

CHAPITRE III:

DIVISION BACTERIENNE, DELAI de CROISSANCE et DELAI des RESULTATS

1. Introduction

Avant d'aborder l'étude de la biosynthèse des macromolécules et la génétique des micro-organismes, ce chapitre s'intéresse à différents aspects de la croissance bactérienne, processus de la vie d'une cellule aboutissant à la formation de deux cellules.

2. Croissance cellulaire

En microbiologie, la croissance est définie par un accroissement du nombre de cellule. La croissance constitue une étape essentielle de la vie. Les cellules ont une période de vie limitée et le maintien d'une espèce est lié à une croissance continue de sa population. L'étude de la croissance microbienne a des implications pratiques dans de nombreux domaines. Les connaissances de base sur le développement des populations microbiennes sont notamment utiles pour mettre en place des méthodes de contrôle de ces populations.

La cellule bactérienne constitue une machine vivante capable de se dupliquer. Le processus de la croissance bactérienne fait intervenir plus de deux milles réactions chimiques très variées. Les bactéries qui sont essentiellement unicellulaires, se reproduisent en générale par une **division** ou **fission binaire**, dite aussi **scissiparité**. Les bactéries peuvent en général, être aisément cultivées et se reproduire *in vitro* sur des milieux de culture de composition définies et différentes.

Les bactéries et les archaebactéries se divisent presque toutes par une reproduction asexuée : la fission binaire transversal où deux cellules filles, normalement identiques, résultent de la division autonome d'une cellule bactérienne mère. Cependant, il existe d'autres modes de division bactérienne, le **bourgeonnement** et la **fragmentation**, limités seulement à quelques groupes bactériens. La division bactérienne est donc une progression géométrique de raison 2, le nombre de cellule doublant à chaque division : $2^0 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow 2^n$ (Fig. 01).

