**Chapitre 2. Diversité des Microorganismes**

### Introduction

Les micro-organismes, également appelés microbes, regroupent des êtres vivants microscopiques qui jouent un rôle fondamental dans la biosphère. Leur apparition remonte à environ 3,8 milliards d'années, ce qui en fait les plus anciens habitants de la planète. Invisible à l’œil nu, leur existence n’a été confirmée qu’au XVIIe siècle grâce aux progrès de l’optique. Bien qu’ils puissent parfois être nuisibles en raison de leur implication dans certaines pathologies, ils sont essentiels aux cycles biogéochimiques et à l’équilibre de la nature.

En biotechnologie, les micro-organismes sont utilisés notamment dans les secteurs médical, industriel, agricole, et environnemental. Leurs applications vont des procédés de fermentation anciens aux technologies modernes basées sur le génie génétique et la biologie synthétique.

**2. Caractéristiques Générales des Micro-organismes**

Les micro-organismes, qui incluent les virus, les bactéries, les champignons, les algues et les protistes, se distinguent par leurs structures cellulaires simples et leur capacité à vivre dans des environnements variés. Leur classification repose principalement sur des caractéristiques génétiques et phylogénétiques.

**2.1. Classification Phylogénétique des Micro-organismes**

La classification des micro-organismes se base aujourd'hui sur l’analyse des séquences d’ADN, notamment les gènes codant pour l’ARN ribosomique (ARNr 16S). Ce système divise les êtres vivants en trois grands domaines :

1. **Les Archées (Archaea)** : Ce sont des procaryotes sans noyau et sans organites. Elles se distinguent des bactéries par leur biochimie cellulaire, notamment la composition de leur membrane et leur mécanisme de réplication de l’ADN. On les retrouve dans des environnements extrêmes (thermophiles, halophiles, méthanogènes).
2. **Les Eubactéries (Eubacteria)** : Ce sont également des procaryotes, mais elles diffèrent des archées par plusieurs aspects biochimiques et structuraux. Les bactéries sont omniprésentes et peuvent être pathogènes ou bénéfiques pour l'homme, les animaux et les plantes. Leur taille varie entre 0,2 et 50 µm, et leur information génétique est contenue dans un chromosome circulaire.
3. **Les Eucaryotes (Eukaryota)** : Ce groupe inclut les organismes dont les cellules possèdent un noyau délimité par une membrane ainsi que d'autres organites. Les eucaryotes comprennent les animaux, les plantes, les champignons, les protistes et certaines algues. Leur reproduction est souvent sexuée, et leur multiplication cellulaire se fait par mitose.





**2.2. Types Principaux de Micro-organismes**

1. **Les Virus** : Les virus sont des entités biologiques qui ne peuvent se reproduire qu’en infectant une cellule hôte. Ils sont composés d'une molécule d'ADN ou d'ARN entourée d'une coque de protéines, et parfois d'une enveloppe lipidique. Leur statut d’organismes vivants est controversé, mais ils sont utilisés en biotechnologie, notamment dans les domaines de la thérapie génique et des vaccins.
2. **Les Bactéries** : Organismes unicellulaires procaryotes, elles jouent un rôle crucial dans les cycles biogéochimiques (ex. : fixation de l'azote, dégradation de matières organiques). Les bactéries sont largement utilisées dans les industries biotechnologiques pour la production d'antibiotiques, d'enzymes, et dans des processus de bioremédiation.
3. **Les Archées** : Ces micro-organismes extrêmophiles sont présents dans des environnements hostiles, mais sont également retrouvés dans des habitats communs (ex : soil, intistin). Leur capacité à produire du méthane est exploitée pour la production d'énergie renouvelable.
4. **Les Champignons** : Ils incluent les levures (organismes unicellulaires) et les moisissures (organismes pluricellulaires). Les champignons sont largement utilisés en biotechnologie pour la fermentation, la production d'antibiotiques (ex. : pénicilline), et d'enzymes.
5. **Les Algues** : Organismes photosynthétiques, les algues se trouvent principalement en milieu aquatique. Les cyanobactéries (algues bleues) et les algues vertes sont notamment utilisées pour la production de biocarburants.
6. **Les Protistes** : Ce groupe inclut des organismes unicellulaires eucaryotes tels que les protozoaires et certains types d'algues. Certains sont pathogènes, tandis que d’autres sont exploités pour leur rôle dans les écosystèmes aquatiques.

