

Faculté des Sciences

Département de Microbiologie et Biochimie

COURS MASTER 1 : Microbiologie Appliquée

Chargé du cours : Bensemane L.

Module: Microbiologie infectieuse et santé (MIS) S2

Introduction

Les microorganismes jouissent d'une très large répartition ; grâce à leur diversité et leurs capacités d'adaptation ils peuvent coloniser l'ensemble de la biosphère. Ceci leur permet de s'intégrer dans tous les biotopes dont ils subissent ou modifient les paramètres. Les environnements peuvent être décrits à partir des conditions physiques, physicochimiques ou chimiques qui y règnent.

Toutes les structures sont colonisées, qu'elles soient liquides (lait, eau, sang, boissons...), solides ou semi-solides (viande, fromage, peau, vêtements...) ou gazeuses (air, atmosphère modifiée...). Les microorganismes présents peuvent se présenter sous différentes formes : actifs, en dormance mais viables et cultivables, ou encore sous forme sporulée, ou viables mais non cultivables. Les biotopes liquides et gazeux permettent aussi la dispersion des populations.

Les paramètres qui permettent de décrire le biotope d'un écosystème microbien sont les suivants :

- La composition chimique du milieu qui comprend les facteurs nutritionnels et de croissance ainsi que les composés inhibiteurs ;
- Les paramètres physicochimiques : pH, activité de l'eau, T°, pression, potentiel d'oxydo-réduction ;
- Les paramètres du microenvironnement : forces électrostatiques, forces ioniques,...

A l'échelle des microorganismes, ces paramètres subissent fréquemment des variations rapides et importantes auxquelles les cellules microbiennes n'ont pas forcément le temps et la capacité à s'adapter. Elles sont en effet hypersensibles sous forme isolée (ou planctonique). Cependant, la majorité des cellules (90 à 95%) sont fixées à l'intérieur de biofilms dans lesquels elles trouvent la protection nécessaire aux variations du milieu.

Répartition des microorganismes

Si l'on considère les microorganismes non fixés viables et cultivables, ce qui représente en fait une très faible portion de la population microbienne globale, on obtient les chiffres du tableau 1. Il est difficile de rendre compte du niveau des populations microbiennes dans les différents milieux à cause de leur variabilité et la diversité des espèces présentes. Les principaux réservoirs de bactéries sont :

- Le sous-sol : $3,9 \cdot 10^{30}$ cellules
- Le sol : $0,25 \cdot 10^{30}$ cellules
- Les océans : $0,12 \cdot 10^{30}$ cellules

Ces chiffres ne sont évidemment que des estimations mais ils montrent l'importance de la biomasse microbienne qui atteint celle de la biomasse végétale. Tous ces microorganismes ne peuvent être cultivés par des techniques classiques, et ce n'est que récemment qu'ils ont pu être mis en évidence grâce à des analyses globales de génomes en TGGE ou DGGE (électrophorèse sur gel en gradient de dénaturation ou en gradient de température). On considère actuellement que seulement un faible pourcentage (1 à 5%) des microorganismes présents dans l'environnement peut être cultivé. Toutefois dans les aliments, la grande majorité des germes présents peut être détectée grâce aux techniques classiques.

Tableau 1. Niveau de contamination de différents milieux

Milieu	Niveau de population microbienne	Exemple de microorganismes
Sol	$10^{10}/g$	Très divers, c'est la source première de contamination
Eau	De consommation : 10^3 à $10^4/ml$	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Bacillus</i> , entérobactéries
Air	Confiné : 10^2 - non confiné : 0 à $10^2/m^3$	Coques Gram+, spores, champignons
Animaux	Intestins : 10^{11} , Peau : 10^2 à $10^8/cm^2$	Germes fécaux, Coques Gram+ et divers
Plantes et aliments	Très variable	Champignons, bactéries lactiques et divers
Homme	Comme les animaux	Coliformes, staphylocoques, microcoques ; <i>Bacillus</i> et divers
Matériel	Variable : 0 à $10^8/cm^2$	Germes résistants au nettoyage et à la désinfection: sporulés et divers
Emballages	Assez pauvres : 0 à $10^2/m^2$	Champignons, spores bactériennes
Matières premières	variable	Très divers

Interactions interspécifiques

Les micro-organismes peuvent être associés à d'autres organismes de multiples façons :

- S'installe à la surface d'un autre : ectosymbiote.
- Lorsqu'ils sont dissemblables mais de taille similaire on parle de consortium
- S'installe à l'intérieur d'un autre : endosymbiote.

Il y a aussi de nombreux cas où les micro-organismes vivent à la fois à l'intérieur et à l'extérieur d'un autre organisme : ecto/endosymbiote (Prescott et al., 1995).

Chaque organisme est adapté à un habitat particulier. Il n'est pas étonnant que plusieurs espèces puissent vivre dans un même habitat ou dans une niche spécifique. Les interactions qui se produisent entre représentants de deux espèces différentes peuvent être neutres, négatives ou positives (fig.1).

a) Le neutralisme correspond à une situation où deux espèces occupent le même habitat, mais pas la même niche.

b) La compétition est une interaction négative là où deux (ou plusieurs) espèces occupent le même habitat et ont besoin, par exemple, de la même nourriture. Souvent l'espèce qui est la plus affectée par cette compétition est éliminée, tandis que l'espèce qui survit prospère.

c) L'amensalisme (du latin « pas à la même table ») est une interaction négative entre une espèce affectée et une espèce inhibitrice, l'espèce affectée étant soumise à une influence défavorable, tandis que l'espèce inhibitrice n'est affectée d'aucune façon. Exemple : les streptocoques sont des espèces amensales, tandis que la moisissure *Penicillium* est une espèce inhibitrice. Quand ils sont combinés, la pénicilline, l'antibiotique produit par *Penicillium*, détruit les streptocoques sans affecter ce dernier.

