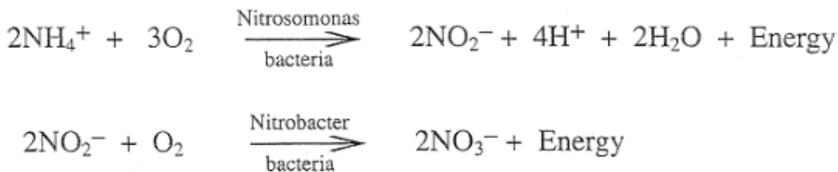
Deux exemples de relation coopérative sont donnés par l'association entre *Desulfovibrio* et *Chromatium*, dans laquelle le cycle du carbone et du soufre sont liés, et l'interaction d'un microorganisme fixateur d'azote (*Azotobacter*) avec un organisme cellulolytique comme *Cellulomonas*. Dans le second exemple, le microorganisme cellulolytique libère du glucose qui peut être utilisé par le microorganisme fixateur d'azote.

La biodégradation d'un produit toxique, le 3-chlorobenzoate fait intervenir trois microorganismes aux capacités complémentaires et est un excellent exemple d'association coopérative. Si l'un des trois microorganismes n'est pas présent et actif, la dégradation du substrat n'aura pas lieu. Cet exemple montre comment l'ensemble des microorganismes d'une communauté peut apporter plus que n'importe lequel des microorganismes pris isolément.

• **Commensalisme**

**Les bactéries de la nitrification**

Les relations commensales entre microorganismes incluent des situations où un déchet produit par un microorganisme sert de substrat à un autre. La nitrification en est un exemple. Elle consiste en l'oxydation par Nitrosomonas de l'ammoniac en nitrite qui est un déchet toxique. Nitrobacter utilise les nitrites pour produire son énergie et tire profit de son association avec Nitrosomonas



**Les écosystèmes méthanogènes**

On trouve ce type de relation (commensalisme) dans les écosystèmes méthanogènes anoxiques, comme les digesteurs de boue, les sédiments dulcicoles anoxiques et les sols inondés. Dans ces milieux, les acides gras peuvent être dégradés pour produire de l'hydrogène et du méthane, par l'interaction de deux groupes bactériens différents. La production de méthane par les méthanogènes dépend d'un transfert d'hydrogène spécifique. Une bactérie fermentative génère de l'hydrogène que le méthanogène utilise rapidement comme substrat pour produire du méthane.

Comme exemple, Syntrophobacter produit de l'hydrogène comme suit:



Syntrophobacter utilise des protons ( $\text{H}^+ + \text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2$ ) comme accepteurs finals d'électrons dans la synthèse de l'ATP. La bactérie ne gagne une énergie suffisante pour sa croissance que si l'hydrogène qu'elle génère est consommé. Les produits  $\text{H}_2$  et  $\text{CO}_2$  sont employés par des archées méthanogènes comme Methanospirillum selon la réaction suivante: ( $4 \text{H}_2 + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ ). En synthétisant du méthane, Metha-

nospirillum maintient une concentration en  $H_2$  faible dans l'environnement immédiat des deux microorganismes.

### **Le commensalisme par modification de l'environnement**

Il y a aussi association commensale lorsqu'un groupe microbien modifie l'environnement et le rend plus propice à un autre organisme. Par exemple, des souches communes non pathogènes d'*E.coli* sont des commensales typique du colon humain. Lorsque cette bactérie anaérobie facultative a épuisé l'oxygène du colon, les anaérobies obligatoires comme *Bacteroides* sont à même d'y croître. L'association avec l'hôte et *E. coli* est bénéfique pour les anaérobies Mais *E. coli* ne tire aucun avantage de ces derniers. Le commensalisme peut impliquer d'autres modifications environnementales. La synthèse de déchets acides lors d'une fermentation stimule la prolifération d'organismes plus acido-tolérants qui à pH neutre ne constitue qu'une fraction mineure de la communauté microbienne. La succession des microorganismes dans un lait avarié constitue un bon exemple. La formation des biofilms en fournit un autre. La colonisation d'une surface nouvellement exposée par un microorganisme (le colonisateur initial) rend possible l'attachement d'autres microorganismes à la surface ainsi modifiée.

- **La prédation chez les microorganismes.**

La prédation fatale pour la proie peut avoir des effets bénéfiques au niveau de la communauté et de l'écosystème. Découverte surprenante dans le monde microbien, la prédation a beaucoup d'effets bénéfiques si on considère les populations interactives de prédateurs et de proies.

**L'épuration des eaux:** Les protozoaires en particulier les ciliés sont d'excellents prédateurs qui englobent leur proie (un seul cilié peut ingérer 60 à 70 bactéries / heure). La prédation des bactéries est importante dans les milieux aquatiques et dans le traitement des eaux usées où les ciliés éliminent les bactéries qui n'ont pas sédimenté (non actives) et participent ainsi à l'épuration des eaux usées.

**Les boucles microbiennes:** La simple ingestion et assimilation d'une proie bactérienne par un protozoaire peut conduire à l'augmentation des vitesses de recyclage des éléments nutritifs, vitesses qui sont essentielles pour le fonctionnement des boucles microbiennes. Dans ce processus, la matière organique produit par la photosynthèse et l'activité chimiotrophe est minéralisée avant d'atteindre les consommateurs supérieurs, ce qui remet les éléments minéraux à la disposition des producteurs primaires. Ceci est important dans les milieux marins, dulcicoles et terrestres.

**Protection des pathogènes:** la prédation peut aussi fournir un environnement protecteur riche en nourriture pour une proie particulière. Les ciliés ingèrent la bactérie Gram-positif pathogène *Legionella* et la protègent du chlore de l'eau, dans les canalisations d'eau, les tours de refroidissement et les climatiseurs. Les ciliés servent d'hôtes réservoirs. En outre, après la prédation, *Legionella pneumophila* montre une capacité accrue pour l'invasion des macrophages et des cellules épithéliales. Ceci indique que l'ingestion, non seulement constitue une protection pour la bactérie mais peut aussi augmenter son pouvoir pathogène. Ces aspects protecteurs de la prédation ont des implications importantes dans la survie et le contrôle des microorganismes pathogènes, dans les biofilms présents dans les canalisations et dans les appareils de conditionnement d'air.

**Production de molécule bioactives:** pendant la prédation, *M. xanthus*, libère plus de 300 métabolites secondaires, dont beaucoup sont employées pour lyser les cellules des proies bactériennes avec lesquelles elle s'alimente. Plusieurs de ces molécules sont connues pour avoir des propriétés médicinales comme par exemple le myxalamide, un antimicrobien actif sur des levures et des entérobactéries. Des recherches visent à modifier génétiquement *M. xanthus* pour surproduire ces composés en fermenteur.

- **La compétition chez les microorganismes**

Chez les microorganismes la compétition s'opère selon différents mécanismes: meilleur acquisition des nutriments (ex. *Caulobacter*, *Pseu-*

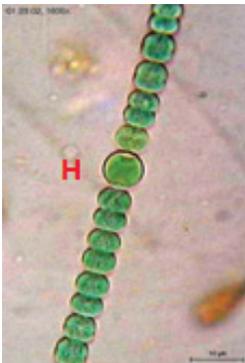
domonas.), modification de l'environnement physicochimique, de sorte qu'il devienne défavorable pour la croissance des autres organismes. ex. production d'acide organique lors des fermentations, ou grâce à l'antibiose c'est-à-dire la production de substances inhibitrices (antibiotique, bactériocines.) ou de toxines.

Dans les fermenteurs, la compétition est utilisée pour réguler les populations bactériennes. Par exemple, dans les chemostats, on peut voir les microorganismes dotés de systèmes de transport d'affinité différente entrer en compétition pour un aliment limitant, ce qui aboutit à l'exclusion de la population dont la croissance est la plus lente. Par contre, si on modifie le taux de dilution, la population qui était précédemment la plus lente à croître peut devenir prédominante.

Le phénomène d'eutrophisation des eaux et la formation des fleurs d'eau par les cyanobactéries fournissent un excellent modèle de compétition dans lequel sont combinés les différents mécanismes cités plus haut:

- Capacité de contrôler leur flottabilité grâce à la présence dans leurs corps de vacuoles gazeuses
- Fixation de l'azote atmosphérique
- Alcalinisation du pH de l'eau
- Production de substances inhibitrices des algues (hétéroantagonisme).

### La compétition des cyanobactéries



Les cyanobactéries sont un groupe très compétitif, plus de 2000 espèces, 150 espèces produisent des cyanotoxines et plus de 100 toxines sont connues. Dans les eaux eutrophes les cyanobactéries sont

*Anabeana spherica* (H:hétérocyste cellule fixatrice de N<sub>2</sub>)

responsables de la formation des fleurs d'eau ou bloom algal. Le développement excessif des cyanobactéries dépend des facteurs environnementaux et des propriétés compétitives des cyanobactéries, qui leur donne un avantage concurrentiel sur les algues.