**2.3. Diversité Morphologique**

Les micro-organismes présentent une grande diversité de tailles, formes et structures cellulaires, adaptées à leur environnement et à leurs fonctions :

* **Bactéries** : On trouve des formes sphériques (cocci), en bâtonnets (bacilles), en spirales (spirilles) et filamenteuses.
* **Levures** : Elles sont généralement sphériques ou ovales, avec des dimensions variant de 5 à 10 µm.
* **Algues** : Varient de simples cellules microscopiques (microalgues) à des organismes multicellulaires pouvant atteindre plusieurs mètres (algues brunes).
* **Virus** : Ils sont beaucoup plus petits (de 20 à 300 nm), avec des formes allant de la simple hélice à des structures complexes.



**2.4. Diversité Métabolique**

Pour assurer sa croissance ou sa survie, un micro-organisme doit trouver de quoi satisfaire ses besoins nutritifs dans son environnement : substances énergétiques permettant à la cellule de réaliser la synthèse de ses constituants et substances élémentaires ou matériaux constitutifs de la cellule. Tous les microorganismes ont besoin d’eau, d’une source d’énergie, d’une source de carbone, d’une source d’azote et d’éléments minéraux. Ils absorbent les nutriments par transport passif ou actif ou endocytose.

Les exigences nutritionnelles en **carbone** conduisent au classement des micro-organismes en deux grandes catégories :

- **Les autotrophes** : sont capables de se développer en milieu minéral (inorganique) en utilisant le dioxyde de carbone (CO2) ou les ions hydrogénocarbonates (HCO3-) comme seule source de carbone pour synthétiser leurs constituants carbonés ;

- **Les hétérotrophes :**  exigent des molécules organiques (sucres et dérivés, acides organiques, peptides et acides aminés...), pour leur croissance. Certains micro-organismes sont capables d’assimiler de nombreuses substances organiques différentes, tandis que d’autres ont des capacités métaboliques restreintes à quelques substrats (voir un seul).

Concernant la **source d’énergie,** Il existe seulement deux sources d’énergie disponibles pour les êtres-vivants :

- **l’énergie lumineuse**, transformée en ATP par les phototrophes, grâce à des pigments (chlorophylles, bactériochlorophylles, carotènes...) ;

- **l’énergie chimique**, provenant de l’oxydation de molécules minérales (chimiolithotrophes) ou organiques (chimioorganotrophes).

- **Les exigences en azote**

Les micro-organismes peuvent puiser l’azote dans des molécules organiques (acides aminés, bases azotées) ou plus généralement dans des composés minéraux :

- les ions ammoniums, NH4+ ; - les ions nitrates, NO3- (grâce à nitrate réductase B dite assimilatrice) ;

- l’azote atmosphérique, N2 (grâce à la nitrogènase, présente chez Rhizobium et Azotobacter).

**Les exigence en soufre et en phosphore**

Les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine) peuvent fournir le soufre aux micro-organismes.

Dans de nombreux milieux de culture, le soufre est fourni sous forme d’ions sulfates (SO42-

), réduits en sulfites (SO32-) puis en sulfures (H2S). H2S est ensuite incorporé à la sérine pour former la cystéine. Le phosphore entre généralement dans la cellule sous la forme d’ions phosphates (PO43-).