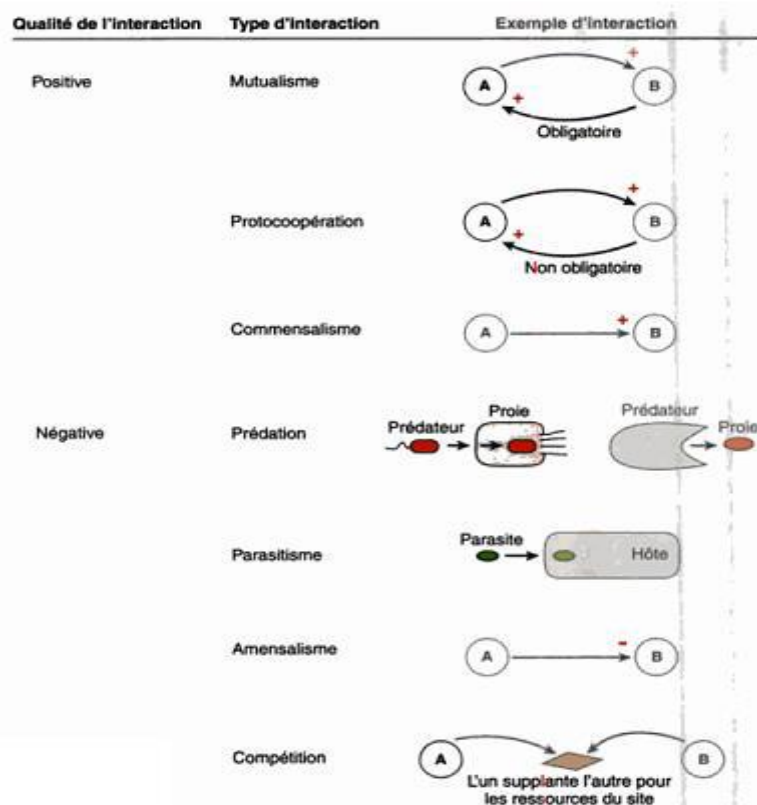


Figure 1 : Interactions Microbiennes (Prescott et al., 1995)

d) Le parasitisme et la prédation sont les formes extrêmes d'interaction négatives. Dans le cas du parasitisme, une espèce est l'hôte et une autre espèce le parasite: celui-ci profite de son hôte, vivant sur lui ou dans lui, sans le détruire. C'est le cas de certains virus bactériens (bactériophages) qui établissent une relation de lysogénie,

procurant à la bactérie des caractères nouveaux ; exemple : la production de toxines chez *Corynebacterium diphtherae*. Ou encore le cas de certains mycètes impliqués dans le biocontrôle ; exemple : *Rhizoctonia solani* qui parasite *Mucor*.

e) Dans le cas de la prédation, une espèce vit de proies -le prédateur - tandis qu'une autre espèce est la proie. En interaction, le parasite gagne à cette relation, tandis que l'hôte en souffre. De même, le prédateur profite de cette relation, tandis que la population de proie en est affectée dans son existence même.

f) La proto-coopération est une relation positive dans laquelle les deux partenaires profitent de leur association, sans qu'elle soit obligatoire pour aucun d'eux.

g) Le commensalisme est une relation positive où l'hôte n'est affecté de façon ni positive, ni négative, mais où l'espèce commensale (celle "qui mange à la même table") dépend de l'hôte pour sa survie. Exemple : plusieurs espèces d'anémones sont commensales des crabes; quand ces derniers se nourrissent, des particules de nourriture sont disponibles pour les anémones, ce qui n'est pas le cas en l'absence de cette relation.

h) Le mutualisme (ou la symbiose) du latin *mutuus* (réciproque), est une relation positive qui est obligatoire pour les deux partenaires, aucun d'eux ne pouvant survivre en son absence. Exemple : les termites et certaines espèces de protozoaires flagellés qui se trouvent dans le tractus intestinal des termites.

i) Le Syntrophisme (du grec "se nourrir mutuellement") ou cross feeding : association de deux microorganismes, qui coopèrent pour une activité métabolique globale bien précise sans que leur dépendance mutuelle ne puisse être remplacée par une simple addition de substrat ou de nutriment. C'est un cas particulier du symbiotisme. Exemple : le rumen. Le rumen contient une population microbienne importante et diversifiée (1012 organismes /ml), où l'on trouve des procaryotes des mycètes et protozoaires anaérobies cellulotiques.

Chap.I : Les populations microbiennes : localisation, diversité, activité.**Les populations microbiennes**

Il existe quatre milieux principaux d'environnement : le milieu terrestre, celui des eaux douces, le milieu marin et le tube digestif. Chacun de ces quatre milieux à ses propres flore et faune parce que les organismes sont adaptés à leur environnement.

Les producteurs photosynthétiques, parmi lesquelles il y a de grandes plantes enracinées ou flottantes et des plantes minuscules. Mais aussi des bactéries. Ces producteurs forment le premier maillon de la chaîne trophique.

Les consommateurs primaires sont les animaux herbivores, soit les organismes zooplanctoniques ou terrestres. Ils forment le second maillon trophique. Les consommateurs secondaires sont les animaux carnivores qui se nourrissent de consommateurs primaires. Exemple les poissons, qui forment le troisième niveau trophique.

Les micro-organismes décomposeurs sont les bactéries et les microchampignons, formant le dernier maillon trophique, distribués dans toute la masse d'eau et particulièrement à l'interface boue-eau où les organismes végétaux et animaux s'accumulent, ainsi que dans la zone de photosynthèse.

Les microorganismes sont un groupe diversifié d'organismes se résumant en 3 domaines («Tree of life») : Prokaryotes (eubactéries), eucaryotes, archaebactéries (fig.2). Qui sont d'une grande diversité métabolique : les bactéries en particulier, peuvent utiliser pratiquement n'importe quel substrat comme source d'énergie et de carbone.