### 3. Synécologie

La synécologie est l'étude des interactions entre les organismes d'un écosystème c'est-à-dire les relations que les espèces entretiennent entre elles (prédation, symbiose mutualiste, commensalisme, parasitisme.)

#### 3.1. Les tapis microbiens.



**Kopara**

Les tapis microbiens sont des structures généralement stratifiées et formées de plusieurs couches de couleurs différentes. Ils correspondent à l'association de différentes populations microbiennes organisée selon leur physiologie sous forme d'une structure verticale composée de strates successives. Ce sont des biofilms épais, devenus visibles car ils ont atteint des dimensions macroscopiques, ils apparaissent comme des bandes diversement colorés de microorganismes.

Ces biofilms constituent d'excellents modèles pour l'étude des interactions.

#### Tapis microbiens d'origine tropicale

Les tapis microbiens se développent à l'interface eau/sédiment d'environnement peu profonds tels que: les estuaires, les sédiments, les lagunes salées ou hypersalées des zones tempérées à tropicales. Une des principales caractéristiques de ces tapis est la présence de gradients extrêmes.

**Kopara**



La stratification verticale de leurs communautés microbienne engendre la formation de gradients physico-chimiques verticaux principalement d'oxygène et d'hydrogène sulfuré.



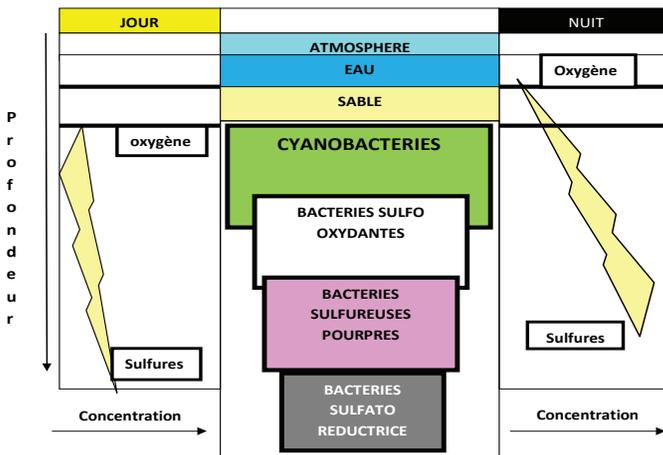
**Stromatolithes :Tapis microbiens fossiles**

**Kopara** est le nom donné à des tapis microbiens de couleur rougeâtre et d’aspect gélatineux qui se développent dans l’archipel des Tuamotu (Polynésie Française). Cette ressource naturelle était consommée en période de disette et semble encore introduite dans

l’alimentation dans certains archipels du Pacifique central et Nord-Ouest. Elle pouvait servir également comme emplâtre cicatrisant. Certaines propriétés du Kopara sont susceptibles de lui conférer un intérêt dans divers domaines d’application comme les domaines nutritionnel, médical et paramédical (propriétés antibactériennes et cicatrisantes), alimentaire (caroténoïdes en tant que colorant) et pédologique (stabilisateurs).

**Organisation et composition des tapis microbiens**

Les tapis microbiens généralement photosynthétiques s’organisent de la surface vers la profondeur comme suit: cyanobactérie, bactéries hétérotrophes aérobies, bactérie chimiolithotrophes sulfooxydantes, bactéries phototrophes anoxygéniques, bactéries sulfatoréductrices.



**Représentation schématique de l’organisation des communautés sein d’un tapis microbien, en fonction des gradients physico-chimiques d’oxygène et de sulfure.**

Les tapis microbiens mettent en jeu de nombreux processus biologiques différents. Leurs compositions variées en communautés bactériennes, cyanobactéries, bactéries chimiolithotrophes sulfo-oxydantes, bactéries phototrophes anoxygéniques, bactéries sulfato-réductrices, et la nature compacte de leurs organisations sont les caractéristiques principales de ce type d'écosystème. De plus, ils sont, entre autres, le siège des cycles du carbone, du soufre et de l'azote. Ils participent étroitement au processus dynamique du renouvellement des molécules utilisées comme donneurs et accepteurs d'électrons par les diverses communautés bactériennes qui les composent. Ces consortiums microbiens constituent des modèles d'étude et de compréhension des nombreuses interactions existantes entre les communautés et leur environnement.

### **Les cyanobactéries**

Filamenteuses, elles forment un groupe majeur au sein du tapis. Leur métabolisme principal est la photosynthèse oxygénique, elles colonisent la surface d'habitat pauvre en matière organique tels que les sédiments. Ce sont les précurseurs dans la constitution des tapis microbien. Grâce à la production d'oxygène par photosynthèse et à la fixation de N<sub>2</sub>, les cyanobactéries permettent l'enrichissement des tapis en oxygène, en composés azotés et en matière organique. Elles délimitent au sein des tapis une zone oxique riche en nutriment favorisant le développement des microorganismes aérobies. Leur capacité d'excréter des polysaccharides extracellulaires (EPS) leur permet de former une matrice organique autour des bactéries. D'autre part, cette gaine polysaccharidique, en se liant aux particules contribue à la stabilisation des tapis microbiens et prévient les phénomènes d'érosion.

### **Les bactéries chimiolithotrophes sulfo-oxydantes**

Elles se placent dans l'interface entre la zone oxique et la zone anoxique riche en sulfure. Ce sont des bactéries aérobies dont le métabolisme est l'oxydation des sulfures et autres composés inorganiques soufrés. Leur développement est favorisé par l'oxygène produit par une forte activité

photosynthétique pénétrant au-delà de la zone irradiée. Ces organismes suivent les fluctuations de l'interface oxygène/sulfure et peuvent entrer en compétition avec les bactéries photosynthétiques sulfoxydantes, selon la localisation de l'interface oxygène/sulfure. Lorsque cette interface se situe au niveau de la zone irradiée, les bactéries photosynthétiques sulfureuses sont alors les sulfoxydants dominants du tapis.

### **Les bactéries photoanoxygénique (BPA)**

Elles vivent au niveau de la zone anoxique irradiée, utilisent les mêmes sources de donneurs d'électrons que les chimiolithotrophes aérobies sulfoxydants et sont souvent en compétition avec eux. Elles utilisent aussi les produits terminaux de dégradation de la matière organique ainsi que les composés issus de la fermentation et de la respiration aérobie (sulfure,  $H_2S...$ ).

### **Les bactéries sulfatoréductrices (BSR)**

Elles sont localisées dans la zone anoxique des tapis microbiens créée par l'appauvrissement du tapis en oxygène à cause de la respiration aérobie hétérotrophe. Cette zone est aussi bien riche en matière organique provenant des processus de dégradation aérobies et anaérobies que de sulfate issus de l'oxydation des sulfures par les BPA. Le métabolisme des BSR est une respiration anaérobie ou l'accepteur final d'électron est le sulfate produit par les BPA (la respiration des sulfates). Les sulfates sont réduits en sulfure et  $H_2S$  avec la formation d'un gradient associé. Cette sulfatoréduction est un processus important de minéralisation de la matière organique au sein de l'environnement anoxique tel que les systèmes hypersalés marins.

### **Les autres groupes microbiens fonctionnels (mineurs):**

**Les hétérotrophes aérobies:** groupe hétérogène complexe vivant à la limite de la zone oxique/anoxique, participent à l'appauvrissement en oxygène du sédiment.

**Les bactéries fermentatives:** jouent un rôle fonctionnel important en réalisant les étapes préliminaires de la dégradation de la matière organique et fournissent des substrats aux BSR (acides organiques, alcool, et autres composés organiques à faible poids moléculaires).

**Les bactéries nitrifiantes:** leur métabolisme est l'oxydation aérobie de l'azote.

**Les bactéries dénitrifiantes:** leur métabolisme est une respiration anaérobie par réduction des nitrates

**Les bactéries méthanogènes:** bactéries anaérobies productrice de méthane.

### **Structure verticale des communautés et gradients physico-chimiques**

La nature compacte des tapis combinée aux divers processus biologiques tels que la photosynthèse, la respiration, la fermentation et la sulfato-réduction créent des micro-gradients de concentrations d'oxygène, d' $H_2S$  et d'autres espèces chimiques. De plus les gradients liés à l'intensité de la lumière à son spectre apparaissent avec la forte absorption des radiations lumineuses. Ces gradients environnementaux présentent de fortes fluctuations au cours du cycle nycthéral (jour/nuit), en fonction de la grande variété de métabolismes bactériens mis en jeu.