**2.5. Diversité Écologique**

Les micro-organismes colonisent presque tous les environnements terrestres, marins, et même extrêmes, et sont capables de vivre dans des conditions que les autres formes de vie ne peuvent supporter :

* **Extrêmophiles** :
	+ **Thermophiles** : Capables de survivre à des températures très élevées (ex. : archées dans les sources chaudes).
	+ **Halophiles** : Se développent dans des milieux à haute concentration saline (ex. : archées dans les lacs salés).
	+ **Acidophiles/Alcalophiles** : Adaptés aux milieux extrêmement acides ou basiques.
* **Microorganismes marins** : Des bactéries et algues capables de vivre dans des profondeurs océaniques où la pression est élevée et la lumière absente.
* **Symbiotes et Pathogènes** :
	+ **Microbiote** : Les communautés microbiennes vivant en symbiose avec d'autres organismes (ex. : microbiote intestinal humain).
	+ **Microorganismes pathogènes** : Capables de provoquer des maladies chez les plantes, les animaux, et les humains (ex. : *Escherichia coli*, *Plasmodium falciparum*).

**2.6. Diversité Génétique**

La diversité génétique des micro-organismes est immense et reflète leur capacité d’adaptation et d’évolution rapide :

* **Génomes variables** : Certains micro-organismes ont des génomes très réduits, comme certains virus, tandis que d'autres, comme certaines bactéries, possèdent des génomes plus complexes.
* **Mutations et Évolution** : Les taux de mutation rapides et la capacité des micro-organismes à échanger du matériel génétique (conjugaison, transformation, transduction) contribuent à leur diversité et à leur capacité d’adaptation aux changements environnementaux.
* **Plasmides** : De nombreuses bactéries et archées portent des plasmides, petits éléments d'ADN circulaire qui codent pour des gènes conférant des avantages adaptatifs, comme la résistance aux antibiotiques.

**3. Conditions nécessaires à la culture des micro-organismes**

**3.1. Nutriments**

Les micro-organismes ont besoin de nutriments spécifiques pour se développer, qui varient selon leur type et leur métabolisme. Ces nutriments sont fournis dans des milieux de culture.

* **Sources de carbone** : Le carbone est la base de la structure organique. Les hétérotrophes utilisent des molécules organiques (glucose, peptone), tandis que les autotrophes utilisent le CO₂.
* **Sources d'azote** : L'azote est essentiel pour la synthèse des protéines et des acides nucléiques. Il peut provenir de sources organiques (acides aminés) ou inorganiques (sels d'ammonium, nitrates).
* **Minéraux** : Des éléments comme le phosphore, le soufre, le magnésium, le fer et le calcium sont nécessaires pour diverses fonctions cellulaires.
* **Facteurs de croissance** : Certaines bactéries nécessitent des vitamines ou des acides aminés spécifiques qu'elles ne peuvent synthétiser elles-mêmes.

**3.2. pH**

Le pH influence la croissance microbienne. Les bactéries neutrophiles croissent mieux à un pH proche de 7, tandis que les acidophiles et les alcalophiles se développent dans des environnements plus extrêmes.

**3.3. Température**

Chaque micro-organisme possède une plage de température optimale pour la croissance :

* **Psychrophiles** : Températures froides (0-20°C).
* **Mésophiles** : Températures modérées (20-45°C).
* **Thermophiles** : Températures élevées (>45°C).
* **Hyperthermophiles** : Températures extrêmes (>80°C).

**3.4. Oxygène**

La présence ou l'absence d'oxygène influence le type de culture possible :

* **Aérobies stricts** : Besoin d'oxygène pour la respiration.
* **Anaérobies stricts** : Ne tolèrent pas l'oxygène, utilisent des conditions réductrices.
* **Anaérobies facultatifs** : Peuvent croître avec ou sans oxygène.
* **Microaérophiles** : Nécessitent de faibles concentrations d'oxygène.
* **Anaérobies aérotolérants** : Ne requièrent pas d'oxygène mais le tolèrent.

**3.5. Humidité**

La teneur en eau est cruciale pour la diffusion des nutriments. La plupart des micro-organismes se développent dans des environnements humides.

**4. Types de milieux de culture**

Les milieux de culture sont utilisés pour fournir aux micro-organismes les nutriments essentiels à leur croissance. Il en existe plusieurs types, selon l’objectif de la culture.