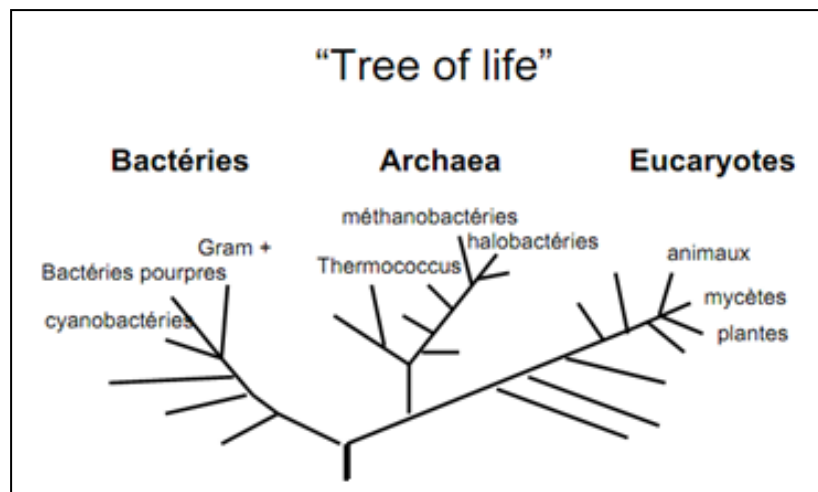


Figure 2 : Les 3 domaines du vivant.

1.1. Localisation, diversité, activité.

Les micro-organismes sont les agents invisibles de fonctions essentielles qu'ils sont seuls à pouvoir assurer. Ces fonctions sont tellement essentielles que sans leur cortège microbien, les êtres vivants supérieurs, animaux et plantes, ne pourraient pas vivre et se nourrir. C'est ainsi que la respiration de nos cellules et la photosynthèse des plantes sont assurées par des structures intracellulaires (mitochondries et chloroplastes) dont on s'accorde à penser qu'il s'agit d'anciennes bactéries symbiotiques. La plupart des insectes vivent en symbiose avec des champignons et des bactéries. Pratiquement toutes les plantes établissent des symbioses à champignons au niveau des racines. Certaines plantes, en particulier les Légumineuses, établissent des symbioses racinaires avec des bactéries fixatrices d'azote. En plus des symbioses, tous les êtres vivants hébergent des quantités considérables de microorganismes commensaux dans leur tube digestif (100 milliards par gramme de contenu intestinal, chez l'homme) ou à leur surface. Chez les végétaux, il y a toute une microflore spécialisée qui occupe en particulier la surface des racines : ces microorganismes jouent un rôle important dans la protection ou même la stimulation de la croissance de leur hôte :

- les micro-organismes assurent, après leur mort, le recyclage des éléments qui composent la matière

organique des êtres vivants : ils dégradent les protéines et la cellulose, ils libèrent l'azote, le soufre et le phosphore sous des formes assimilables par d'autres êtres vivants ;

- des éléments n'entrent dans les écosystèmes que par l'intervention des micro-organismes : c'est le cas de l'azote, qui n'entre naturellement dans les sols que sous l'action de bactéries spécialisées ;
- ils interviennent aussi dans la formation ou la disparition de composés qui jouent un rôle dans l'effet de serre : méthane, oxydes d'azote ;
- enfin, la dégradation de nombreux polluants se fait grâce à l'équipement enzymatique de certains micro-organismes. Des propriétés telles que fertilité, résilience, pouvoir épurateur, attribuées au sol ou au milieu aquatique, sont en fait des propriétés liées à leur microflore. Les micro-organismes sont donc nécessaires pour garantir le fonctionnement équilibré, la fertilité, l'habitabilité et la pérennité de l'environnement où nous vivons.

1.1.1. Une immense diversité

A/ Diversité d'espèces

Ils sont présents partout, et en grand nombre : dans la valeur d'une cuillère à café de terre, il y a bien plus de bactéries que d'hommes sur la terre entière. Leur diversité est immense : on estime que la biodiversité, sur terre, réside essentiellement chez les micro-organismes. Encore ne les connaissons-nous pas tous : il est en effet difficile, voire impossible, de cultiver la plupart des micro-organismes de l'environnement naturel, spécialement les bactéries. Plusieurs méthodes d'étude de l'ADN ont cependant permis de mettre en évidence la présence de ces << non-cultivables >> : elles ont révélé que souvent la microflore des sols, par exemple, est dominée par des bactéries appartenant à des ensembles d'espèces apparentées

-des phylums- totalement inconnus, pour lesquels il n'existe pas de milieux de culture adéquats (le phylum *Acidobacterium* par exemple). On connaît des séquences de l'ADN de ces bactéries mais on ignore tout de leurs propriétés. Nos connaissances sur la diversité des espèces microbiennes augmentent aussi grâce à l'exploration des milieux extrêmes. C'est ainsi que la microflore des sources hydrothermales des grands fonds océaniques a fourni un grand nombre d'espèces nouvelles pour la science (et aux propriétés souvent intéressantes pour les biotechnologies). Bien sûr, la nomenclature est complètement débordée face à l'immensité de sa tâche et plus de 90 % des micro-organismes des environnements naturels n'ont jamais été décrits.

B/ Diversité infra-spécifique (la diversité des propriétés des souches, à l'intérieur d'une espèce)

La diversité microbienne, ce n'est pas seulement la diversité en termes de nombre d'espèces qui existent, c'est aussi la diversité des propriétés des souches, à l'intérieur d'une espèce, c'est-à-dire la diversité infra-spécifique. A ce propos les dernières décennies ont vu une remarquable évolution de l'approche des microbiologistes : en microbiologie classique prévalait le concept de souche type ; chaque espèce était définie par une souche déposée dans une collection internationale, et tout isolat était décrit en référence à cette souche type. Dans cette logique, tout écart à l'identité, toute dissemblance était ressentie comme une difficulté, un problème. L'expérience, cependant, montre bien qu'il y a toujours quelques différences et un isolat nouveau n'est jamais strictement identique à une souche type. Cette diversité infra-spécifique était visible à travers la diversité des propriétés métaboliques, elle l'est encore bien plus quand on caractérise les génomes eux-mêmes : des techniques simples permettent de mettre en évidence cette diversité à une échelle très fine ; elles sont souvent dérivées de la PCR (réaction en chaîne de duplication de séquences d'ADN dont le nombre d'exemplaires est multiplié par plusieurs millions, ce qui en facilite l'étude ultérieure).

