

En dehors de l'eau, les micro-organismes sont constitués principalement de molécules de taille importante (**protéines, acides nucléiques, polysaccharides et lipides**) : les polymères représentent plus de 95 % du poids sec de la cellule. Ces macromolécules résultent de l'assemblage de petites molécules solubles disponibles dans le cytoplasme (**acides aminés, bases azotées, oses...**). Les **ions minéraux** ne représentent que 1 % du poids sec de la cellule. Pour réaliser ces biosynthèses, un micro-organisme doit disposer des **nutriments** nécessaires et d'une **source d'énergie** utilisable.

1. Besoins nutritionnels

1.1. Besoins élémentaires

- **macro-éléments et micro-éléments**

La matière sèche d'une bactérie telle qu'*E. coli* est composée de quelques **macro-éléments** : C, O, H, N, S, P, constituants des molécules organiques ; K, Ca, Na, Mg et Fe, à l'état de cations dans la cellule et ayant des rôles divers. Certains éléments ne sont retrouvés qu'à l'état de « traces » : Mn, Zn, Co, Ni, Cu, Mo... Ce sont des **oligo-éléments** (ou micro-éléments), nécessaires au métabolisme microbien, car ils interviennent en tant que cofacteur ou activateur de réactions enzymatiques. Les besoins élémentaires sont différents d'une espèce à une autre, en fonction du milieu de vie notamment.

- **source de carbone**

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).

- **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 (**chimolithotrophes**) ou organiques (**chimioorganotrophes**).

- **source d'azote, de soufre et de phosphore**

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 la **nitrate réductase B** dite assimilatrice) ;
- l'**azote atmosphérique**, N₂ (grâce à la **nitrogénase**, présente chez *Rhizobium* et *Azotobacter*).

NO₃⁻ et N₂ sont transformés en ions NH₄⁺, qui sont ensuite incorporés à des acides α-cétoniques, formant ainsi des acides α-aminés.

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⁻**).

1.2. Besoins en facteurs de croissance

E. coli est capable de se développer dans un milieu minéral additionné de glucose : elle peut donc synthétiser tous ses constituants carbonés à partir d'une seule source de carbone (le glucose par exemple). *Proteus vulgaris* n'a pas cette capacité : il ne peut se développer dans un tel milieu que si de l'acide nicotinique lui est fourni en petite quantité. *Proteus vulgaris* est **auxotrophe** pour l'acide nicotinique, qui représente un **facteur de croissance** pour cette espèce bactérienne. *E. coli* est dite **prototrophe**, car elle n'exige pas de facteur de croissance.

Un facteur de croissance est une molécule organique qu'un micro-organisme doit puiser dans son milieu car il ne peut pas le synthétiser. Les facteurs de croissance sont répartis en trois classes :

- les **acides aminés**, nécessaires à la synthèse des protéines ;
- les **bases azotées** (purines et pyrimidines), nécessaires à la synthèse des acides nucléiques ;
- les **vitamines**, coenzymes (ou leurs précurseurs) indispensables pour de nombreuses réactions.

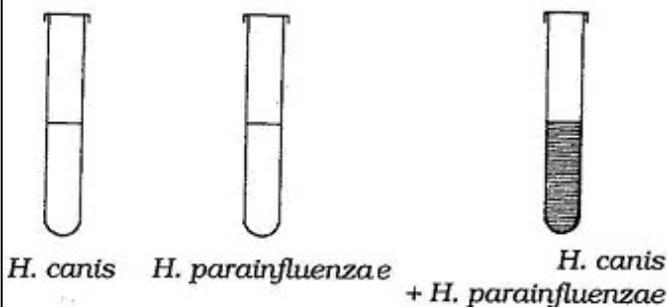
Les phénomènes de syntrophie

Ces exigences en facteurs hémophiles expliquent les phénomènes de syntrophie suivants :

• 1er exemple

Symbiose entre une souche d'*H. canis* exigeant le facteur X seul, et une souche d'*H. parainfluenzae* exigeant le facteur V seul, mises à cultiver en bouillon nutritif.

