

CHAPITRE II:

FACTEURS IPHYSICO-CHIMIQUES NFLUENCANT LA CROISSANCE BACTERIENNE

1. Introduction

Il est clair que les adaptations de certains micro-organismes à des environnements extrêmes et inhospitaliers sont vraiment remarquables. On pense en effet que les micro-organismes sont présents presque partout sur terre. Des bactéries comme *Bacillus infernus* peuvent vivre à plus de 2.4Km sous la surface du sol, sans oxygène et à des températures supérieures à 60°C. d'autres micro-organismes vivent dans les grands fonds océaniques ou dans les lacs, comme le Grand Lac Salé en Utah (USA), qui ont des concentrations en NaCl élevées. On dit que les micro-organismes, qui se développent dans des conditions aussi hostiles, sont des **extrêmophiles**. Pour ces organismes, les conditions hostiles de leurs habitats sont « normales ». De nombreux autres micro-organismes ne sont pas des extrêmophiles et vivent dans des conditions plus modérées. Qu'ils soient extrêmophiles ou non, tous les micro-organismes doivent répondre aux changements de leur environnement. Cependant, si les conditions excèdent leur aptitude à répondre, ils ne se développeront pas et peuvent finalement mourir. En conséquence, pour chaque paramètre environnemental, ils ont tous une gamme caractéristique dans laquelle il y a une croissance. La gamme est définie par des valeurs hautes et basses, au-delà desquelles le micro-organisme ne peut survivre. Dans la gamme, il y a une valeur optimale à laquelle la croissance est optimale.

Pour étudier la distribution écologique des micro-organismes, il est important de comprendre les stratégies employées pour survivre. Une compréhension des influences environnementales (facteurs physiques et chimiques) sur les micro-organismes et leurs activités est utile pour le contrôle de la croissance microbienne.

2. Facteurs physiques influençant la croissance bactérienne

2.1. Impact de la température sur la croissance

La température est l'un des paramètres de l'environnement les plus importants, si ce n'est le plus important, vis-à-vis de l'impact sur la croissance et la survie des micro-organismes. Si elle est trop basse ou trop élevée, les micro-organismes ne se développent pas. Néanmoins, selon les micro-organismes et leur habitat d'origine, ces températures minimales et maximales varient énormément.

2.1.1. Températures cardinales

La température influe sur les organismes vivants de deux manières. Lors d'une augmentation de la température les réactions chimiques et enzymatiques dans la cellule sont plus rapides et le taux de croissance augmente. Néanmoins, au-delà d'une température donnée, certaines protéines peuvent être dénaturées. Ainsi, lorsque la température s'accroît selon une certaine gamme de valeur, la croissance et les fonctions métaboliques augmentent, et ce jusqu'à un certain point où la dénaturation intervient et les fonctions cellulaires chutent brutalement.

Pour chaque organisme, il existe une température *minimale* au-dessous de laquelle il n'y a pas de croissance, une température *optimale* où la croissance est la plus rapide, et une température *maximale* au-dessus de laquelle la croissance n'est plus possible (Fig. 01). L'optimum de la température est toujours plus proche du maximum que du minimum. Ces trois températures, appelées **températures cardinales**, sont caractéristiques de chaque organisme et peuvent être légèrement modifiées en fonction d'autres paramètres de l'environnement, notamment la composition du milieu de culture.

La température maximale de croissance pour un organisme est la conséquence de la dénaturation d'une ou plusieurs protéines essentielles. Les facteurs contrôlant la température minimale de croissance sont moins bien définis. La membrane cytoplasmique doit être fluide pour fonctionner correctement. La température minimale de croissance d'un organisme peut être le résultat de raidissement de la membrane cytoplasmique, qui ne fonctionnera plus correctement pour assurer notamment le transport des nutriments ou la mise en place d'une force proton-motrice (peut être légèrement modifiée selon la composition en lipides membranaires). Lorsqu'un micro-

organisme est testé dans un milieu de culture complexe, la température maximale et minimale peut être changée.