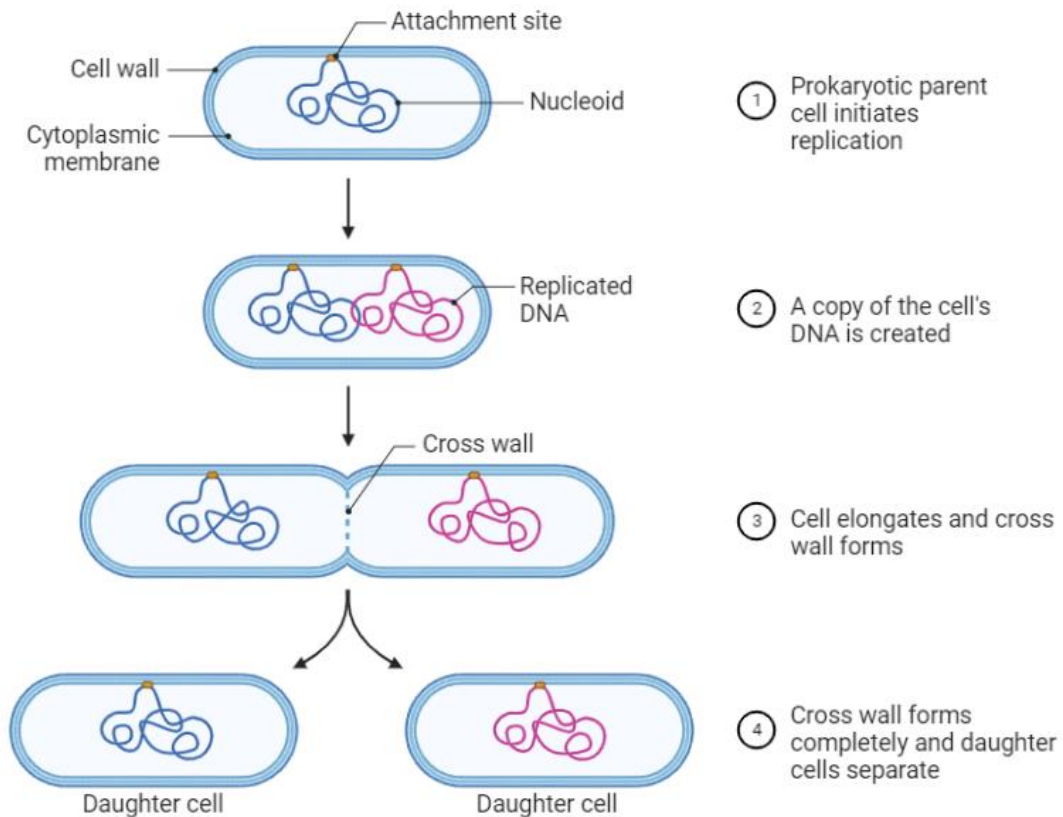


Figure 01: Processus général de fission binaire chez une cellule procaryote en forme de bâtonnet.

2.1. Fission binaire

Chez la plupart des procaryotes, la croissance d'une cellule se poursuit jusqu'à sa division en deux nouvelles cellules. Ce processus est appelé **fission binaire**, en référence au fait que deux cellules apparaissent à partir d'une cellule. Chez une bactérie en forme de bâtonnet telle qu'*Escherichia coli*, les cellules s'allongent jusqu'à atteindre deux fois leur longueur d'origine, puis se divisent pour finalement se séparer et former deux cellules filles (Fig. 01).

Le point de division, appelé *septum*, est le résultat de la croissance vers l'intérieur de la membrane cytoplasmique et de la paroi cellulaire, dans des sens opposés, jusqu'au pincement entre les deux cellules filles (Fig. 01 et 02). Par définition, lorsqu'une cellule se divise pour en former deux, une **génération** est survenue.

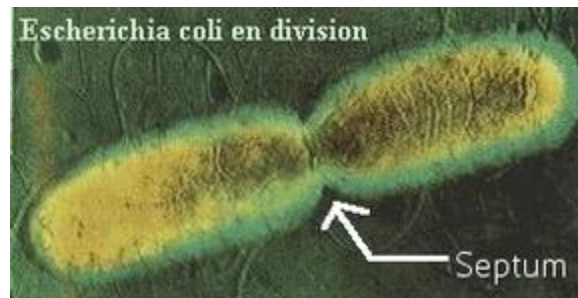


Figure 02: Division binaire d'*Escherichia coli* et formation du *septum*

Pendant le cycle de croissance, tous les constituants cellulaires augmentent de façon proportionnelle. Chaque cellule fille reçoit un chromosome et suffisamment de ribosomes et autres complexes macromoléculaires, monomères et ions inorganiques pour vivre de façon indépendante. La répartition de l'ADN répliqué entre les deux cellules filles est due au fait que cet ADN reste attaché aux membranes pendant la division. La formation du septum aboutit à la séparation des chromosomes, chacun dans une des deux cellules filles (Fig. 01).

Le temps nécessaire pour une génération est très variable et dépend de nombreux facteurs, tant nutritionnels que génétiques. Dans des conditions nutritionnelles optimales, la bactérie *E. coli* peut accomplir un cycle en une vingtaine de minutes. Quelques bactéries peuvent croître encore plus vite, mais la plupart sont plus lentes. Les phénomènes de division cellulaire sont intimement liés aux processus de réplication du chromosome.

2.2. Bourgeoisement

Le bourgeoisement ou formation de bourgeons est un processus de division moins courant chez les procaryotes. Comme la scission transversale binaire, il s'agit d'un processus de reproduction asexuée qui aboutit à la formation de deux cellules issues de la même cellule parentale. Le processus débute par la formation d'une petite protubérance ou bourgeon à la surface de la cellule. Cette protubérance s'agrandit au cours de la croissance cellulaire et, si elle atteint une taille critique, elle devient mature et se sépare de la cellule mère (Fig. 03 à dessiner).

La scission binaire et le bourgeoisement diffèrent par certains aspects. Tout au long du processus de division binaire, la symétrie de la cellule est respectée tant dans l'axe longitudinal que transversal (Fig. 01). Ainsi, en produisant deux cellules filles, la cellule mère perd sa propre identité. A l'inverse, le processus de bourgeoisement est asymétrique (Fig. 03). Dans ce cas, la

majorité des composants néo-synthétisés de la paroi sont destinés à la formation du bourgeon au lieu de se répartir de façon équitable entre les deux cellules. La cellule mère ne produit qu'une cellule fille et conserve son identité au fil des générations. On ignore actuellement si le nombre de bourgeons que peut produire une cellule mère au cours de son existence est limité.