➔ Après 24 h. d'incubation à 37 °C, seule une pousse est observée dans le tube ensemencé avec les deux souches d'*Haemophilus*, chaque espèce se développant en symbiose.



• 2e exemple

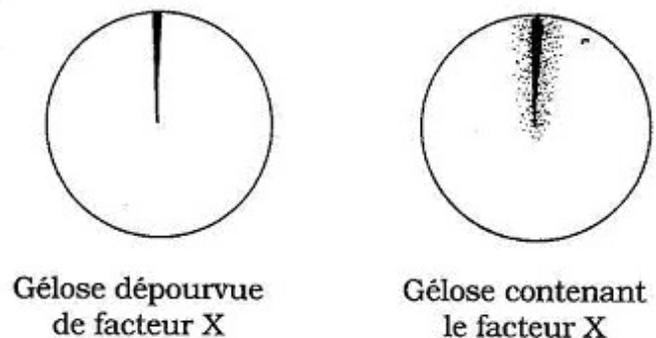
Satellitisme entre une souche d'*H. influenzae* exigeant X et V et une souche de staphylocoque élaborant en grande quantité le facteur V qui diffuse dans le milieu de culture.

Deux géloses tryposées dont l'une est additionnée de facteur X, sont ensemencées avec une suspension légère d'*Haemophilus influenzae*.

Une strie de staphylocoque est ensuite réalisée sur les 2 boîtes de Pétri.

➔ Après 24 heures d'incubation à 37 °C, la culture s'observe uniquement sur le milieu contenant le facteur X, au contact de la strie de staphylocoque.

Ce test de satellitisme est utilisé pour mettre en évidence l'exigence en NAD (facteur V).



2. Métabolisme énergétique

2.1. Rôle de l'ATP

Les synthèses cellulaires sont coûteuses en énergie. Le métabolisme énergétique d'un micro-organisme fournit cette énergie sous la forme d'un composé intermédiaire, sorte de « monnaie d'échange », l'**ATP** ou **adénosine triphosphate**. L'ATP permet le **couplage** (**figure 1**) entre des réactions libérant de l'énergie (**exergoniques**, $\Delta G^{0'} < 0$) et des réactions consommant de l'énergie (**endergoniques**, $\Delta G^{0'} > 0$). L'hydrolyse de l'ATP en ADP génère une **variation d'enthalpie libre standard** $\Delta G^{0'}$ d'environ -30 kJ.mol^{-1} .