b1/ La variabilité

La diversité infra-spécifique existe même à l'échelle d'un clone, ensemble des individus issus d'un même ancêtre. Les cellules filles ne sont pas les répliques exactes de la cellule mère. La fidélité de la réplication de l'ADN n'est pas totale. Là encore une évolution importante des concepts s'est produite : l'écart à la cellule mère, la mutation, a été longtemps considéré comme un accident, une anomalie. Un point de vue très différent est possible : l'écart est nécessaire à la survie, il est une propriété essentielle de la vie elle-même. Non seulement la génération systématique de variants permet de survivre dans un milieu changeant, mais elle permet aussi une stratégie de conquête ininterrompue de nouvelles niches. La vie, comme les gaz parfaits, occupe tout l'espace disponible.

b2/ Environnement et variabilité

Il y a cependant des conditions dans lesquelles la variabilité n'apporte rien : c'est le cas d'un organisme bien adapté à sa niche écologique. Le cas extrême est illustré par les micro-organismes parasites obligatoires chez qui les populations sont souvent très clonales : les souches isolées, même à des distances considérables, sont identiques. Une telle stratégie permet de faire l'économie de l'adaptation, mais elle est très risquée : le sort du microorganisme est lié à celui de son hôte et il disparaît avec lui. Le cas le plus fréquent correspond à des micro-organismes dont les populations traversent des phases de prolifération dans un milieu favorable, entrecoupées de périodes où des changements imposent une adaptation.

Dans le premier cas, la clonalité est la meilleure stratégie, elle serait catastrophique dans le second. Une avancée considérable a été réalisée chez *Escherichia coli* ; une bactérie intestinale qui est en fait la bactérie la mieux connue : on a pu démontrer que, chez *Escherichia coli* au moins, le degré de fidélité de la réplication de l'ADN est dépendant de l'équilibre entre deux systèmes enzymatiques (SRM=**système de réparation des mésappariements** et SOS=**la bactérie lance un SOS pour évoluer**) agissant, l'un dans le sens d'une grande clonalité, l'autre dans le sens d'une grande variabilité. De plus ces deux systèmes enzymatiques sont soumis à des régulations sous l'effet de l'état physiologique de la cellule ou de facteurs de l'environnement.

Le degré d'adaptation des cellules à leur environnement module donc le degré de variabilité d'une population. La variabilité apparaît donc comme une composante essentielle de l'adaptation chez *E. coli* : Une population naturelle passe par une succession de phases de clonalité traduisant une bonne adaptation aux conditions de milieu, et de phases de variabilité traduisant une inadaptation à des conditions nouvelles.

Mieux encore, il semble que dans toute population microbienne existent des individus, les mutateurs, qui entretiennent constamment une variabilité énorme dans leur descendance, à la suite d'une inactivation de leur système SRM de réparation des mutations. Cette variabilité des mutateurs est le plus souvent inutile et contre sélectionnée, mais elle prend valeur adaptative en cas de changement brutal : dans les variants générés, des individus peuvent, en effet, présenter des mutations avantageuses et être ainsi plus adaptés que la souche initiale qu'ils finissent par remplacer.

C/Le lien diversité - activité

Vu le changement global et l'érosion de la biodiversité, il devient de plus en plus important de comprendre ce lien et de pouvoir prédire les réactions fonctionnelles des écosystèmes dans ce cadre. Deux mécanismes principaux sont essentiels à la compréhension de ce lien. D'une part, la capacité des organismes à occuper et utiliser les ressources de l'écosystème de manière efficace et d'autre part l'effet de sélection prédit qu'une augmentation du nombre d'espèce dans la communauté augmente la probabilité d'en avoir une qui soit dominante. Apparaissent alors deux types d'effets découlant du lien diversité- fonction. D'un côté, il existerait un effet tampon de la diversité, relevant d'une certaine redondance fonctionnelle des espèces présentes dans une communauté. D'autre part, la diversité augmenterait les performances fonctionnelles de l'écosystème, en termes de productivité primaire par exemple.

Mais l'application de ces concepts aux communautés microbiennes est encore discutée et montre certaines limites. En effet, l'étude de ces communautés se révèle complexe, notamment de par l'aspect invisible à l'œil nu du compartiment microbien. De plus, certaines propriétés particulières des micro-organismes expliquent que les concepts soient difficilement applicables directement. Par exemple, les microorganismes présentent une forte capacité de dispersion, et le paysage auquel doivent faire face les microorganismes est bien plus complexe à l'échelle microscopique et les obstacles sont bien plus nombreux.

La capacité de dispersion joue un rôle essentiel dans l'assemblage des communautés et dans l'établissement des propriétés de l'écosystème et de la communauté donc à la stabilité de cette dernière.

Des chercheurs ont montré que la résistance des sols agricoles face aux perturbations et leur résilience dépendent fortement de la structure de la communauté microbienne de ces écosystèmes particuliers. Donc il est nécessaire de comprendre l'influence de la structure des communautés microbienne sur les fonctions écosystémiques.

1.1.2. Microorganismes marins

Par comparaison avec les environnements, la communauté microbienne est dominée par de nombreuses ultra micro-bactéries ou nano bactéries, en particulier *Sphingomonas*, qui passe facilement au travers des filtres de 0.2µm. Un autre retrouvée sur la côte de Namibie : *Thiomargarita namibiensis* : la plus grosse bactérie du monde (100 à 300µm) utilisant le sulfure et le nitrate comme réducteur et oxydant, qu'elle emmagasine dans une énorme vacuole (800mM de nitrate ; granules de soufre en périphérie). Ces bactéries sont importantes pour le recyclage du soufre et de l'azote dans ces milieux.