En journée, les radiations lumineuses disponibles en surface pour les cyanobactéries induisent une production d'oxygène importante par la photosynthèse. Cette forte concentration en oxygène pénètre jusqu'au niveau du premier mm du tapis puis diminue fortement et disparaît sous l'action des bactéries hétérotrophes aérobies qui le consomment. Il s'est défini au-delà de ce mm une zone totalement anoxique. A l'opposé, il apparaît un gradient de sulfure par le biais de la réduction du sulfate, réalisée par les BSR situées dans les profondeurs du sédiment. Cette forte concentration en sulfure disparaît brutalement entre le 1<sup>er</sup> et le 2<sup>ème</sup> mm, sous l'action des bactéries sulfo-oxydantes phototrophes ou non. Il en résulte une zone anaérobie riche en sulfure séparée d'une zone aérobie.

Le pH augmente en surface suite à la forte activité photosynthétique des cyanobactéries et au faible pouvoir tampon du tapis, puis diminue en profondeur. Les fortes radiations lumineuses de la journée pénètrent le long du tapis établissant un gradient lumineux utilisable par les bactéries phototrophes.

Au cours de la nuit, aucun gradient lumineux n'existe. L'absence de l'activité photosynthétique des cyanobactéries provoque un appauvrissement très rapide en oxygène dans la totalité du tapis. Celui-ci devient majoritairement anoxique. Le métabolisme anaérobie de la sulfato-réduction dissimilatrice devient prédominant. Le sulfure envahit tout le tapis même en surface. Sans activité photosynthétique oxygénique, le tapis présente un pH plus acide qu'en journée.

### **Synécologie des tapis microbiens**

La nature compacte des tapis microbiens et les paramètres physico-chimiques suggèrent des relations étroites positives ou négatives entre les différents microorganismes. L'oxygène, le soufre et les autres composés soufrés en sont les principaux acteurs.

Par la photosynthèse oxygénique les **cyanobactéries** favorisent le développement de différents groupes fonctionnels composant le tapis microbien.

- Les BSR en leur procurant des sources de carbone et d'énergie
- Les bactéries sulfo-oxydantes par l'apport d'oxygène et de produits d'excrétion.
- Les bactéries phototrophes sulfureuses utilisant les produits d'excrétion

Au contraire, par leur production d'oxygène, les cyanobactéries ont un rôle néfaste vis-a-vis des:

- BSR, très sensible à l'oxygène produit
- BPA dont la synthèse de leurs pigments est inhibée, induisant l'utilisation d'un métabolisme chimiolithotrophe moins productif.

Alors que les **bactéries sulfo-oxydantes** aérobies permettent de les protéger (BSR et BPA) de cet important apport en oxygène.

Les BSR produisent de grandes quantités de sulfures toxiques pour les cyanobactéries. Cependant, lorsqu'il est réoxydé par les sulfo-oxydante, il est bénéfique à la croissance cyanobactéries.

### **Rôle fonctionnel des tapis microbiens dans la dégradation des hydrocarbures.**

La structure polysaccharidique des tapis microbiens joue un rôle important dans la dégradation des hydrocarbures, permettant leur adsorption et les rendant ainsi accessibles aux différentes communautés bactériennes présentes.

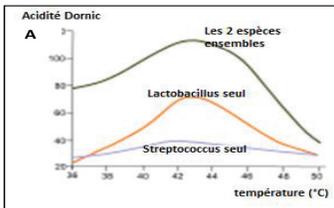
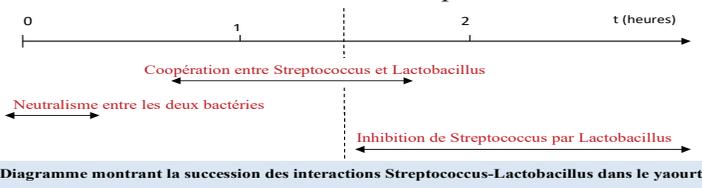
Au sein des tapis microbiens, la dégradation des hydrocarbures est réalisée par des groupes bactériens physiologiquement distincts utilisant des accepteurs d'électron différents. Au niveau de la zone superficielle oxygène, les bactéries aérobies réaliseraient les 1eres étapes de dégradation, tandis que dans la zone intermédiaire inférieure où l'oxygène est moins disponible, des bactéries micro-aérophiles assureraient l'essentiel de la dégradation. Lorsque la lumière est présente dans ces zones, les bactéries photosynthétiques anoxygéniques également présentes participent à la dégradation des hydrocarbures. Au niveau des zones anoxiques riches en sulfates, les BSR sont les plus actives. La dégradation de composés aromatiques comme le toluène, le xylène et le naphthalène par les BSR en culture pure a été mise en évidence.

De tels écosystèmes microbiens possèdent les capacités de plusieurs espèces bactériennes associées. Des structures de ce type permettent ainsi de dégrader les hydrocarbures de façon séquentielle. Un groupe bactérien débiterait la dégradation puis celle-ci serait poursuivie à partir des produits intermédiaires grâce à l'activité d'un autre groupe.

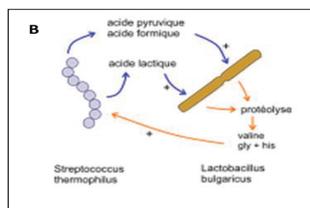
### 3.2. Synécologie du yaourt

Le yaourt est un lait fermenté obtenu par le développement d'une culture mixte de bactéries lactiques thermophiles: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Celles-ci doivent être ensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini. Au début de la fermentation, c'est le streptocoque qui se développe le plus rapidement et produit différents acides, de l'adénine et une très faible quantité de CO<sub>2</sub> (figure B). L'abaissement progressif du pH et la présence de ces substances vont petit à petit activer la croissance du lactobacille qui est plus acidophile. Celui-ci a une activité protéolytique plus importante que celle du streptocoque et la libération d'acides aminés et de peptides va le stimuler. Malheureusement pour le streptocoque, ces interactions positives ne durent pas très longtemps, dans la mesure où il est beaucoup plus sensible au pH que le lactobacille et sa croissance va être progressivement inhibée par l'acidité du milieu. On parle alors d'amensalisme, le streptocoque est l'amensal du lactobacille, ce qui veut dire que cette interaction n'apporte rien au second alors que le premier est inhibée (voir diagramme ci-dessous).

L'effet coopératif est mis en évidence par la figure A. On remarque que lorsque les deux souches sont cultivées seules, on obtient une acidification inférieure à celle du mélange. Ceci traduit un effet coopératif des deux bactéries lors de la fermentation lactique.



Observation de l'effet coopératif des deux espèces bactériennes du yaourt

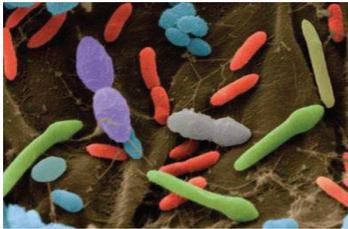


Fonctionnement de l'effet coopératif des deux bactériennes du yaourt

### 3.3. Synécologie du microbiote intestinal



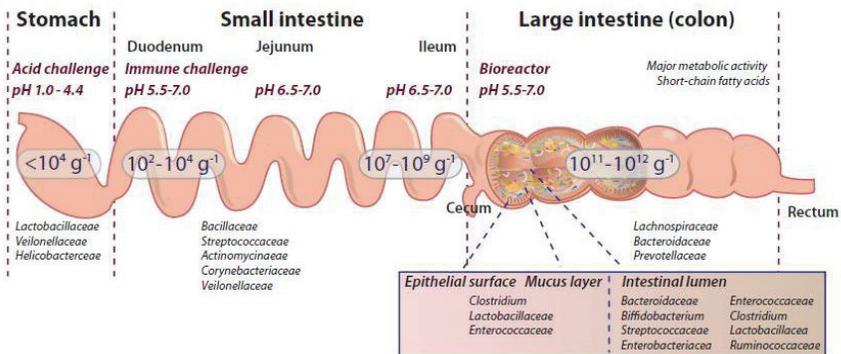
Le microbiote intestinal humain, anciennement appelé flore intestinale humaine, est l'ensemble des microorganismes (archées, bactéries, protozoaires, champignons et virus) qui se trouvent dans le tractus digestif humain (c'est-à-dire le microbiome intestinal).



Le microbiote intestinal humain

Il ne s'agit pas uniquement de bactéries intestinales mais celles de tout le système gastro-intestinal (estomac, selles). Ce microbiote constitue le plus grand réservoir du microbiote de l'organisme humain.

Le nombre de cellules microbiennes est 10 fois supérieur au nombre de cellules humaines. De plus, le nombre des gènes du microbiote, le métagénome, est au moins 150 fois plus important que celui du génome humain, 22 000 pour ce dernier contre 3,3 millions pour le microbiote intestinal. Tout au long du tractus digestif, il existe un gradient de concentration en bactéries. La densité maximale est atteinte dans notre côlon distal avec  $10^{11}$ -  $10^{14}$  bactéries pour un gramme de contenu.