**4.1. Milieux solides et liquides**

* **Milieux solides** : Utilisent l'agar (un polysaccharide extrait d'algues) pour solidifier les milieux. Ils sont utilisés pour l'isolement des colonies et l'identification des souches.
* **Milieux liquides** : Permettent une croissance en suspension, souvent utilisés pour la production en masse de cellules ou la fermentation.

**4.2. Milieux complexes et définis**

* **Milieux complexes** : Contiennent des ingrédients de composition variable, tels que l'extrait de levure, la peptone, ou des hydrolysats. Ces milieux sont souvent utilisés pour les bactéries fastidieuses ou lorsque les besoins précis du micro-organisme ne sont pas bien connus.
* **Milieux définis** : Contiennent des quantités précises de chaque nutriment. Ils sont utilisés pour des études métaboliques où le contrôle de chaque composant est nécessaire.

**4.3. Milieux sélectifs et différenciels**

* **Milieux sélectifs** : Contiennent des substances qui favorisent la croissance d'un groupe particulier de micro-organismes tout en inhibant les autres. Exemples : MacConkey agar pour les entérobactéries, qui inhibe les Gram-positives.
* **Milieux différentiels** : Permettent de distinguer les micro-organismes en fonction de leurs caractéristiques biochimiques. Ex. : gélose au sang (pour identifier les bactéries hémolytiques) ou gélose Mannitol Salt (pour distinguer *Staphylococcus aureus*).

**4.4. Milieux enrichis**

* Contiennent des nutriments supplémentaires (comme le sang ou des facteurs de croissance spécifiques) pour permettre la croissance de micro-organismes plus exigeants, comme les pathogènes difficiles à cultiver (ex. : gélose au sang pour *Haemophilus*).

**5. Techniques de culture des micro-organismes**

**5.1. Culture pure et isolation**

La première étape pour étudier un micro-organisme est souvent d'obtenir une culture pure. Cela signifie isoler une seule espèce microbienne à partir d'un mélange complexe.

* **Méthode d'épuisement en stries** : Permet d'obtenir des colonies isolées sur un milieu solide.
* **Dilution en milieu liquide** : Utilisée pour diminuer la densité cellulaire dans les milieux liquides afin d'isoler des cellules individuelles.

**5.2. Culture continue**

Des techniques de culture continue, comme les bioréacteurs, permettent de maintenir des populations microbiennes en croissance constante, utile pour les études sur le métabolisme ou la production de biomasse.

**6. Identification et caractérisation des micro-organismes cultivés**

Une fois les micro-organismes cultivés, il est nécessaire de les identifier à l'aide de divers tests.

**6.1. Caractères morphologiques**

* **Observation microscopique** : L’observation de la forme, taille et arrangement des cellules permet d’orienter l’identification. Par exemple, l’observation des spores, des flagelles, ou de la capsule.

**6.2. Caractères biochimiques**

* **Tests enzymatiques** : Identification basée sur la capacité à fermenter des sucres, produire des gaz, ou utiliser des substrats particuliers (ex. : tests API pour les bactéries).
* **Tests métaboliques** : Mesure de la capacité des micro-organismes à utiliser différents substrats ou à survivre dans diverses conditions (ex. : fermentation, respiration, réduction des nitrates).

**6.3. Techniques moléculaires**

Avec les avancées de la biotechnologie, des techniques moléculaires sont utilisées pour identifier les micro-organismes de manière plus précise :

* **PCR** (amplification en chaîne par polymérase) : Pour détecter et identifier des séquences spécifiques d'ADN.
* **Séquençage de l’ADN** : Identification basée sur l’analyse du génome entier ou de régions spécifiques comme l’ARNr 16S (pour les bactéries).