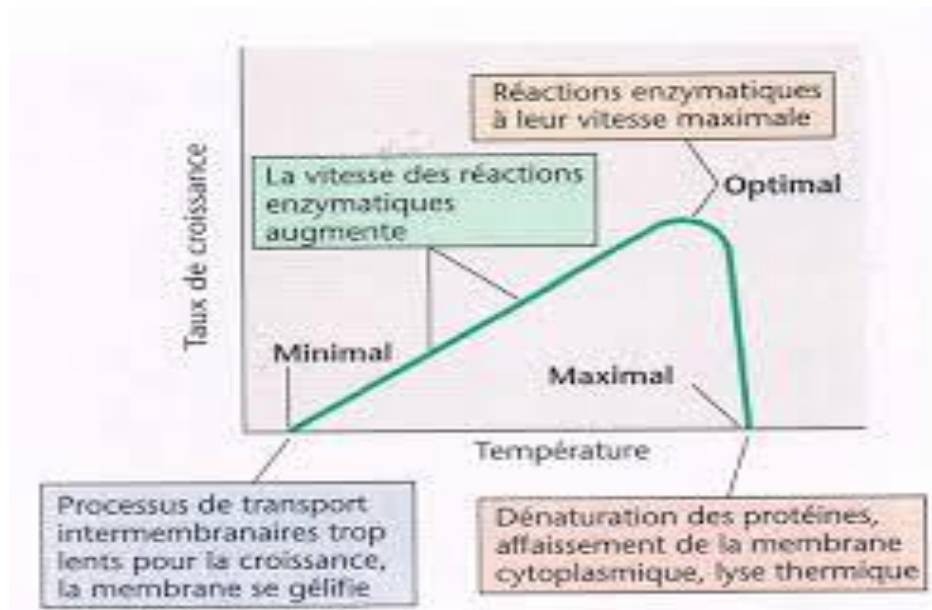


Figure 01: Effet de la température sur le taux de croissance en conséquence eu niveau moléculaire pour la cellule

2.1.2. Classement des organismes selon la température

Parmi l'ensemble des organismes, l'optimum de croissance balaie une gamme de température allant des plus basses aux plus élevées. Néanmoins, il est possible de distinguer quatre groupes de micro-organisme basés sur leur aptitude de croître à différentes température (Fig. 02 ; Tab. 01). Ces groupes sont les psychrophiles qui se développent à des températures inférieures à 20°C ; les mésophiles qui poussent généralement entre 20°C et 44°C ; les thermophiles modérés qui se développent entre 45°C et 70°C et les hyperthermophiles dont la croissance requiert une température comprise entre 70°C et 110°C.

▪ **Psychrophiles** : un psychrophile (de *psychro* qui signifie froid) est un organisme qui pousse à 0°C et dont la température optimale de croissance est inférieure à 15°C. Un psychrophile obligatoire ne peut se développer à une température supérieure à 20°C. ces organismes sont présents dans l'eau de mer dont la température moyenne est de 5°C et sont particulièrement

abondants dans les glaces et les eaux polaires. L'unique exigence pour leur survie est la présence d'eau à l'état liquide, ce qui est le cas dans les micro-environnements des mers gelées.

Les psychrophiles facultatifs sont parfois présents dans le sol et l'eau de zones tempérées. Ces organismes poussent très lentement à 0°C alors que leur croissance est plus rapide à 22°C. on les retrouve fréquemment dans ou à la surface d'aliments qui ont été réfrigérés pendant de longues périodes (psychrotrophe). Des champignons tolérants au froid sont également responsables de la détérioration des aliments réfrigérés les meilleurs modes de conservation des aliments sur une longue période sont le séchage et la congélation car ces procédés éliminent l'eau liquide.