2.3. Fragmentation

Un autre mode de division cellulaire a été adopté par le groupe des bactéries à forme **mycélienne coénocytiques**, les actinobactéries ou les streptomycètes. Ces organismes forment des filaments polynucléaires sans septums pour individualiser chaque cellule (nombreux chromosomes dans un même espace cytoplasmique). Quelques bactéries de ce type se divisent par ce processus de scission multiple. Par fragmentation, les actinobactéries développent des septums qui isolent les chromosomes permettant la formation simultanée de nombreux bâtonnets unicellulaires ayant chacun la capacité de former une structure filamenteuse coénocytique. De la même façon, certaines cyanobactéries produisent de nombreuses cellules filles de petite taille, les **baeocytes**, à partir d'une unique cellule mère.

En dépit de la diversité des stratégies reproductrices bactériennes, il y a quelques caractéristiques communes. Dans tous les cas, le génome de la cellule doit avoir été répliqué et ségrégué pour former des nucléoïdes distincts. A un certain moment de la reproduction, chaque nucléoïde et son cytoplasme environnant est enclos dans sa propre membrane cytoplasmique. Ce sont les processus principaux du cycle cellulaire

3. Temps de génération

Au cours du cycle de division cellulaire (Fig. 01), tous les composants structurels de la cellule se dupliquent. Si l'intervalle pour la formation de deux cellules à partir d'une est appelé **génération**. Le *temps nécessaire* à cet événement est appelé **temps de génération** (Fig. 01). C'est donc le temps indispensable pour que la population cellulaire double (la *masse* cellulaire double également pendant cette période). C'est pour cette raison que le temps de génération appelé *temps de doublement*.

Le temps de génération varie énormément entre micro-organismes. Dans la plupart des cas, les bactéries ont un temps de génération minimal plus court que les eucaryotes. Le temps de

génération d'un organisme donné dépend du milieu de culture et des conditions d'incubations appliquées. De plusieurs bactéries ont des temps de génération minimaux, en condition optimales de croissance, compris entre une et trois heures. Néanmoins, quelques micro-organismes à croissance rapide ont des temps de génération inférieurs à dix minutes alors que d'autres, à croissance lente, connaissent des temps de génération de plusieurs jours. Dans un milieu naturel, le temps de doublement des populations microbiennes sont sans doute beaucoup plus longs que ceux obtenus dans des cultures de laboratoire.

4. Mathématiques de la croissance

La connaissance des vitesses de croissance microbienne pendant la phase exponentielle est indispensable aux microbiologistes dans leur recherche fondamentale, physiologique et écologique, ou dans des problèmes appliqués en industrie. Les aspects quantitatifs de la croissance en phase exponentielle seront donc décrits.

Pendant la phase exponentielle, chaque micro-organisme se divise à intervalles de temps constants. Ainsi la population doublera en nombre après un intervalle de temps spécifique appelé **temps de génération** ou **temps de doublement**. Cette situation peut être illustrée par un exemple simple. Supposons qu'une culture en tube soit inoculée avec une cellule qui se divise toutes les 20 minutes (Tab. 01). La population sera constituée de 2 cellules après 20 minutes, 4 cellules après 40 minutes et ainsi de suite. Puisque la population double à chaque génération, l'augmentation de la population est toujours 2^n où n est le nombre de génération. Le développement de la population est *exponentiel* ou *logarithmique* (Fig. 04).