### 7. Choix et Utilisation des Microorganismes en Biotechnologie

#### 7.1. Sélection des Microorganismes dans la Nature

La sélection d'un microorganisme pour des applications biotechnologiques repose sur la grande diversité inter- et intra-espèces. Cette diversité s'explique par les nombreuses souches présentes au sein d'une même espèce, chacune pouvant posséder des caractéristiques génétiques et physiologiques uniques. Par exemple, Escherichia coli est une espèce bien connue, mais elle comporte une grande variété de souches. L'identification d'une espèce ne se limite donc pas à la séquence d'une seule souche, car au sein de cette même espèce, les souches partagent un ensemble de gènes communs, appelé « cœur du génome ». Toutefois, chaque souche peut aussi contenir un ensemble de gènes spécifiques appelé « génome accessoire », qui confère des traits particuliers à certaines souches et pas à d'autres.

Le génome accessoire contient souvent des fonctions spécifiques très utiles pour certaines applications, comme la production de métabolites particuliers ou la résistance à des conditions environnementales extrêmes. Par conséquent, lors du choix d'un microorganisme, il est important de tenir compte de la souche spécifique et de ses caractéristiques génomiques, car les traits de biotechnologie ciblés peuvent se retrouver dans le génome accessoire plutôt que dans le génome de base commun à toutes les souches.

#### 7.2. Amélioration et Adaptation des Microorganismes

Une fois un microorganisme sélectionné, il est souvent nécessaire de l'adapter à des conditions spécifiques pour maximiser son efficacité dans des environnements donnés. Cette amélioration peut se faire par deux méthodes principales :

* **Manipulation de la physiologie de la souche** : On peut ajuster les conditions de culture, comme la température, le pH ou la disponibilité des nutriments, pour moduler la physiologie du microorganisme et améliorer ses performances.
* **Évolution expérimentale** : Cette approche consiste à soumettre une souche à des conditions de stress contrôlées pour favoriser l'apparition de mutations adaptatives. Par exemple, pour rendre une souche résistante à un antibiotique, on peut l'exposer à des concentrations croissantes de cet antibiotique, favorisant ainsi les mutations qui permettent à la souche de mieux résister. L'évolution expérimentale précipite les mécanismes naturels de mutation et de sélection, permettant d'atteindre des résultats en quelques générations, là où l'évolution naturelle prendrait des années ou des siècles. Contrairement aux organismes multicellulaires comme l'homme, dont une génération prend plusieurs années, les microorganismes se reproduisent en quelques heures, facilitant l'accélération de ce processus évolutif.

Cette technique est différente de la création d'organismes génétiquement modifiés (OGM), car elle repose sur l'exploitation de mécanismes naturels de mutation et de sélection, sans insertion directe de gènes exogènes.

#### 7.3. Modification Génétique des Microorganismes

Pour optimiser encore davantage un microorganisme, les techniques de modification génétique peuvent être employées. Cette approche inclut l'ingénierie métabolique et la biologie synthétique :

* **Ingénierie métabolique (OGM)** : Elle consiste à modifier les voies métaboliques naturelles d'un microorganisme en introduisant ou en altérant des gènes spécifiques. Cela permet d'améliorer les performances du microorganisme dans des processus industriels, par exemple en augmentant la production d'un métabolite d'intérêt comme les biocarburants, les enzymes ou les médicaments.
* **Biologie synthétique** : Cette approche va plus loin que l'ingénierie métabolique traditionnelle. Elle permet de construire des voies de biosynthèse entières, souvent inexistantes dans la nature, en modifiant ou en combinant des éléments génétiques de différentes origines. Les enzymes sont souvent reprogrammées ou modifiées pour remplir des fonctions nouvelles ou améliorées, qui sont ensuite intégrées dans le génome du microorganisme.

La biologie synthétique ouvre des perspectives inédites en biotechnologie, avec des applications allant de la production de nouveaux matériaux à la synthèse de composés chimiques rares. Bien que les OGM soient strictement régulés et interdits dans certains domaines (comme la production alimentaire en France), leur usage dans l'industrie pharmaceutique et dans la recherche scientifique reste crucial pour les innovations biotechnologiques.

****