Tableau 01: Température de croissance de *Bacteria* et *Archaea*

Espèces	Gamme (°C)
Psychrophiles : <i>Cytophaga psychrophila</i> <i>Bacillus insolitus</i> <i>Aquaspirillum psychrophilum</i>	4-20 <0-25 2-26
Mésophiles : <i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	10-40 18-42 22-40 4-40
Thermophiles : <i>Bacillus thermoleovorans</i> <i>Thermoleophilum album</i> <i>Thermus aquaticus</i> <i>Chloroflexus aurantiacus</i>	42-75 45-70 40-79 45-70
Hyperthermophiles (Archaea): <i>Hyperthermus butylicus</i> <i>Methanothermus fervidus</i> <i>Pyrodictium occultum</i> <i>Thermococcus celer</i>	85-108 65-97 80-110 70-95

▪ **Mésophile :** les mésophiles regroupent une grande diversité de micro-organismes ubiquitaires du sol et de l'eau et qui se multiplient dans l'entourage des animaux et des plantes. Ils se développent généralement entre 20°C et 45°C, bien que certains parviennent à se multiplier aux environs de 10°C. Les mésophiles sont les principaux responsables des grands cycles de la matière, mais aussi des maladies, des processus de fermentation et de dégradation des matériaux ainsi que d'autres activités importantes pour l'homme. C'est pourquoi ils sont l'objet de nombreux travaux de recherche. Les micro-organismes pathogènes pour l'homme comme *Streptococcus pneumoniae*

ont une température optimale de croissance de 37°C qui est la température du corps humain. En générale, les micro-organismes du sol se développent bien entre 26°C et 30°C.

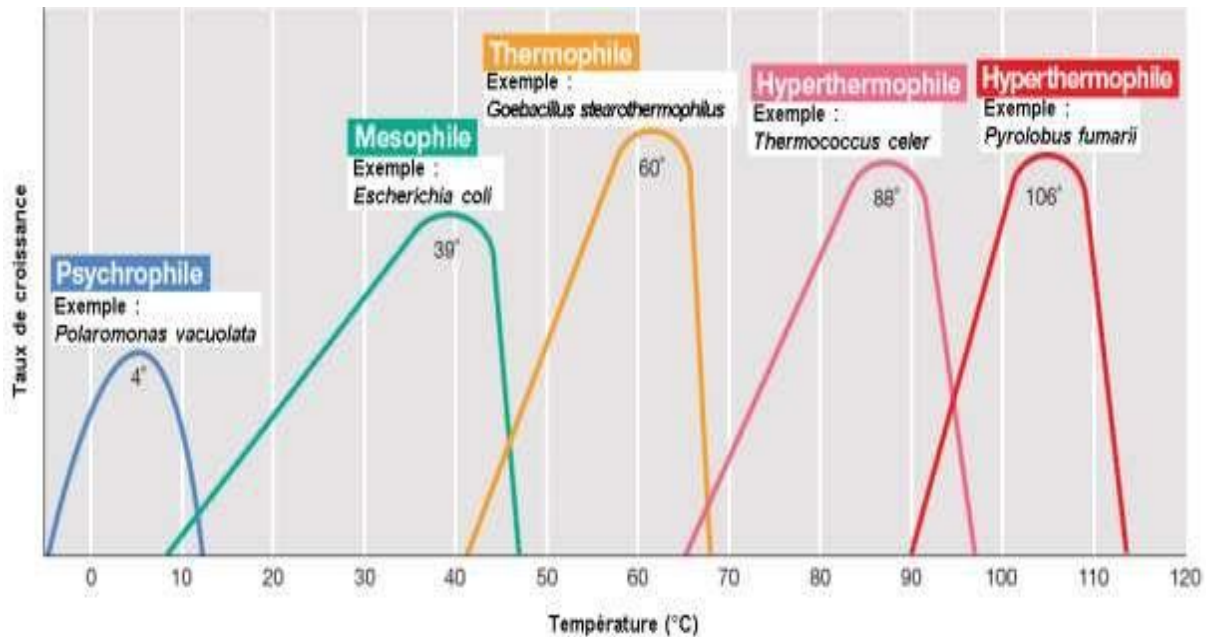


Figure 02: Groupes bactériens basés leur température de croissance

▪ **Thermophiles** : les thermophiles sont des organismes qui se développent de façon optimale entre 45°C et 70°C. Ces températures sont fréquentes dans les sources chaudes, les zones volcaniques et les amas de compost. Un sol exposé au soleil peut atteindre une température compatible avec la croissance des organismes thermophiles modérés ce qui explique que ces derniers soient retrouvés dans pratiquement tous les environnements.