D'autres microorganismes tirent profit des surfaces des milieux aquatiques tels que : *Sphaerotilus* et *Leucothrix*, les bactéries bourgeonnantes des genres *Caulobacter* et *Hyphomicrobium*. Se caractérisent par l'exploitation des surfaces et des gradients de nutriments. Aérobie obligatoires, bien qu'ils puissent parfois faire la dénitrification. En outre, des bactéries peuvent être les 1^{ers} colonisateurs des surfaces submergées, et permettre le développement d'un biofilm plus complexe. Ces bactéries adoptent deux modes de vie complètement différents : soit elles sont à l'état planctonique flottant dans l'eau ; soit elles sont à l'état sessile attachées à une surface et vivent en communauté au sein d'un biofilm suite à un stress ou à un manque de nourriture, elles adhèrent alors à une surface et changent leurs phénotype. L'expression de nombreux gènes change, ce qui conduit à des modifications métaboliques. L'état planctonique pourrait se réduire au passage d'une bactérie d'une surface à l'autre (99% des bactéries seraient à l'état sessile dans les milieux naturels). Certaines souches de laboratoire ont perdues leur capacité à former des biofilms soit par les cultures successives, soit par la perte du plasmide naturel favorisant la formation de biofilms.

Des biofilms simples se développent lorsque les microorganismes forment une couche monocellulaire. Si les particularités de l'environnement le permettent, ces biofilms peuvent devenir plus complexes et comporter des couches d'organismes de type différents. Un exemple type comprendrait des organismes photosynthétiques en surface et des anaérobies en dessous. Des biofilms plus complexes peuvent se développer pour former une structure à quatre dimensions, comportant des agrégats de cellules des pores interstitiels et des canaux.

Les biofilms, peuvent devenir tellement grands qu'ils aboutissent à des dimensions macroscopiques et deviennent visibles, si les conditions environnementales leurs sont favorables. Les gros biofilms appelés tapis microbiens existent dans de nombreux milieux d'eau douce et marins. Une caractéristique des tapis est la présence de gradients extrêmes. La lumière ne pénètre que d'un mm dans ces communautés et sous cette zone photosynthétique, les conditions sont anaérobies et les bactéries sulfato-réductrices jouent un rôle important. Le sulfure produit par ces organismes, diffuse dans la région illuminée anaérobie permettant aux microorganismes photosynthétiques sulfureux de se développer.

1.1.2.1. Autres microorganismes aquatiques

Les mycètes microscopiques, se développent aussi dans les milieux d'eaux douces et marins. Les mycètes à zoospores sont adaptés à une existence aquatique et comprennent : les oomycètes et les chytrides. Certaines espèces de ces derniers s'attaquent aux algues et aux amphibiens. Les mycètes filamenteux qui peuvent sporuler sous l'eau constituent les hyphomycètes.

1.1.3. Milieux des eaux douces

Les lacs et les rivières constituent des environnements microbiens différents. Ainsi, le mélange et l'échange de l'eau peuvent être limités dans les lacs. Ceci crée des gradients verticaux sur des distances

beaucoup plus courtes. Par contre, dans les rivières des modifications peuvent survenir en fonction du temps et/ou de la distance d'écoulement de l'eau.

*Les lacs peuvent être oligotrophes, ou eutrophes. Ceux oligotrophes restent aérobies toute l'année et les changements de température ne provoquent pas de stratification distincte. Les lacs eutrophes par contre, ont des sédiments chargés en matière organique. En effet, les lacs eutrophes des régions tempérés peuvent être stratifiés pendant l'été : avec des eaux plus chaudes et moins dense en surface épilimnion (aérobie), et des eaux plus denses et plus froides en profondeur hypolimnion (souvent anaérobie. Ces deux strates sont séparées par une zone de décroissance brutale de température appelée thermocline. La concentration élevée en matière organique provient du ruissellement des terrains voisins, avec un tel apport en éléments nutritifs, l'eau subit une eutrophisation. Ceci déclenche des efflorescences d'algues et de cyanobactéries, qui augmentent encore la teneur en matière organique du lac.

* Les rivières et les fleuves sont différents des lacs, la majeure partie de la biomasse microbienne fonctionnelle est fixée sur des surfaces. Et selon la taille du cours d'eau, la source des substances nutritives varie. Elles proviennent d'une production interne dues aux micro-organismes photosynthétiques ou externes, comme les sédiments dus aux ruissellements des rives et aux feuilles tombant directement dans l'eau. Les microorganismes chimio-organotrophes métabolisent la matière organique disponible et fournissent une énergie de base à l'écosystème.

1.1.4. Milieux terrestres

La diversité des populations microbiennes profitent de toutes les niches trouvées dans leur environnement. Différentes quantités d'oxygène, de lumière, ou de nutriments peuvent exister au sein de quelques millimètres dans le sol. L'activité microbienne est plus grande dans les couches superficielles du sol riches en matières organiques, en particulier dans et autour de la rhizosphère. Le nombre et l'activité des micro-organismes du sol dépendent dans une large mesure des quantités de nutriments présents. Comme une population d'organismes aérobies consomme l'oxygène disponible, les anaérobies sont capables de croître. Si le sol est perturbé par le labour, les vers de terre, ou autre activité, les micro-organismes aérobies seront de nouveau en mesure de croître et à répéter cette succession. La croissance microbienne la plus étendue a lieu sur les surfaces des particules du sol et est fortement favorisé à l'intérieur, même une seule particule de sol peut contenir de nombreux microenvironnements différents et peut ainsi favoriser la croissance de plusieurs types physiologiques de micro-organismes (Tableau I).

1.1.4.1. Les plantes

Les plantes jouent un rôle écologique majeur, car ce sont les principaux organismes producteurs primaires de matière organique dans les écosystèmes terrestres. Une partie de cette matière organique est disponible pour les microorganismes associés, qu'ils soient présents à l'intérieur du végétal, à la surface de la plante (racines ou parties aériennes), ou à proximité immédiate des racines (rhizosphère).

Les microorganismes associés à la plante correspondent principalement à des bactéries et des fungi, secondairement à des protozoaires. Selon leur localisation, ces microorganismes vont être exposés à des conditions d'environnement contrastées. Les microorganismes colonisant la surface des parties aériennes (épiphytes) sont confrontés à des situations microclimatiques fluctuantes, et ils sont exposés à des conditions de stress. De plus, les exsudats organiques à la surface des feuilles sont libérés en quantités moins importantes que les exsudats racinaires. Les tiges peuvent aussi être colonisées par des microorganismes mais à des effectifs beaucoup plus moindre. Par contre, les microorganismes

présents à la surface des racines bénéficient d'une quantité importante de rhizodépôts organiques et leur habitat est un milieu tamponné en raison de la présence du sol et du mucigel racinaire.