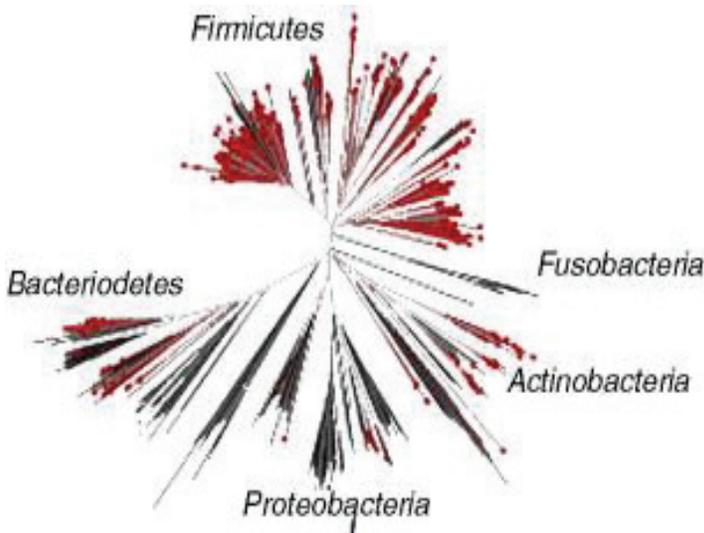


Répartition schématique de la flore microbienne dans les divers compartiments du tube digestif chez l'homme.

### Composition du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est constitué de cent mille milliards de bactéries, réparties en grands phyla, regroupant plus de trois mille espèces. L'analyse de la composition et des fonctions biologiques associées au microbiote intestinal a rapidement évolué ces dernières années suite, notamment, au séquençage du génome bactérien (métagénome).

Les bactéries dominantes du microbiote peuvent être réparties en 3 phyla bactériens majeurs (Bacteroidetes, Firmicutes et Actinobacteria) qui sont identifiées chez tous les individus d'où ressortent deux grandes catégories d'espèces: celles qui sont présentes chez tous les individus (**noyau central**) et celles qui sont propres à chacun d'entre nous et qui représentent **l'identité métagénomique**



### Composition du microbiote intestinal humain.

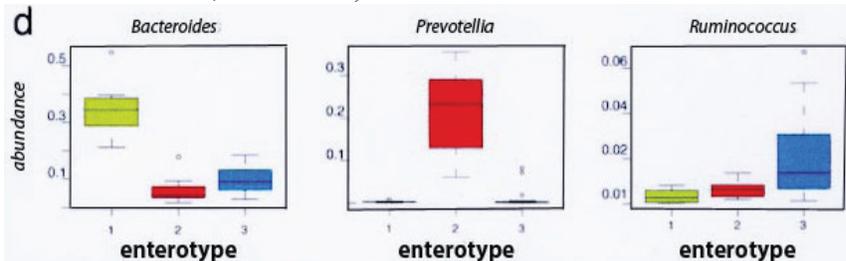
Le phylum des Firmicutes (bactéries à Gram positif) est toujours fortement représenté. Il comprend tout d'abord le groupe dit « *Eubacterium rectale - Clostridium coccoides* » qui est souvent le plus important (14 à 31 % des bactéries totales en moyenne suivant les études). Il comprend des espèces bactériennes appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clos-*

*tridium*, *Ruminococcus*, *Butyrovibrio*. Le phylum des Firmicutes comprend également le groupe « *Clostridium leptum* », avec notamment les espèces *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus albus* et *R. flavefaciens*, groupe qui est aussi très souvent dans la dominance (16 à 22% en moyenne). Les Bacteroidetes sont représentés par les genres apparentés à *Bacteroides* (*Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*). Ils sont toujours présents et partagent la dominance avec les groupes précédents (9 à 42 % des bactéries totales suivant les études).

Le phylum Actinobacteria est moins systématiquement détecté en dominance mais il représente en moyenne quelques pourcents des bactéries totales. On y trouve les bifidobactéries (0,7 à 10 %) et les bactéries du groupe *Collinsella Atopobium* (0,3 à 3,7 % en moyenne). Les entérobactéries sont plus rarement observées dans la microflore fécale dominante (en moyenne 0,4 à 1 %), de même que les lactobacilles et streptocoques (2 %).

### Les entérotypes

La biodiversité du microbiote intestinal est très importante et très difficile à apprécier avec précision. L'apport des études du métagénome (MetaHit en Europe et Human Microbiome Project aux USA) a permis de définir des groupes représentatifs des espèces majoritairement présentes chez un individu au même titre que les groupes sanguins. Ces groupes appelés « **entérotypes** » ou **signatures bactériennes intestinales**, sont caractérisés par un agencement d'espèces dominées par 3 genres bactériens: *Bacteroides*, *Prevotella*, et *Ruminococcus*.



Les entérotypes.

Il apparaît que ces trois types d'entérotypes sont indépendants de la géographie, du régime alimentaire à court terme ou de la couleur de la peau.

- L'entérotipe 1 est dominé par Bacteroïdes. Il tire principalement son énergie à partir de la fermentation des sucres. Ce genre est riche en gènes codant pour la synthèse de la biotine.
- L'entérotipe 2 est dominé par Prevotella. Il est riche en gènes codant pour la synthèse de la thiamine. Ce genre tire son énergie à partir de la biodégradation des glycoprotéines de mucines.
- L'entérotipe 3 est dominé par Ruminococcus. Il est riche en gènes codant pour l'hème contrairement à ceux de l'entérotipe Prevotella. Ruminococcus est également capable de dégrader les mucines.

Malgré des liens étroits entre les genres Prevotella et Bacteroïdes, ils s'excluent mutuellement chez les personnes en bonne santé.

### **Rôle du microbiote intestinal**

Le microbiote intestinal et son hôte humain sont un écosystème complexe qui fonctionne comme un organe à part entière en étroite symbiose avec notre organisme et forme avec lui un supra-organisme. Le microbiote se montre même capable de réguler l'expression de certains gènes de l'hôte, ce qui pourrait évoquer des relations symbiotiques avancées. Certains auteurs l'appellent espace métabolique intégré. Il existe un dialogue permanent (*quorum sensing*) entre les différentes espèces constituant le microbiote et entre le microbiote et l'hôte, à l'origine de l'homéostasie de l'écosystème.

Le développement d'une relation symbiotique mutuellement bénéfique avec les microorganismes, qui durera toute la vie, commence lors de la naissance. Les microorganismes interagissent entre eux et avec l'organisme hôte. Certaines souches non-pathogènes d'*E.coli*, commensales typique de l'intestin, sont bénéfiques pour d'autres symbiotes de l'écosystème. En épuisant l'oxygène, elles rendent l'environnement anaérobie favorable aux bacteroides. La compétition et le mutualisme entre les

différents microorganismes et entre les microorganismes et leur hôte permettent de maintenir un état d'équilibre qui lorsqu'il est rompu favorise l'apparition de conditions pathologiques telles que des syndromes infectieux épisodiques ou inflammatoires chroniques, des pathologies métaboliques et parfois même des processus de cancérisation.

Le rôle bénéfique du microbiote intestinal est largement démontré.

A l'état normal (**interaction positive**), quatre grandes fonctions principales lui sont attribuées, deux fonctions de défense essentielles pour l'organisme à savoir:

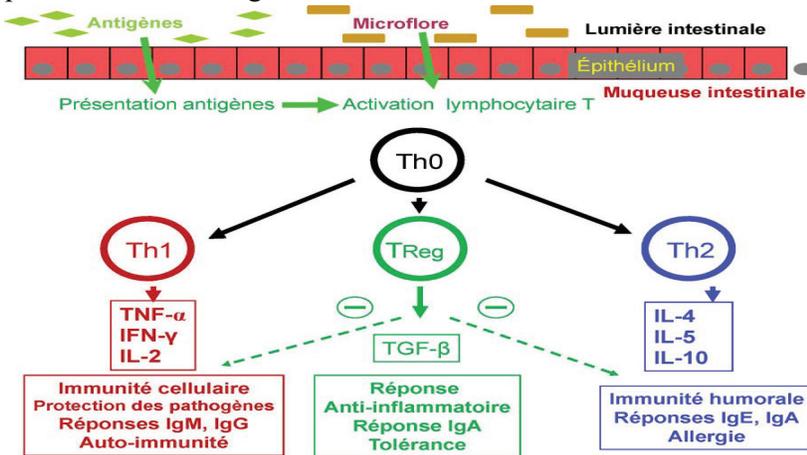
- il participe à la maturation du système immunitaire au début de la vie et est impliqué dans certaines pathologies inflammatoires et allergiques,
- Il possède un effet barrière vis à vis de pathogènes extérieurs par la diversité biologique de la flore bactérienne commensale.
- Une fonction physiologique: l'épaisseur et le renouvellement de la muqueuse de l'intestin, la taille des villosités et de la bordure en brosse, l'angiogénèse (développement du réseau sanguin) sont co-régulés par le microbiote.
- fonction digestive: Les matériaux alimentaires non-digestibles (ex: fibres de polysaccharides végétaux) sont dégradés par le microbiote, via la fermentation colique (fonction de digestion), et on observe des synthèses de vitamines, des bioconversions de substances en micro-nutriments assimilables, bénéfiques pour la santé ou influençant le stockage de graisses.