▪ **Hyper-thermophiles** : les micro-organismes hyper-thermophiles se développent à des températures supérieures à 70°C et beaucoup d'entre eux parviennent à croître à une température proche du point d'ébullition de l'eau. Les hyperthermophiles se subdivisent en deux groupes en fonction de leurs températures cardinales de croissance ; d'une part ceux qui poussent entre 70 et 90°C et d'autre part ceux qui se développent entre 80 et 110°C.

Plusieurs genres d'*Archaea* qui poussent à 100°C ont été isolés en culture. Toutes les *Archaea* ne sont pas hyperthermophiles mais tous les micro-organismes connus à ce jour qui se développent à plus de 90°C sont des *Archaea*. Les éléments actuels permettent de penser que les

molécules biologiques (ATP, protéines) des bactéries conservent leurs propriétés entre 120°C et 130°C.

2.1.3. Limitations liées à la température

Les protéines sont les principaux constituants cellulaires qui déterminent la capacité d'un micro-organisme à pousser à hautes températures. Les thermophiles doivent disposer de protéines *thermostables* alors que les protéines des mésophiles sont *thermolabiles* (détruites par la chaleur). En général, les protéines cytoplasmiques des mésophiles commencent à précipiter lorsqu'elles sont chauffées pendant 8 à 10min à 60°C. La protéine équivalente d'un thermophile supportera cette température.

La température de croissance peut aussi influencer la composition en acides gras des membranes des cellules bactériennes. Ceci est démontré par la comparaison de la composition en acides gras des membranes cytoplasmiques d'un organisme cultivé à température minimale avec celle du même organisme cultivé à température maximale. A la température minimale, la proportion d'acide gras insaturés contenue dans les lipides cellulaires est élevée. La croissance à température maximale conduit à un pourcentage relatif plus élevé d'acides gras saturés. Le degré de saturation des acides gras dans la membrane cytoplasmique détermine la fluidité de la membrane à une température donnée. La fonctionnalité de la membrane cytoplasmique dépendant directement de sa fluidité, il n'est pas surprenant que la composition de la membrane soit influencée par la température de croissance.

2.2. Impact du pH sur la croissance bactérienne

L'acidité ou l'alcalinité d'une solution est exprimée par son pH, *neutre* s'il est égal à 7 (Fig. 03). Des valeurs de pH inférieures à 7 caractérisent des milieux *acides* et des valeurs supérieures, des milieux *alcalins* (ou basiques).

2.2.1. pH et croissance bactérienne

Chaque organisme présente une gamme de pH où la croissance est possible et un optimum bien défini. La gamme de pH s'étend le plus souvent sur deux ou trois unités pH. La plupart des habitats naturels ont des pH compris entre 5 et 9 et de très nombreux organismes ont des optima compris dans cette gamme. Au contraire, les organismes qui peuvent se développer à des pH

inférieurs à 2 ou supérieurs à 9 sont plus rares. Les organismes dont la croissance est meilleure pour des pH bas sont appelés **acidophiles**. De nombreuses bactéries sont acidophiles, voire acidophiles *obligatoires*, incapables de se développer à des pH neutres. Parmi ces bactéries, se trouvent des représentants du genre *Acidithiobacillus* ainsi que des *Archaea* des genres *Sulfolobus*, *Thermoplasma* et *Ferroplasma*.