La plante libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées et azotées : polysaccharides, acides organiques et protéines. Ces exsudats favorisent le développement de la microflore pathogène ou non. Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des champignons se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter. De même, la densité des bactéries est plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol distant des racines : il s'agit de «l'effet rhizosphérique».

La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes. Ces activités résultent de la synthèse de métabolites tels que les antibiotiques, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides.

Si la plante libère des composés organiques, à l'inverse elle prélève de l'eau et des éléments minéraux indispensables à son métabolisme. Ce prélèvement est d'ailleurs associé à l'extrusion de protons qui contribue à abaisser la valeur du pH de la rhizosphère. Les racines sont également capables d'absorber certaines molécules organiques, produites par les microorganismes présents dans la rhizosphère. Les échanges entre la plante et le sol sont influencés par les rhizobactéries et ce d'autant plus que leur densité et leur activité sont élevées. Cette influence se manifeste par une modification de la croissance de la plante et de la fréquence des infections fongiques de la racine. Selon les rhizobactéries présentes, ces modifications peuvent être positives ou négatives pour la plante.

Parmi l'immense biodiversité tellurique, la plante sélectionne des populations particulières bien adaptées à l'environnement rhizosphérique et ces populations diffèrent selon le génotype de cette plante. Cette sélection repose sur l'aptitude physiologique des populations microbiennes à tirer au mieux profit des composés organiques libérés, mais également sur une signalisation moléculaire entre plantes et microorganismes à l'origine de phénomènes de reconnaissance spécifiques.

Le maintien de la libération des rhizodépôts au cours de l'évolution végétale et sa généralité au sein du règne végétal suggèrent que le coût énergétique correspondant est compensé par des bénéfices pour la plante. Ainsi, il a été suggéré que les populations microbiennes sélectionnées par la plante seraient favorables à sa croissance et à sa santé, et contribueraient à son adaptation en situations de faible fertilité (en particulier, champignons mycorrhizogènes et bactéries fixatrices d'azote) et/ou de fortes densités de populations pathogènes.

D'une façon générale, il semble que le maintien des espèces végétales en situations peu anthropisées ait reposé sur des processus de coévolution plantes-microorganismes impliquant des bénéfices réciproques. Ces processus sont pour certains d'entre eux très anciens (respectivement 50 et 400 millions d'années pour les symbioses bactériennes fixatrices d'azote et pour les symbioses mycorrhiziennes).

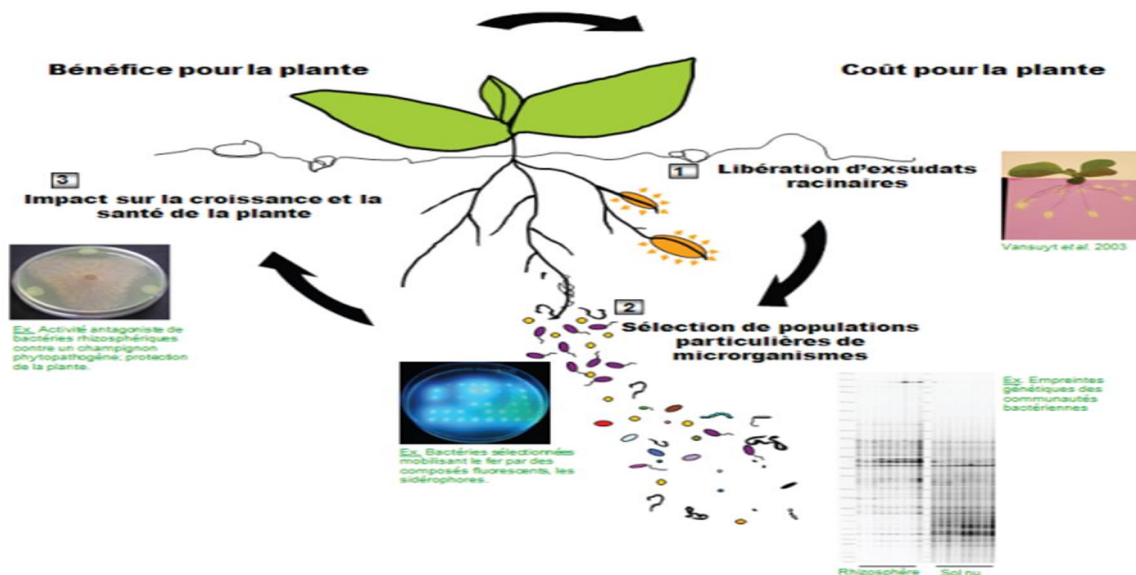


Figure 3 : Représentation schématique des bénéfices et coûts

Les microorganismes présentent souvent une localisation intercellulaire, mais certains (des parasites ou symbiotes) peuvent être dans les cellules végétales. Dans le cas des fungi, le mycélium est soit entièrement dans la plante, soit reste principalement à l'extérieur (ectomycorhiziens). Certains champignons mycorhiziens hébergent à leur tour des bactéries constituant ainsi des associations multitrophiques.

Les microorganismes qui interagissent avec la plante ont des provenances variées. Premièrement, certains ont le sol comme origine, néanmoins, de nombreux ont la capacité de venir activement au contact des graines ou des racines par le processus de chimiotaxie (pour les bactéries) ou chimiotropisme (pour les champignons) déclenché par la perception de certains exsudats libérés par la plante. Deuxièmement, certains microorganismes en interaction avec la plante, au niveau des parties aériennes, arrivent au contact du végétal par le biais des précipitations et de l'eau d'irrigation, de la poussière atmosphérique ou du vent. Troisièmement, les animaux peuvent être des vecteurs de microorganismes, tels que les phytophages, herbivores, nématodes. Quatrièmement, ceux apportés par l'homme avec l'utilisation d'outils ou de machinerie agricole, alors que les phytobénéfiques sont délibérément utilisés pour inoculer les cultures. Cinquièmement, la plante elle-même peut être source de microorganismes qui sont présents à la surface de plantes vivantes ou de restes de plantes (litière, résidus) sont une source d'inoculum pour les plantes qui vont se développer ultérieurement au même endroit.