En cas de dysbiose, (**interaction négative**), c'est-à-dire un changement dans la composition ou la stabilité des populations bactériennes de l'intestin, le microbiote peut être associé à des désordres métaboliques tel que le diabète de type 2, l'obésité ou bien les maladies cardiovasculaires. Par ailleurs, certaines composantes du microbiote ont été associées aux maladies inflammatoires chroniques telles que la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique, et également au développement d'allergies et au cancer colorectal.

### Interaction microbiote intestinal et système immunitaire

Il existe un lien formel entre la flore bactérienne, la muqueuse intestinale et le système immunitaire, notamment par l'intermédiaire du système immunitaire inné dont les toll-like receptors (TLR) sont les principaux acteurs. La muqueuse intestinale, avec une surface de plus de 300 m<sup>2</sup>, est en permanence exposée à une quantité très importante d'antigènes, qu'ils soient d'origine alimentaire ou bactérienne. La flore bactérienne intestinale joue des rôles essentiels au niveau des systèmes immunitaires intestinal et périphérique: rôle d'activation, rôle de modulation des réponses spécifiques, par exemple au niveau intestinal sur la réponse vaccinale ou sur la réponse protectrice IgA antirotavirus.

La flore joue enfin un rôle de régulation du système immunitaire. Celui-ci est immature et caractérisé par une réponse déséquilibrée des lymphocytes T helper 2 (Th2) supérieure à celle des Th1 de même qu'une insuffisance de T régulateurs. La colonisation bactérienne progressive du tube digestif est, à cet égard, essentielle pour établir un équilibre entre les Th2 et les autres types de lymphocytes (Th1 et Th3). La flore intestinale joue ainsi un rôle dans l'acquisition de tolérance et par conséquent dans la prévention de l'allergie.



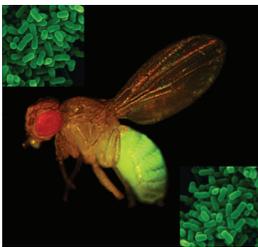
**Interactions microflore et système immunitaire et orientations de la réponse immune.**

## Etude des interactions du microbiote

Les animaux axéniques sont de bons modèles expérimentaux pour l'étude des interactions entre les animaux et leurs microorganismes. Ces expériences sont la version in vivo de culture du microbiologiste et sont menées selon deux approches:

- **Utilisation d'animaux axéniques**, dépourvus de microorganismes (germ-free), La comparaison d'animaux axéniques et animaux normaux permet de mieux comprendre les interactions entre les microorganismes et l'hôte. Les résultats ont montré que ces animaux axéniques ne sont tous viables, certains ne peuvent pas se reproduire et des modifications importantes de certains organes et tissus apparaissent.
- **Utilisation d'animaux gnotobiotiques**, inoculés avec des populations bactériennes connues. A titre d'exemple, utilisation d'une espèce particulière *Faecalibacterium prausnitzii*, qui possède des propriétés anti-inflammatoires et dont la diminution ou la disparition induit une inflammation du tube digestif qui disparaît lorsqu'elle est réintroduite dans l'écosystème intestinal.

Des modèles expérimentaux de souris axéniques (nées et élevées en condition stérile stricte, et exemptes de tout micro-organisme colonisateur) et de souris spécifiquement colonisées avec certaines bactéries, a permis d'entrevoir le rôle que joue le microbiote intestinal sur le métabolisme énergétique. Récemment la drosophile a été utilisée comme organisme hôte modèle pour l'étude du microbiote intestinal, pour vérifier l'effet bénéfique des probiotiques.



Drosophile adulte dont le tractus intestinal est colonisé par une espèce bactérienne commensale exprimant un marqueur de fluorescence vert (Green Fluorescence Protein, GFP) - Encart: cellules de *Lactobacillus plantarum* exprimant un marqueur de fluorescence vert.

***Drosophila melanogaster*: organisme modèle pour l'étude de la physiologie du microbiote intestinal.**



#### **4. Communication et signalisation intercellulaire.**

- **Chez les organismes eucaryotes**

Aucune cellule ne vit de manière isolée. Les microorganismes eucaryotes comme les levures, les moisissures visqueuses et les protozoaires sécrètent des molécules: les phéromones qui coordonnent l'agrégation des cellules libres en vue de leur reproduction sexuée ou de leur différenciation. Les facteurs de conjugaison chez les levures illustrent bien le phénomène de signalisation intercellulaire.

Plus importantes chez les plantes et les animaux sont les molécules de signalisation extracellulaires qui fonctionnent au sein de l'organisme pour contrôler les processus métaboliques intracellulaires, la croissance et la différenciation des tissus, la synthèse et la sécrétion de protéines ainsi que la composition des fluides intra- et extracellulaire. Les cellules adjacentes communiquent souvent par contact direct. Par exemple, des jonctions lacunaires (jonction gap) entre les membranes plasmiques de cellules voisines permettent l'échange de petites molécules et de coordonner des réponses métaboliques. D'autres jonctions entre cellules adjacentes déterminent la forme et la rigidité de beaucoup de tissus en permettant, entre autres, l'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire. De telles interactions intercellulaires ou de cellules à la matrice, peuvent aussi déclencher des signaux intracellulaires par des voies variées.

Les molécules de signalisation extracellulaire synthétisées et sécrétées par des cellules émettrices déclenchent une réponse uniquement dans des cellules cibles porteuses de récepteurs pour ces médiateurs. Ceux-ci dans les organismes multicellulaires sont des plus variés ; ils comprennent de petites molécules (ex des acides aminés, des dérivés lipides ou l'acétylcholine) mais aussi des peptides et des protéines. Certains, particulièrement les molécules hydrophobes comme les stéroïdes, les rétinoïdes et la thyroxine, diffusent spontanément à travers la membrane plasmique et se lient à des récepteurs intracellulaires.

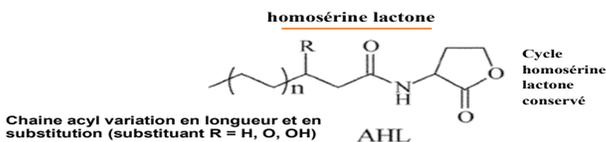
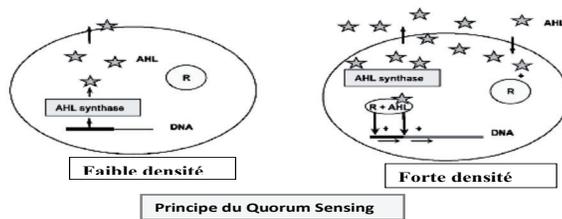
• **Chez les bactéries: le quorum sensing**

Les bactéries sont interactives et possèdent un extraordinaire répertoire pour la communication intercellulaire et le comportement social. Des systèmes et circuits de signalisation sont la base des interactions que les bactéries établissent entre elles et avec les autres organismes.

**Définition et Principe**

Le QS est un mécanisme de régulation de l’expression de certains gènes bactériens dépendant de la densité bactérienne. Il repose sur la communication intercellulaire via la diffusion de petites molécules, produites en phase de croissance bactérienne et dont les plus connues sont les AHLs (N-acylhomosérine lactone).

Lorsqu’un seuil de concentration, reflétant la densité de la population bactérienne, est atteint, ces molécules appelées aussi auto-inducteurs interagissent avec un régulateur transcriptionnel, permettant l’expression spécifique d’un groupe de gènes en réponse à une forte concentration de cet auto-inducteur. Les déterminants génétiques du QS sont organisés en un réseau régulateur complexe incluant la cascade du QS et un spectre de régulateurs transcriptionnels et post-transcriptionnels qui affectent la synthèse de l’autoinducteur AHL. Des travaux récents ont montré que des facteurs autres que la densité bactérienne affectent la production et l’accumulation d’AHL.