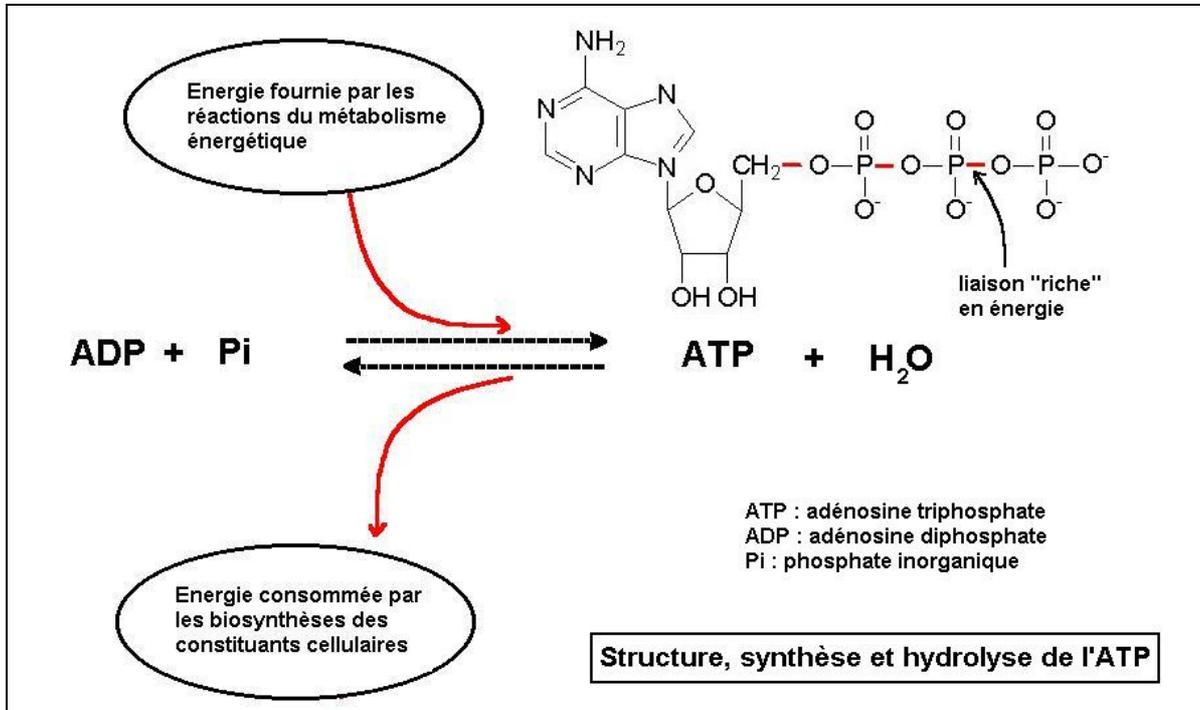


figure 1

2.2. Synthèse de l'ATP

Dans une cellule, l'ATP peut être synthétisé :

- par **phosphorylation au niveau du substrat**, dans le **cytoplasme** ;
- par **phosphorylation liée à un gradient électrochimique de protons** de part et d'autre d'une **membrane** biologique, par un complexe **ATP synthétase** (**figure 2**). Ce mode de production concerne la **photophosphorylation** et la **phosphorylation oxydative**.

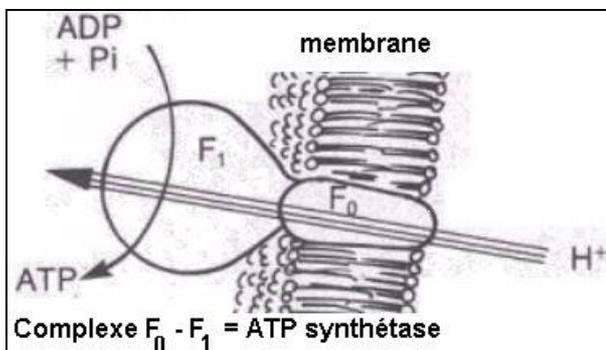


figure 2

• **Phototrophes**

Les êtres-vivants phototrophes (végétaux et quelques types de bactéries) sont capables d'utiliser la lumière comme source d'énergie, afin de réduire le **dioxyde de carbone** (ou les **ions HCO_3^-**) en molécules carbonées. Ce processus, appelé **photosynthèse**, requiert la présence de **pigments** (chlorophylles et bactériochlorophylles), qui après **excitation par un rayonnement lumineux** (photons), sont capables de convertir la lumière absorbée en énergie chimique (**production d'ATP par photophosphorylation**).

• **Chimolithotrophes**

Les bactéries chimolithotrophes tirent leur énergie, leurs électrons et leurs protons de **substances inorganiques réduites**. Leur source de carbone est le CO_2 (ce qui en fait des autotrophes). On trouvera dans cette section des bactéries nitrifiantes, d'autres oxydant le soufre, le dihydrogène ou des métaux.

Les bactéries nitrifiantes aérobies oxydent soit l'ammoniac (***Nitrosomonas***), soit les nitrites (***Nitrobacter***). Ces micro-organismes ont une importance écologique considérable, du fait de leur rôle dans le cycle de l'azote. En effet, leur présence dans le sol assure la **nitrification**, c'est à dire la conversion des ions **ammoniums** en ions **nitrate**.

• **Chimioorganotrophes**

Les microorganismes chimioorganotrophes utilisent des **substrats carbonés à la fois comme source de carbone et source d'énergie**. Ces substrats, de nature variable (glucides, acides aminés, acides gras...), sont oxydés (généralement par déshydrogénation) et les électrons libérés sont pris en charge par des accepteurs organiques ou inorganiques (**figure 3**).