Tableau 01 : Exemple de croissance exponentielle

Temps ^a	Nombre de division	2^n	Population ($N_0 * 2^n$)	$\text{Log}_{10} N_t$
0	0	$2^0 = 1$	1	0.000
20	1	$2^1 = 2$	2	0.301
40	2	$2^2 = 4$	4	0.602
60	3	$2^3 = 8$	8	0.903
80	4	$2^4 = 16$	16	1.204
100	5	$2^5 = 32$	32	1.505
120	6	$2^6 = 64$	64	1.806

^a : culture commence par une cellule ayant un temps de génération de 20 minutes

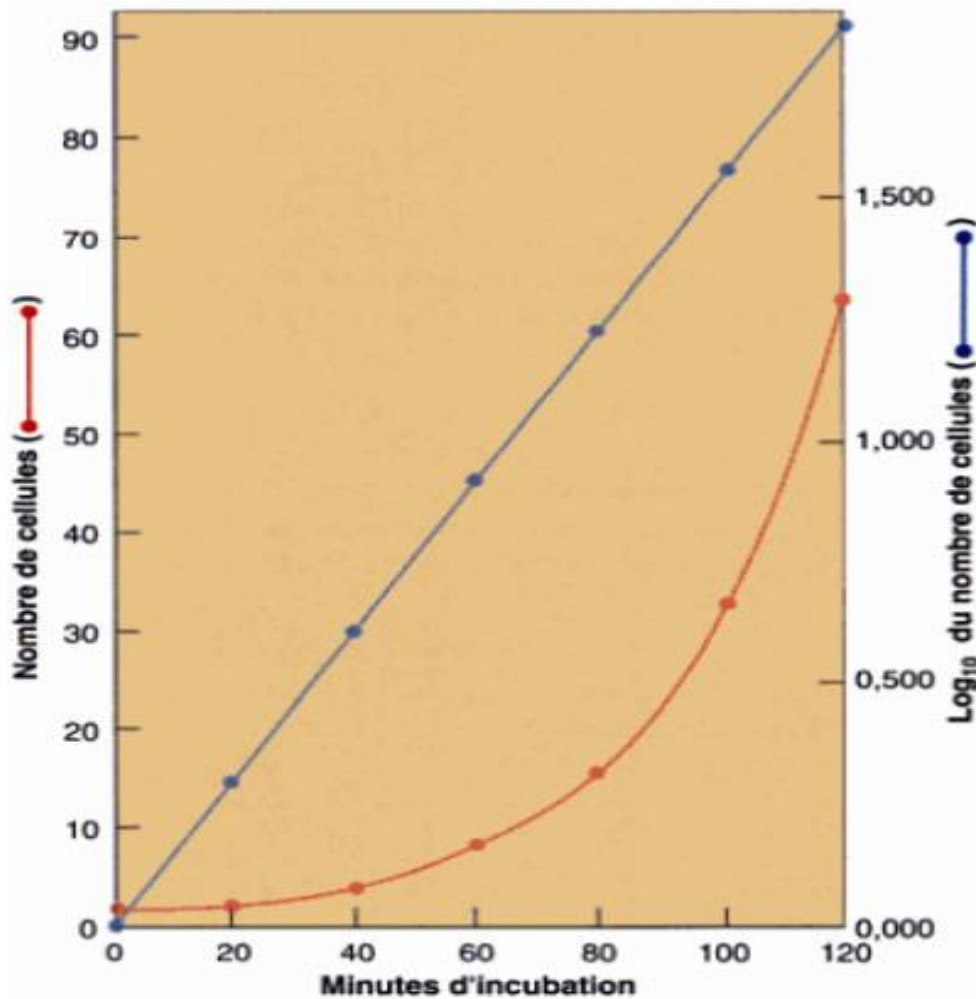


Figure 04 : Croissance microbienne exponentielle

(Les données du **tableau 01** pour une croissance de 6 générations sont directement portées sur le graphique (●-●) et sous forme logarithmique (●-●). La courbe de croissance est exponentielle comme le montre la linéarité du graphique semi-logarithmique).

Ces observations peuvent être exprimées sous forme d'équations pour le temps de génération.

Considérons : N_0 = le nombre initial de cellule de la population ;

N_t = la population au temps t ;

n = le nombre de génération dans le temps t .