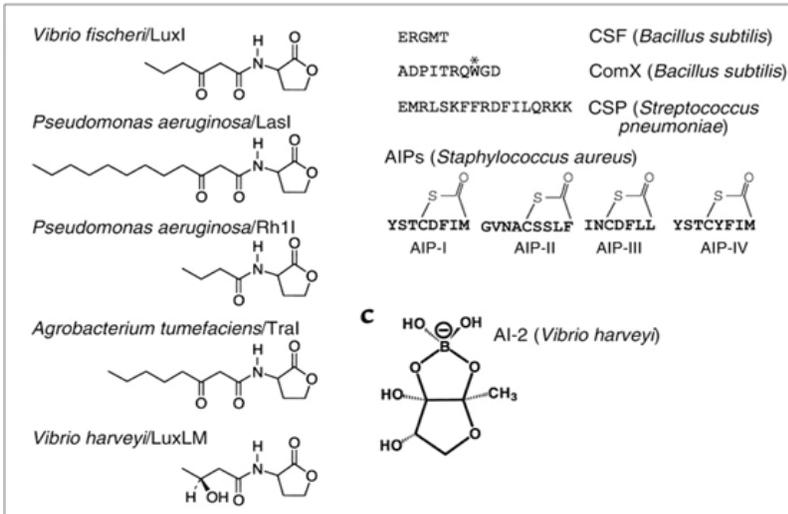


Structure générale d’une Acyl Homosérine Lactone

Les auto- inducteurs sont de petites molécules qui diffusent à travers les membranes cellulaires. Elles sont de différentes familles incluant les acylhomosérine lactone (AHL), des dérivés des acides gras, les quinolones, des furanones et des peptides. Les plus étudiées sont les AHLs utilisées par les bactéries Gram négatives. Les AHLs peuvent être ou non spécifiques à l'espèce et sont constituées d'une chaîne acyl de 4 à 14 carbones comportant divers substituants liés à l'homosérine lactone par une liaison peptidique.

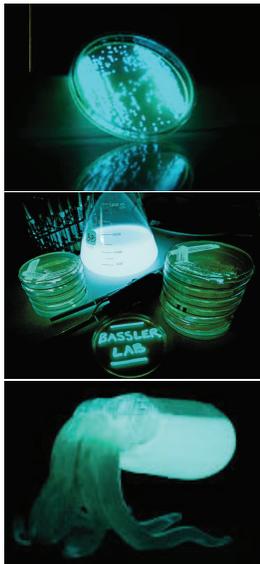
Ces AHLs reposent sur un principe commun. Chaque cellule de la population produit l'AHL à un niveau de base, et de ce fait la concentration de cette molécule signal augmente avec la population. Quand cette dernière atteint un certain seuil, (quorum), l'AHL se lie à une protéine réceptrice, lui permettant d'exercer un rôle de régulation au niveau de la transcription de l'expression de certains gènes regroupés en opéron. Cette perception du quorum module une large gamme d'activité microbienne: formation de biofilm, différenciation en cellules spécialisées telles les hétérocystes, production de nodules, transfert de plasmides conjugués, essaimage, compétition ou symbiose entre les souches, production de facteurs de virulence, démarrage de la réplication des chromosomes, biosynthèse d'antibiotiques...

Découvert initialement chez des bactéries marines bioluminescentes, ce système de communication bactérienne a trouvé un intérêt aux yeux des scientifiques lorsque ce mécanisme a été retrouvé chez des bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* ou à Gram positif comme *Staphylococcus epidermitis*.



Structure d'autoinducteurs de bactéries modèles dans l'étude du Quorum Sensing

**Chez *Vibrio fischeri*.**



Le premier système de QS, identifié dans les années 1970, a été la bioluminescence qui déclenche la production de lumière par la bactérie marine, *Vibrio fischeri*. Cette bactérie peut être retrouvée dans la mer soit à l'état libre soit en symbiose dans des organes particuliers de certains poissons ou céphalopode comme le calamar. A l'état libre, la bactérie dont la concentration est faible ( $10^2$  cellules /ml) n'émet pas la lumière, mais à l'état fixé à l'intérieur du calamar, présentant une forte densité ( $10^{10}$  cellules/ml), elle est lumineuse.



Symbiose Calamar---- Bactéries lumineuses

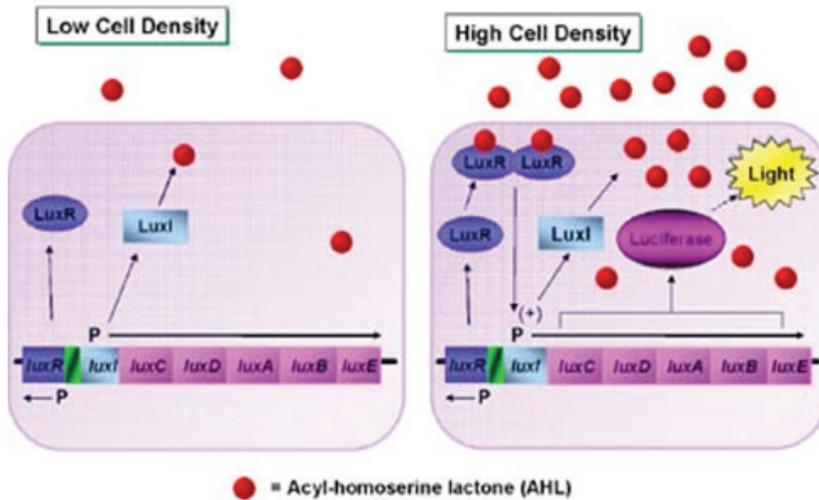
Cette symbiose mutualiste fournit un environnement riche en nutriment pour les bactéries, et permet aux hôtes d'échapper à leurs prédateurs. Les calamars sont repérés par leurs prédateurs situés en dessous d'eux grâce à l'ombre qu'ils provoquent en passant devant la lumière de la lune. Devenant lumineux grâce à la bactérie, les calamars ne provoquent pas d'ombre et peuvent se nourrir en toute tranquillité. Le terme quorum sensing a été utilisé pour décrire ce phénomène puisque la population doit atteindre un certain niveau « quorum » avant que la lumière soit émise.

*Vibrio fischeri* émet de la lumière grâce à une enzyme, la luciférase, qui est une oxydase flavinique. La luciférase agit sur des composés aldéhydiques à longues chaînes (7 à 11 carbones) appelés luciférine. L'émission de lumière résulte de leur oxydation. Les gènes qui codent pour la bioluminescence des bactéries sont appelés lux. L'opéron lux est composé de cinq gènes lux CDABE. Les gènes luxA et luxB codent pour l'enzyme la luciférase et les gènes luxCDE codent pour des enzymes impliquées dans la synthèse du substrat: la luciférine.

Deux gènes principaux, luxR et luxI sont impliqués dans le mécanisme du QS chez *V. fischeri*. Le gène luxI code pour une enzyme qui participe à la synthèse de la molécule auto-inductrice: 3-oxo-C6-HSL. Lorsque la concentration en AHLs atteint un seuil critique, elles se lient aux protéines LuxR codées par le gène luxR.

Le complexe LuxR—3-oxo-C6-HSL devient activateur de la transcription:

- De gènes impliqués dans la synthèse de la luminescence (luxCDABE)
- Du gène luxI qui synthétise alors plus d'auto-inducteurs (3-oxo-C6-HSL)



### Quorum sensing Chez *Vibrio fischeri*

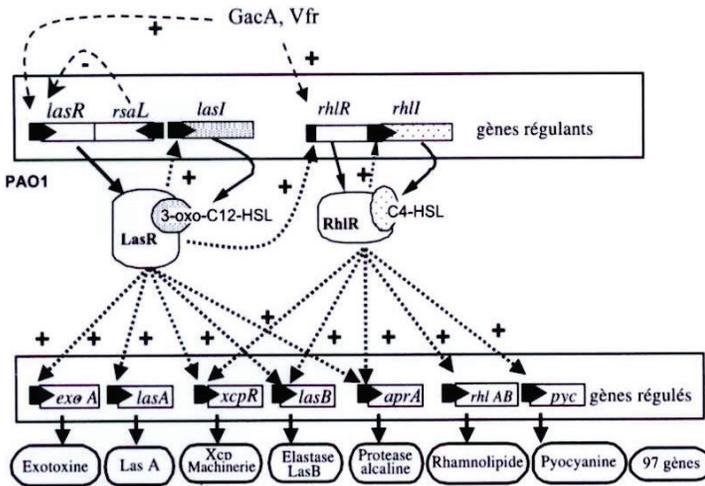
#### Chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans les années 1990, des mécanismes similaires ont été découverts chez d'autres bacilles à gram négatif comme *P. aeruginosa*. C'est un pathogène opportuniste responsable de diverses infections nosocomiales, et caractérisé par sa capacité de former des biofilms. Ces derniers représentent la principale cause de persistance de la pneumopathie chez les patients mucoviscidosique et de l'infection oculaire chez les sujets porteurs de lentilles de contact.

Chez *P. aeruginosa*, deux système de QS ont été découverts, le système *las* et le système *rhl*, contrôlant à eux deux la transcription de plusieurs gènes impliqués dans la virulence.