De plus certains microorganismes sont présents au niveau de la graine, qu'il s'agisse de contamination interne ou externe. Les microorganismes présents dans ces microsites sont en position favorable pour coloniser la plante qui se développera à partir de cette graine. Enfin les microorganismes endophytes peuvent se retrouver à l'intérieur des plantes de la génération suivante si ces dernières sont multipliées de manière végétative.

Au final, les microorganismes associés à la plante ont donc des provenances différentes, et ils présentent des phénomènes de dispersion à différentes échelles spatiales. En terme de biogéographie, même si nombre d'entre eux présentent une distribution endémique, certains microorganismes semblent être transportés sur de grandes distances. C'est notamment le cas des microorganismes associés à des plantes cultivées, qui colonisent les parties aériennes des plantes et/ou sont facilement disséminés par le vent et certains d'entre eux sont phytopathogènes.

En raison de l'importance des effectifs microbiens et des interactions microbiennes dans la rhizosphère, les particularités écologiques des habitats rhizosphériques sont évoquées ci-après. En comparaison avec le sol non rhizosphérique, la rhizosphère présente des particularités physiques et biochimiques.

D'un point de vue physique, la surface racinaire n'est pas homogène en termes de topographie et de flux de rhizodépôts, avec notamment une zone de dépression et une émission préférentielle d'exsudats à la jonction des cellules épidermiques. C'est également au niveau du sol rhizosphérique que se produisent les principaux phénomènes de diffusion des rhizodépôts solubles avec pour conséquence une stimulation des interactions microbiennes.

D'un point de vue (bio) chimique, les particularités de la rhizosphère sont largement liées à la présence des rhizodépôts. Selon le mode de libération de ces rhizodépôts dans le sol, on distingue les exsudats ou diffusats (composés de faible dimension, solubles ou gazeux, libérés par transport passif), les sécrétions (composés activement transportés hors des cellules racinaires), les lysats et le mucigel.

Les rhizodépôts organiques présentent une diversité chimique très élevée dont :

- Des substrats simples, à savoir un très grand nombre d'acides aminés, d'acides organiques, de sucres, d'acides gras, de stérols, de dérivés d'acides nucléiques, etc...
- Des polymères insolubles : cellulose, etc...
- Des vitamines et autres facteurs de croissance (biotine, inositol, thiamine, etc...)
- Des phytohormones : auxines, cytokinines, etc...
- Des protéines enzymatiques : amylases, phosphatases, protéases, etc...
- Des toxines, des composés de défense
- Des signaux susceptibles d'agir sur les microorganismes, comme des chimioattractants (sucres, acides organiques, etc...) et des inducteurs de transcription (flavonoïdes, terpènes, etc...)

La sélection des microorganismes par la plante peut être observée à différents niveaux taxonomiques, de la famille à celui de la souche. La sélection par la plante est modulée par de nombreux facteurs abiotiques et biotiques, qui agissent en partie en modifiant l'activité photosynthétique (et donc l'exsudation). Cela se traduit notamment par des successions microbiennes, liées en particulier à la phénologie de l'hôte.

Au niveau de la rhizosphère, la diminution de la diversité microbienne peut être contrebalancée (compensée) par des processus liés à la variabilité génétique des microorganismes ou l'hétérogénéité spatio-temporelle de l'habitat. Dans le 1^{er} cas deux processus peuvent conduire à une augmentation de la diversité au niveau des souches. Tout d'abord, on pense que certains constituants libérés par la plante, notamment au niveau de la graine, peuvent avoir des effets mutagènes. Ensuite, certaines bactéries peuvent varier phénotypiquement, un processus souvent réversible générant plusieurs types cellulaires différents (avec par ex : des systèmes de mobilité différents) à partir d'une même souche. Chez les bactéries symbiotiques et pathogènes présentant cette propriété, la variation phénotypique facilite la colonisation des racines. Dans le 2^{ème} cas, la variabilité spatiale des microhabitats associés à la plante permet la coexistence, au niveau d'un même individu plante, de communautés microbiennes différentes d'un microsite à l'autre.

1.1.5. La microflore digestive de l'homme

Chez l'homme la microflore intestinale renferme environ 10^{14} bactéries appartenant à plus de 400 espèces différentes. Il s'agit d'une biomasse considérable dont l'activité se traduit par la production in vivo d'enzymes et de métabolites. On ne peut pas séparer l'étude de la microflore intestinale de son

contexte environnemental, à savoir l'hôte et les aliments. L'ensemble constitue un écosystème intégré, aux interactions multiples. Toute modification de l'un ou de l'autre de ses constituants est susceptible de perturber l'équilibre et le fonctionnement de l'ensemble.

1.1.5.1. Répartition topographique de la flore digestive

La répartition de la flore varie selon les segments du tube digestif. Elle dépend de la teneur du milieu en oxygène, des sécrétions du tube digestif, des nutriments disponibles et de la vitesse du transit (rapide de la bouche au cæcum, plus lent ensuite). Globalement il existe un gradient croissant oral-aboral :

- dans l'estomac, du fait d'un pH bas, la flore est presque inexistante (inférieure à 10^3 UFC/g)
- dans l'intestin grêle, on observe une variation quantitative (duodénum 10^3 - 10^4 UFC/g, jéjunum 10^4 - 10^6 UFC/g, iléon 10^6 - 10^8 UFC/g) et qualitative : diminution progressive des bactéries aérobies au profit des bactéries anaérobies strictes. Il y a peu de bactéries dans l'intestin grêle où elles ne jouent presque aucun rôle. Par exemple, *Escherichia coli*, qui est un micro-organisme normal de l'intestin de l'homme et des animaux, colonise les intestins des enfants dans les pays en voie de développement au bout de quelques jours après la naissance. Alors que, les nourrissons dans les pays développés, ne vont l'acquérir qu'après plusieurs mois ; les premiers micro-organismes à coloniser l'intestin de ces nourrissons seraient plus typiquement des *Staphylococcus aureus* et d'autres micro-organismes associés à la peau. Les facteurs génétiques jouent aussi un rôle.
- dans le côlon, le transit, très fortement ralenti, est à l'origine d'une stase d'où l'augmentation importante de la population bactérienne (de 10^9 à 10^{11} UFC/g). C'est une véritable chambre de fermentation, siège de très nombreuses biotransformations des aliments non assimilés au niveau du grêle. Le côlon est la seule zone colonisée de façon permanente : la flore microbienne essentiellement anaérobie est dense et active, produisant localement de nombreux métabolites.