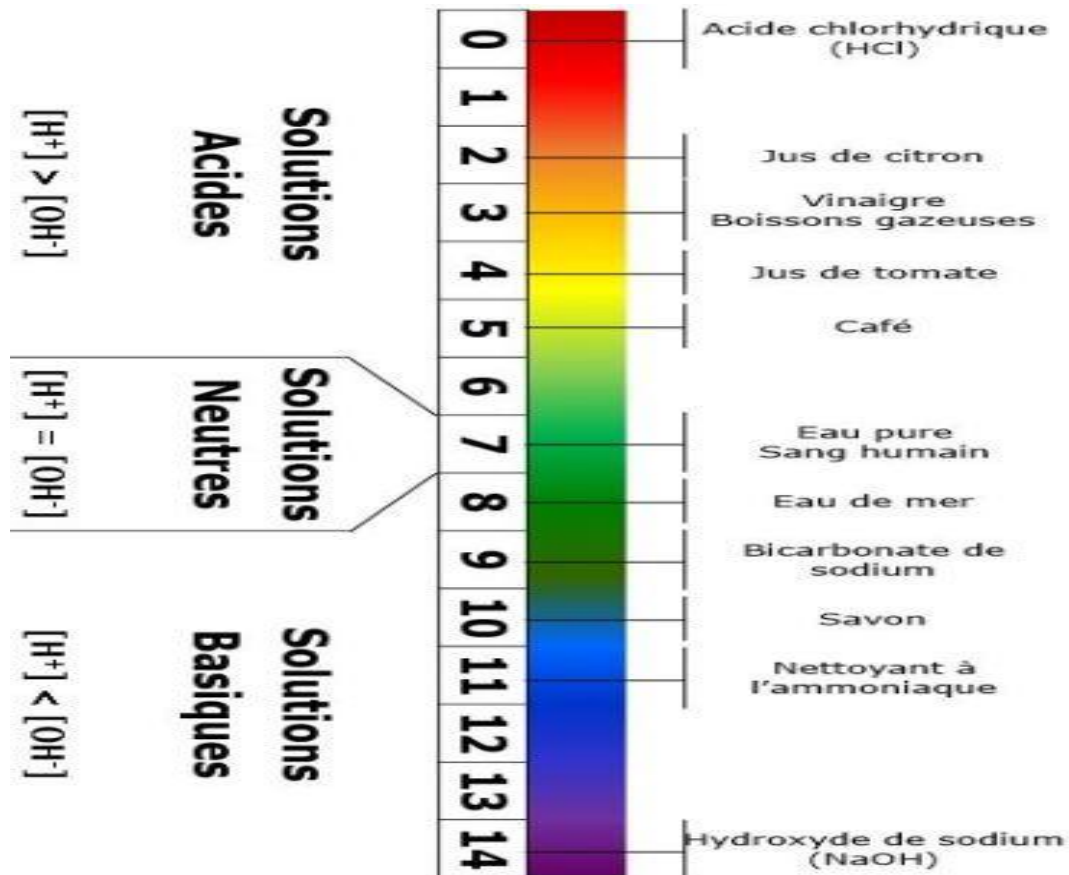


Figure 03 : Echelle de pH

L'un des facteurs clés de l'acidophilie concerne la stabilité des membranes cytoplasmiques. Lorsque le pH augmente et atteint la neutralité, les membranes cytoplasmiques des acidophiles se détruisent et il y a une lyse cellulaire. Ceci indique qu'une concentration importante des ions H^+ est nécessaire pour le maintien de la stabilité des membranes. Le plus acidophile des procaryotes connus, *Picrophilus oshimae*, qui colonise des sols chauds acides liés à l'activité volcanique, a un pH optimal de 0.7 et ses cellules lysent à des pH supérieurs à 4.

Quelques extrémophiles ont un optimum de pH très élevé, proche de pH 10, et sont appelés **alcaliphiles**. Ces organismes colonisent des lacs hyperalcalins sodiques ou des sols riches en carbonate. Les plus étudiés et les plus connus parmi ces organismes sont des espèces de *Bacillus* telle que *B. firmus*. Cet organisme est un alcaliphile, mais il se développe sur une large gamme de pH allant de pH 7.5 à 11. Certains alcaliphiles extrêmes sont largement des halophiles et la plupart sont des *Archaea*.