**Le système las**, Le premier à avoir été décrit, comprend les gènes *lasR* codant pour la protéine régulatrice LasR et le gène *lasI* codant pour une enzyme, auto-inducteur synthase, *lasI*, nécessaire à la synthèse d'un type d'AHL: 3-oxo-C12-HSL. Comme chez *V. fischeri*, les 3-oxo-C12-HSL possèdent la propriété de traverser facilement les membranes bactériennes permettant la communication entre les bactéries. Lorsque la

concentration en 3-oxo-C12-HSL atteint un seuil critique, témoin d'une concentration bactérienne élevée, une molécule d'AHL se lie à deux protéines LasR pour constituer un complexe activateur de la transcription de plusieurs gènes. Cette activation est déclenchée de manière synchrone dans toute la population bactérienne à la jonction entre la phase de croissance exponentielle et le début de la phase stationnaire.



**Mécanisme moléculaire du Quorum sensing chez *P. aeruginosa***

Les gènes activés par ce système comprennent:

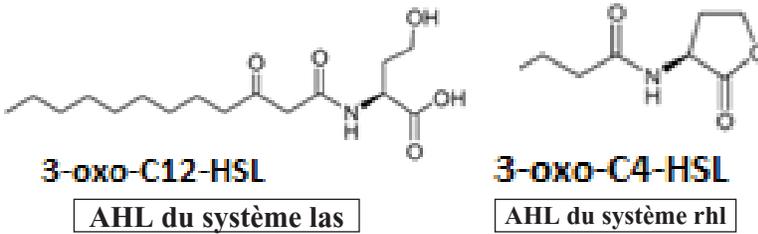
lasB, lasA, apr codant respectivement pour deux élastases et pour une protéase alcaline contribuant chacune à la destruction des tissus pulmonaires.

toxA, codant pour une exotoxine, des gènes codant pour des protéines nécessaires à l'exportation de ces protéines hors de la cellule.

lasI permettant une augmentation rapide de la synthèse des AHLs et donc une amplification du signal par auto-induction.

**,Le système rhl:** Ce deuxième système du QS, fonctionne selon le même schéma et comprend le gène rhlR codant pour la protéine régulatrice RhlR et le rhlI codant pour une enzyme auto-inducteur synthase,

RhII nécessaire à la synthèse d'un second type d'AHL: C4-HSL. Le complexe RhIR---C4-HSL contrôle l'expression de l'opéron *rhlAB* nécessaire à la production de rhamnolipide et l'expression d'une série de gènes dont *lasB*, *lasA*, *aprA* et *rhlI*. Il existe des interactions entre ces deux systèmes: *las* qui régule positivement *rhl*.



Structure des AHLs du QS chez *P.aeruginosa*

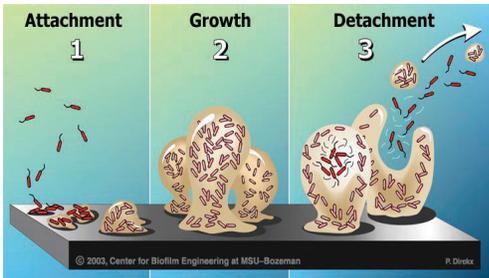
### Implication du QS de *P.aeruginosa* en pathologie

Différents types de modèles animaux ont été utilisés pour préciser le rôle du QS dans la pathogénie de *P.aeruginosa*: Les résultats obtenus chez la souris nouveau-née et la souris brûlée montraient l'implication du QS dans la survenue de la pneumopathie chez le patient ventilé ou de l'infection chez le brûlé. En revanche, les études sur le modèle d'infection de la cornée chez la souris ne retrouvent pas d'effet du QS dans la virulence de *P.aeruginosa* puisque la souche mutée pour *lasR* est aussi avirulente que la souche sauvage.

Les AHLs jouent également un rôle au cours de l'infection à *P.aeruginosa*. L'auto-inducteur du système *las* (3-oxo-C12-HSL) présente chez l'hôte une activité immuno-modulatrice en inhibant la prolifération lymphocytaire, en réduisant la production de TBF $\alpha$  induit par le LPS de la bactérie et en stimulant la vasodilatation. Il a été également démontré *in vivo* que le 3-oxo-C12-HSL accélère l'apoptose de macrophage et des polynucléaires neutrophiles. En conséquence, l'AHL n'exerce pas uniquement un rôle dans la virulence dépendant du QS mais agit directement sur les défenses de l'hôte pour augmenter les chances de survie de la bactérie.

### Rôle du QS dans la formation des biofilms de *P.aeuriginosa* .

*P.aeuriginosa* a la capacité de former des biofilms dont l'architecture est constituée de microcolonies engainées dans des exopolysaccharides d'alginate qui se structurent en forme de champignons ou de piliers séparés par des canaux permettant la circulation des nutriments. Les bactéries situées au sein du biofilm deviennent résistantes à la phagocytose, aux anticorps, aux désinfectants et aux antibiotiques. Ces biofilms représentent la principale cause de persistance de la pneumopathie chez les patients mucoviscidiques et de l'infection oculaire chez les patients porteurs des lentilles de contact.



Trois étapes peuvent être distinguées dans la formation de biofilms: une étape initiale d'attachement à la surface d'une muqueuse ou d'un matériau, suivie d'une étape de prolifération aboutissant à la

formation de microcolonies et enfin d'une étape de structuration ou maturation du biofilm.

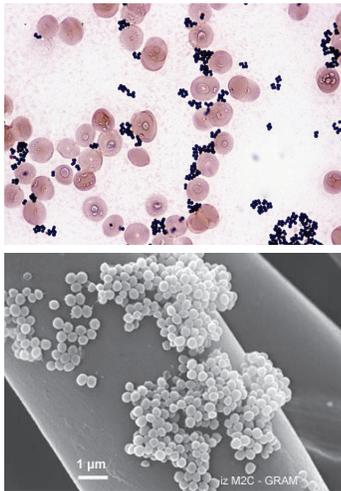
Des études récentes ont montré que le quorum sensing se met en place dès les premiers stades de la formation du biofilm et intervient durant tout le processus y compris dans la phase de dispersion ou dernière étape du processus. L'implication du QS durant la phase de maturation du biofilm est bien étudiée. Le biofilm obtenu à partir d'une souche mutée dans le gène *lasI* est plus fin, peu structuré et sensible à l'action d'un détergent. Par contre, une souche mutée dans le gène *rhlI* donne un biofilm peu modifié comparable à celui obtenu avec la souche parentale. L'addition du 3-oxo-C12-HSL restaure un biofilm structuré et confirme le rôle essentiel du QS via *lasI*.

## Inhibition du QS

Inhibition du QS est envisagée comme une alternative pour contourner le problème de l'antibiorésistance chez *P.aeuriginosa*. A la différence des antibiotiques, l'inhibition du QS n'a pas d'action directe sur la croissance bactérienne mais sur la réduction de la virulence de cette bactérie, ce qui n'induit pas une résistance. Il est ensuite nécessaire que le système immunitaire du patient élimine les pathogènes rendus avirulents. L'inhibition de la liaison LasR-HSL par une AHL antagoniste telle que les furanones est une approche en développement.

- **Chez *Staphylococcus aureus***

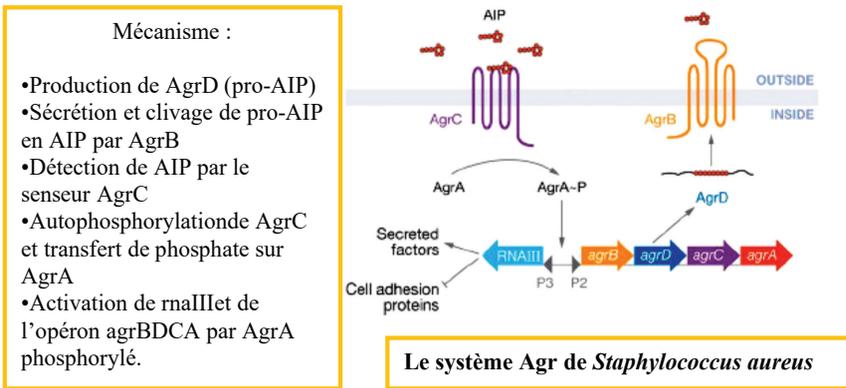
Le mécanisme du QS chez les bactéries gram positives est différent que chez les gram négatives. Les autoinducteurs des bactéries à Gram positif sont des oligopeptides de 5 à 17 aa qui sont le plus souvent modifiés post traductionnellement par l'ajout de cycles lactone ou thiolactone, lanthionine et isoprényl. Ces oligopeptides autoinducteurs sont détectés par des protéines transmembranaires. De subtiles variations sont reconues par les récepteurs à deux composants et assurent la spécificité du signal.