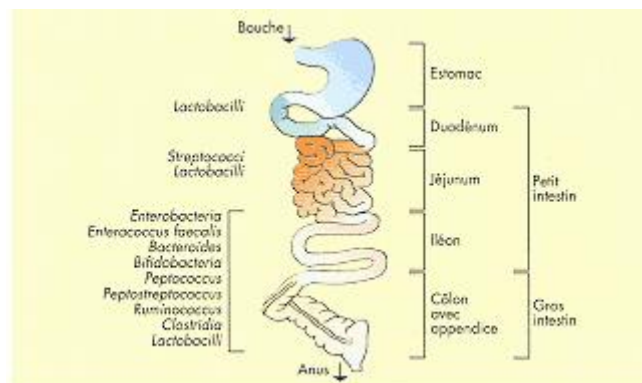


Fig 4 : Répartition des bactéries le long du tube digestif (d'après Drasar et Barrow modifié 1985)

Les bactéries habituellement présentes dans l'intestin grêle appartiennent aux genres : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, et à quelques espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* à des concentrations faibles jusqu'à l'iléon où elles apparaissent dominées par des espèces anaérobies à Gram négatif appartenant au genre *Bacteroides*.

1.1.5.2. Composition classique d'une flore intestinale humaine

On est loin de connaître toutes les espèces et leurs différents types, donc de bien appréhender les variations de flore induites par les modifications de régime alimentaire, les bactéries exogènes, les substances antibiotiques...

Les bactéries habituellement présentes dans l'intestin grêle appartiennent aux genres :

Lactobacillus, *Streptococcus*, et à quelques espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* à des concentrations faibles jusqu'à l'iléon où elles apparaissent dominées par des espèces anaérobies à Gram négatif appartenant au genre *Bactéroides*.

Dans le côlon, il faut distinguer 4 types de flore :

- **flore dominante** ($N > 10^9$ UFC/g) exclusivement anaérobie : *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Propionibacterium*,

- **flore sous dominante** ($10^6 > N > 10^8$ UFC/g) : différentes espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* (surtout *E.coli*) et les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter*,

- **flore résiduelle** ($N < 10^6$ UFC/g) : bactéries en transit ou réprimées par la flore résidente,

- **flore fécale** : facilement accessible pour l'analyse, elle renferme de nombreuses espèces mortes et n'est pas représentative des différentes niches écologiques de l'écosystème microbien digestif (Figure 4). L'analyse de la flore fécale ne donne qu'une vue très limitée de l'écosystème mais permet de retrouver des souches pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'hôte.

1.1.5.3. Rôles de la flore intestinale humaine

a/ Effets digestifs

Des modifications anatomiques et histologiques liées à la présence de la microflore sont mises en évidence en comparant ce qui se passe chez l'animal conventionnel par rapport à l'animal axénique (dépourvu de germes). C'est ainsi que l'on constate que :

- l'absence de flore entraîne un ralentissement du transit intestinal et une dilatation du cæcum (effet sur la motricité),
- la vitesse de renouvellement cellulaire et l'index mitotique sont significativement réduits chez l'animal axénique (effet sur la trophicité).

b/ Effets nutritionnels

- **bénéfiques pour l'hôte**

- production d'acides gras à chaîne courte diminuant la synthèse hépatique du cholestérol ; l'un d'eux, l'acide butyrique, est la principale source d'énergie de la muqueuse colique,
- dégradation des hydrates de carbone non absorbés (amidon, pectine, glycoprotéines) aboutissant à la production d'acides organiques assimilables par l'hôte (acétate, propionate, butyrate) et de gaz (CO_2 , H_2),
- hydrolyse des lipides alimentaires non absorbés grâce aux lipases bactériennes et à la conjugaison des acides biliaires primaires, indispensable pour une bonne absorption des graisses,
- dégradation de certaines protéines et de certains acides aminés (tryptophane), permettant la récupération de l'azote,
- apport vitaminique : certaines bactéries anaérobies facultatives (*E. coli*, *E. aerogenes*) sont capables de

synthétiser in vitro un large éventail de vitamines (biotine, riboflavine, acide pantothénique, pyridoxine et vitamine K). Des bactéries anaérobies strictes (*C. butyricum*, *Veillonella sp.*) sont capables de synthétiser la vitamine B12, d'une grande utilité pour la croissance locale bactérienne. Il n'existe pas de données précises sur l'utilisation de ces vitamines par l'hôte, notamment par l'homme.

- **défavorables pour l'hôte :**

- métabolisme glucidique : les activités de type β -glucuronidase libèrent à partir des β -glucuronides des aglycones à pouvoir cancérigène,

- métabolisme azoté : la dégradation par la microflore des nitrates et des amines secondaires aboutit à la production de nitrosamines cancérigènes,

- métabolisme des xénobiotiques : possibilité d'inactivation de médicaments (inactivation de la digoxine par *Eubacterium lentum*) ou de production de métabolites toxiques. Ainsi les myrosinases d'origine bactériennes, capables d'hydrolyser les glucosinolates des crucifères (choux, choux de Bruxelles, navets...) peuvent être responsables de diarrhées. De même, après consommation importante et prolongée de choux, les métabolites dérivés de la 5-vinyl-oxazolidine-2-thione (goitrine) sont responsables d'une diminution importante de la captation de l'iode par la thyroïde.