2.2.2. pH interne de la cellule

L'optimum de pH pour la croissance représente le pH externe à la cellule. Le pH interne doit rester relativement proche de la neutralité pour éviter la destruction des macromolécules acido- ou alcali-sensibles. Pour la majorité des micro-organismes dont le pH optimal est compris entre 6 et 8 (les neutrophiles), le pH cytoplasmique reste proche de la neutralité (Fig. 03). En ce qui concerne les acidophiles et les alcaliphiles, ce pH interne peut varier. Ainsi, chez *Picrophilus oshimae*, le pH interne a été mesuré à 4.5 et, chez certains alcaliphiles extrêmes, il peut atteindre 9.5. Si ces valeurs ne constituent peut-être pas les limites inférieures et supérieures du pH cytoplasmique, elles sont probablement proches de ces limites au-delà desquelles la stabilité des macromolécules serait compromise.

2.3. Influence de la pression osmotique sur la croissance

L'eau est le solvant de la vie. Tous les organismes ont besoin d'eau, et la disponibilité de cette eau est l'un des paramètres importants qui influe sur la croissance des micro-organismes dans l'environnement. La disponibilité de l'eau ne dépend pas uniquement de sa présence dans l'environnement (pourcentage d'eau dans un habitat donné), mais également de la concentration en soluté, tels que sels, sucres ou tout autre composé dissous dans cette eau. Les substances dissoutes ont une affinité pour l'eau, ce qui rend l'eau associée à ces composés non accessibles pour les organismes.

2.3.1. Activité de l'eau et l'osmose

La disponibilité de l'eau s'exprime selon une variable physique qui est l'activité de l'eau, notée a_w , est qui correspond au rapport entre la tension de vapeur de l'air en équilibre avec une

substance ou une solution et la tension de vapeur de l'eau pure. Les valeurs d' a_w varient entre 0 et 1. L'activité de l'eau d'un sol agricole varie généralement entre 0.9 et 1.

L'eau diffuse depuis les zones à forte concentration en eau (faible concentration en éléments dissous) vers les zones à faible concentration en eau (forte concentration en éléments dissous) ; c'est le processus appelé **osmose**. Dans la plupart des cas, le cytoplasme est plus concentré en élément dissous que le milieu environnant. L'eau a donc tendance à diffuser vers l'intérieur de la cellule qui présente *une balance positive pour l'eau*. Néanmoins, lorsqu'une cellule se trouve dans un milieu où l'activité de l'eau est faible, l'eau diffuse de la cellule vers le milieu. Ceci pose problème si aucun système n'est mis en place pour empêcher ce phénomène.

2.3.2. Organismes halophiles

Dans l'environnement, l'impact de l'osmose est important, notamment dans les habitats où la concentration en sels est forte. L'eau de mer contient à peu près 3% de NaCl ainsi que des quantités plus faibles de nombreux autres minéraux ou autres éléments dissous. Les micro-organismes colonisant les milieux marins nécessitent le plus souvent de l'ion sodium pour leur développement et ont une croissance optimale pour des valeurs d'activité de l'eau proche de celle de l'eau de mer. Ces organismes sont appelés **halophiles**.

La plupart des micro-organismes sont incapables de faire face à des environnement où l'activité de l'eau est très faible et, dans ces conditions, soit meurent, soit se déshydratent et sont réduits à un état de dormance. Les organismes **halotolérants** peuvent résister à une réduction de l'activité de l'eau dans leur environnement, mais leur croissance est meilleure dans le cas où la concentration en soluté est plus faible. Il existe par contre des organismes qui se développent à des valeurs d' a_w très faibles. Ces organismes sont intéressants non seulement pour l'étude des processus d'adaptation à ces conditions de vie, mais aussi d'un point de vue pratique étant donné que l'addition de soluté tel que le saccharose ou le sel est un procédé couramment utilisé pour la préservation de la nourriture du développement microbien.

Les organismes capables de se développer dans des conditions très salées sont des **halophiles extrêmes**. Ces organismes nécessitent la présence de 15 à 30% de NaCl, selon l'espèce, pour leur croissance. Les organismes susceptibles de vivre dans les environnements riches en sucre sont

appelés **osmophiles**, alors que ceux en mesure de se développer dans des habitats très secs (à cause du manque d'eau) sont appelés **xérophiles**.