*Staphylococcus aureus* est un pathogène opportuniste produisant un grand nombre de facteurs de virulence. Parmi ceux-ci, la toxine  $\alpha$  excrétée, codée par *hla*, et la protéine A de surface, codée par *spa*, sont souvent utilisées comme modèle d'étude de la régulation de l'expression des facteurs de virulence. Le système du quorum sensing (QS), codé par le locus *agr*, intervient dans leur régulation *in vitro*. La capacité de *S. aureus* à former des biofilms est aussi considéré comme facteur de virulence permettant d'aggraver et de rendre chronique les infections.

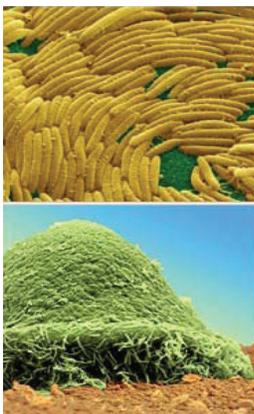
L'un des composants du biofilm (le PIA) est synthétisé par les produits du locus *ica*. L'expression des gènes de virulence dépend d'un système de régulation globale: *agr* (accessory gene regulator). Le locus *agr* code pour les gènes :

- *rnaIII*: code un petit ARN
- Opéron *agrBDCA*: code les protéines du Quorum Sensing
- *agrD*: code le peptide précurseur (pro-AIP)
- *agrB*: code une protéine avec activités de transporteur et deprotéolyse
- *agrCA*: codent un système à deux composants.



• **Chez *Myxococcus xanthus***

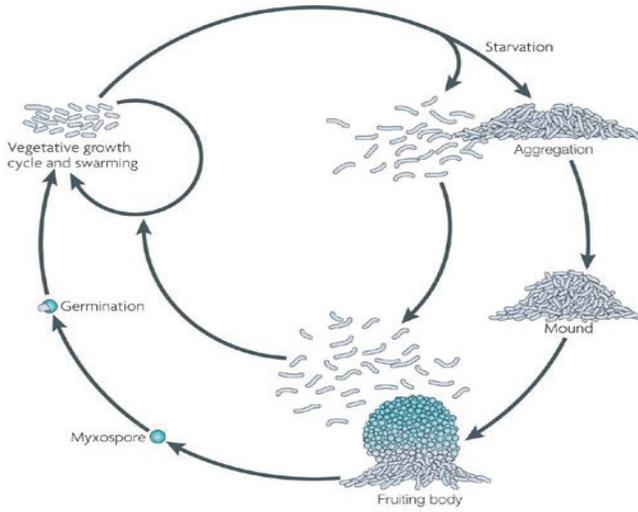
Le cycle de cycle de vie de *M. xanthus* est caractérisé par la formation des spores.



En cas de déficit alimentaire, un système appelé « A-signal » détermine si les bactéries sont suffisamment nombreuses à souffrir d'une carence. Ce système est équivalent au QS mais ne met pas en jeu des AHLs, mais des signaux de nature peptidique. Dès que ce seuil est atteint, les myxobactéries s'empilent pour former un monticule bien structuré en forme de dôme d'approximativement 100 000 cellules. Certaines cellules s'y différencient en spores, d'autres seraient détruites, four-

nissant de la nourriture aux survivants, et d'autres enfin se différencient en bâtonnets périphériques supposés protéger le développement du corps fructifère de l'attaque des microbes.

La formation de spores qui assurent la survie du clone est partiellement commandée par un circuit de quorum sensing. Beaucoup de Myxobactéries n'existent jamais sous forme de cellules individuelles et montrent un comportement social



Nature Reviews | Microbiology

Cycle de vie de *Myxococcus xanthus*

## Références bibliographiques

- Arumugam M., Raes J., Pelletier E. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473: 174-180. Doi:10.1038/nature.
- Azam F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil, F. Thingstad. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine. Ecology. Progress*, 10: 257-263.
- Bourlioux P. 2013. Actualité du microbiote intestinal. Cours donné à l'académie de Pharmacie. Groupe de travail : Microbiote intestinal santé environnement.
- Branger A., M. M. Richer, S. Roustel. 2007. *Microbiochimie et alimentation*. Edition educagri, pp. 343.
- Cani P. D., N. M. Delzenne. 2011. The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacology & Therapeutics*, 130: 202-212.
- Corthier G. 2007. Flore intestinale et santé: quels enjeux? *Nutrition clinique et métabolisme*, 21 : 76-80. Doi :10.1016/j.nupar.2007.04.003.
- Delzenne N.M., A.M., Neyrinck, P.D. Cani. 2012. Implication du microbiote intestinal dans l'obésité et les pathologies associées: quelles perspectives thérapeutiques et nutritionnelle? *Obésité*, 7 : 234-239. Doi : 10.1007/s11690-012-0346-5
- Dessaux Y. C., Grandclément, D., Faure 2016. Engineering the rhizosphere. *Trends in plant science*, 21: 266- 278.
- Elaume H. 2005. Etude comparative du rôle du quorum sensing dans la régulation de l'expression des facteurs de virulence chez un isolat clinique de *Staphylococcus aureus* en culture planctonique et en biofilm. Thèse de doctorat en microbiologie moléculaire.
- Fourçans A. 2004. Dynamique des communautés bactériennes de tapis microbiens soumis aux stress environnementaux. Thèse de doctorat en microbiologie. <http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00151969/>
- Gupta G., et al. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J.*

- Microbiol. Biochem. Technol. 7:2. DOI: 10.4172/1948-5948.1000188.
- Hermosa R., A. Viterbo, I. Chet, E. Monte. 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiol.* 158: 17–25. DOI 10.1099/mic.0.052274-0
- Huybens N., J. Mainil, D. Marler. 2009. Les techniques de biologie moléculaire d'analyse des populations bactériennes complexes. *Annales médicales et vétérinaires*, 153 : 112-128.
- Jouve D. Le stress microbien et ses conséquences au laboratoire de Microbiologie. Yumpu.com.
- Lemenceau P., B. Pivato, C. Mougel, L. Avoscan, S. Mazurier. Diversité et activités microbiennes dans la rhizosphère : des atouts majeurs en agroécologie.
- Lodish A., Matsudaira, Kaiser, Krieger, Scott, Zipursky, Darnell. 2005. *Biologie moléculaire de la cellule*. Edition de boeck. 3eme édition.
- Naddem S.M., M. Ahmad, Z.A. Zahir, A. Javaid, M. Ashraf. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol. Adv.* 32: 429-48.
- Podile A.R., G.K. Kishore. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria.. *Plant-associated bacteria*, 195-230. Ed. S.S. Gnanamanickam.
- Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood, Woolverton. 2010. *Microbiologie*, édition de boeck. 3eme édition.
- Richaume A., A. Pourcelot, R. Rama, S. Nazart. 2006. Evaluation des modifications quantitatives, qualitatives et fonctionnelles induites par la conservation de consortiums bactériens extraits de sols. pp. 371-389. (hal-00124666).
- Sansonetti P. 2009. Vie bactérienne communautaire (1), on se compte et on s'adapte. Leçon N03-QS final-copie.ppt. Laurence Caron, Foule Bleue Paris.

## Sites Web

Le microbiote intestinal.

<http://www.probionov.com/fr/human-microbiome/the-intestinal-microbiota/>

Quorum sensing chez *Vibrio fischeri*

<https://www.google.com/search?q=bioluminescent+vibrio+fischeri&biw>

Les récifs coralliens tropicaux

<http://dtournassat.free.fr/Maintenance/recif/recif.htm>

[www.ird.nc/camelia/Jaquetpdf/TH1-033-Jaquet](http://www.ird.nc/camelia/Jaquetpdf/TH1-033-Jaquet). Représentation simplifiée du réseau trophique microbien

<http://amex.snv.jussieu.fr/fichier/faune.htm>. Faune hydrothermale.

<http://www.ac-rennes.fr/pedagogie/svt/travaux/ifremer/francais/chimio.htm>

La chimiosynthèse dans les monts hydrothermaux.

La vie autour des sources hydrothermales

<http://wwz.ifremer.fr/Decouvrir-les-oceans/Se-documenter/Sciences-de-la-Vie-de-la-Terre/La-vie-autour-des-sources-hydrothermales>

Analyse des bactéries non cultivables

<http://www.memoireonline.com/07/12/6013/Analyse-des-bacteries-noncultivables.html>

[http://www.smhv.net/especes\\_mycorhizogenes.ws](http://www.smhv.net/especes_mycorhizogenes.ws). Les ectomycorhizes

<http://mycorrhizas.info/ecm.html>. Ectomycorhizes synthétisées sous des conditions stériles par *Pinusradiata* et *Suillusbrevipes*.

<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/transgenese/agrobacterium/agro.htm>

<http://dtournassat.free.fr/Maintenance/recif/recif.htm>

[http://www.smhv.net/especes\\_mycorhizogenes.ws](http://www.smhv.net/especes_mycorhizogenes.ws)