Ensuite, l'analyse des résultats du tableau 01 montre que :

$$N_t = N_0 * 2^n$$

La valeur de n , le nombre de génération, peut être obtenue en prenant les logarithmes en base 10 des deux membres de l'équation :

$$\text{Log } N_t = \log N_0 + n * \log 2$$

Et :

$$n = \frac{\log N_t - \log N_0}{\log 2} = \frac{\log N_t - \log N_0}{0.301}$$

La vitesse de croissance d'une culture en batch peut être exprimée en termes de constante de vitesse de croissance moyenne (K ou ν), qui est le nombre de génération par unité de temps, souvent exprimé par heure.

$$K = \frac{n}{t} = \frac{\log N_t - \log N_0}{0.301 * t}$$

Le temps que prend une population pour doubler sa taille, c'est-à-dire le temps de génération moyen ou temps de doublement moyen (g), peut maintenant être calculé. Si la population double ($t = g$), alors :

$$N_t = 2 N_0$$

En substituant $2N_0$ dans l'équation de la vitesse de croissance moyenne, on peut déterminer K :

$$K = \frac{\log(2N_0) - \log N_0}{0.301 * g} = \frac{\log 2 + \log N_0 - \log N_0}{0.301 * g}$$

$$K = \frac{1}{g}$$

Le temps de génération moyen est l'inverse de la constante de vitesse de croissance moyenne :

$$g = \frac{1}{K}$$

Le temps moyen de génération peut être déterminé directement à partir du graphique semi-logarithmique des données de croissance (Fig. 05) et de la constante de vitesse de croissance calculée à partir de la valeur g . Le temps de génération peut aussi être calculé directement à partir des équations précédentes. Par exemple, supposons qu'une population bactérienne augmente de 10^3 cellules à 10^9 cellules en 10 heures.

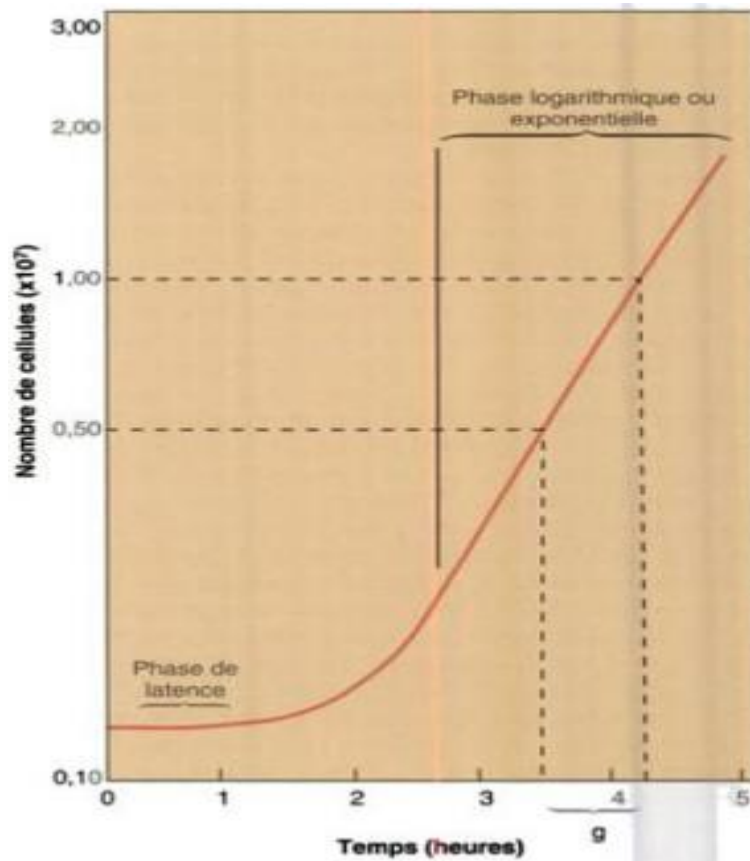


Figure 05 : Détermination du temps de génération

$$K = \frac{\log 109 - \log 103}{(0.301) \cdot (10 \text{ hr})} = \frac{9 - 3}{3.01 \text{ hr}} = 2.0 \text{ générations / hr}$$

$$g = \frac{1}{2.0 \text{ gen./hr}} = 0.5 \text{ hr / gen. ou } 30 \text{ min / gen.}$$

N.B. : $g = t / n = (t_n - t_0) / n$