2.3.3. Composés osmocompatibles OU solutés compatibles

Un organisme vivant dans un milieu où l'activité de l'eau est faible doit augmenter la concentration *interne* en composés dissous pour pouvoir obtenir de l'eau. Cette augmentation de la concentration interne en soluté peut se réaliser soit en pompant des ions inorganiques de l'environnement vers la cellule, soit en synthétisant ou en concentrant des solutés organiques (Tab. 02).

Les solutés utilisés pour ajuster l'activité de l'eau dans le cytoplasme ne doivent pas être des inhibiteurs des processus biochimiques. Ces solutés sont appelés **composés osmocompatibles (solutés compatibles** ou encore **osmorégulateurs**). Il en existe plusieurs chez les micro-organismes (Tab. 02). Ces composés sont des sucres, des alcools ou des acides aminés, ainsi que leurs dérivés, et sont tous très solubles dans l'eau. Dans le cas d'*Archaea* halophiles extrêmes et de certaines bactéries, le soluté est le K⁺ (sous la forme de KCl).

Tableau 02: Composés osmocompatibles chez les micro-organismes

Organismes	Composés majoritaire	<i>a_w</i> minimum pour la croissance
<i>Bacteria</i> , non phototrophe	Glycine-bétaine, proline (Gram positif), glutamate (Gram négatif)	0.97-0.90
Cyanobactérie d'eau douce	Saccharose, tréhalose	0.98
Cyanobactéries marines	α-glucosylglycérol	0.92
Algues marines	Mannitol, glycosides, proline, diméthylsulfoniopropionate	0.92
Cyanobactéries de milieux hypersalés	Glycine-bétaine	0.90-0.75
Bactéries phototrophes anoxygéniques halophiles (<i>Ectothiorhodospira</i> / <i>Halorhodospira</i> , <i>Rhodovibrio</i>)	Glycine-bétaine, ectoine, tréhalose	0.90-0.75
<i>Archaea</i> halophiles extrêmes (par exemple : <i>Halobacterium</i>) ainsi que quelques <i>Bacteria</i> (par exemple : <i>Haloanaerobium</i>)	KCl	0.75
<i>Dunaliella</i> (algue verte halophile)	Glycérol	0.75
Levures xérophiles	Glycérol	0.83-0.62
Champignons filamenteux xérophiles	Glycérol	0.72-0.61

Les composés osmocompatibles sont soit synthétisés par l'organismes, soit accumulés depuis l'environnement (c'est le cas de KCl et de la glycine-bétaïne). La concentration de ces composés dans la cellule varie selon les conditions de l'environnement mais, pour chaque organisme, il existe une concentration maximale de composés produits ou accumulé dont le déterminisme est génétique. C'est pourquoi les organismes n'ont pas le même niveau de résistance à l'encontre de l'activité de l'eau (Tab. 02). La détermination d'organismes non-halotolérants, halotolérants, halophiles ou halophiles extrêmes dépend surtout de leur capacité « génétique » à produire ou accumuler des composés osmocompatibles.

Les coques Gram positif appartenant au genre *Staphylococcus* sont connus pour être des halotolérants (une des méthodes d'isolement consiste à utiliser un milieu de culture contenant 7.5% de NaCl) et utilisent la *proline* (acide aminé) comme composé osmocompatible. La glycine-bétaïne est un dérivé de la glycine, où les atomes d'hydrogène du groupement amine sont remplacés par des groupements méthyle. L'atome d'azote est ainsi chargé positivement, ce qui le rend plus soluble. La glycine-bétaïne est un composé osmocompatible usuel, notamment chez les *Bacteria* halophiles et les cyanobactéries (Tab. 02).

Certaines bactéries halophiles extrêmes produisent de l'*éctoïne*, dérivé cyclique de l'acide aspartique. De nombreux glycosides, ainsi que le diméthyl-sulfoniopropionate sont produits par des algues marines. Ils s'accumulent le plus souvent à de faible concentration étant donné que ces cellules sont faiblement halophiles. Les levures xérophiles et les algues vertes halophiles produisent le plus souvent du glycérol.