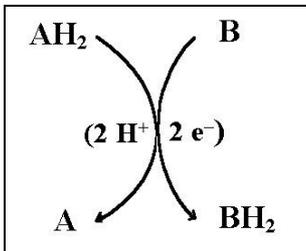


Figure 3 : schéma des réactions d'oxydoréduction dans les systèmes biologiques

L'énergie produite au cours de ces réactions n'est pas libérée globalement, mais par petites étapes successives permettant la production d'ATP. Le **devenir des électrons** permet de distinguer deux voies métaboliques majeures :

- la **respiration**, lorsque les électrons sont pris en charge par une **chaîne de transporteurs** localisés dans une membrane, l'ATP est alors majoritairement synthétisé par **phosphorylation oxydative**, grâce à l'énergie provenant du gradient de protons (**figure 4**) ;
- la **fermentation**, si une molécule organique est utilisée comme accepteur d'électrons et de protons, l'ATP est synthétisé dans ce cas uniquement par **phosphorylation au niveau du substrat** (**figure 5**).

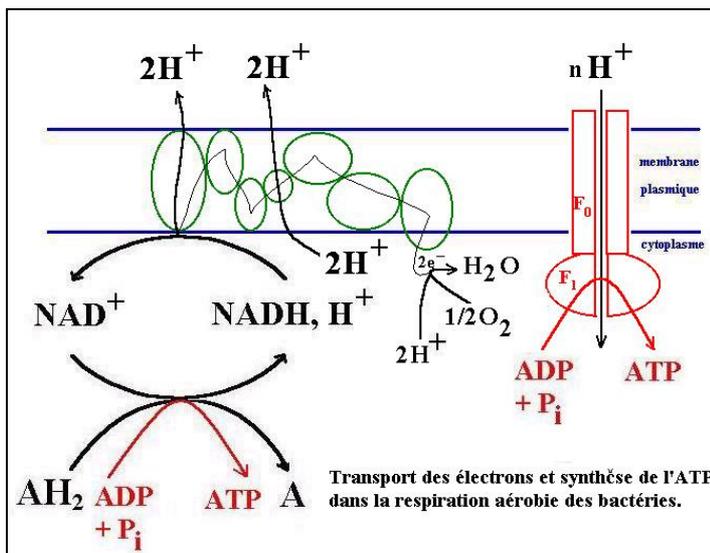


Figure 4

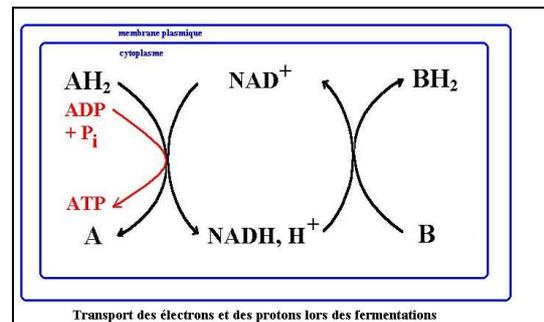


Figure 5

2.3. Respirations

• **Respiration aérobie**

Les bactéries **aérobies strictes** et la majorité des bactéries **aéro-anaérobies** possèdent une **chaîne respiratoire** dont l'**accepteur final des électrons est le dioxygène (O₂)**. Cette chaîne respiratoire est composée de transporteurs (FAD, protéine Fe/S, ubiquinone, cytochromes...) qui transfèrent les électrons du NADH (donneur) vers le dioxygène (accepteur). Ces transporteurs sont localisés dans la **membrane interne des mitochondries chez les Eucaryotes**, dans la **membrane plasmique chez les bactéries**. Les chaînes respiratoires bactériennes sont généralement différentes de celle des mitochondries, notamment en ce qui concerne la nature des cytochromes (a,b,c..). Chez *Escherichia coli*, la composition de la chaîne varie même en fonction du niveau de dioxygène.

Le test « **oxydase** » (test d'oxydation du N-tétraméthyl paraphénylène diamine) réalisé au laboratoire ne met en évidence que la présence de la **cytochrome c oxydase (figure 6)**.

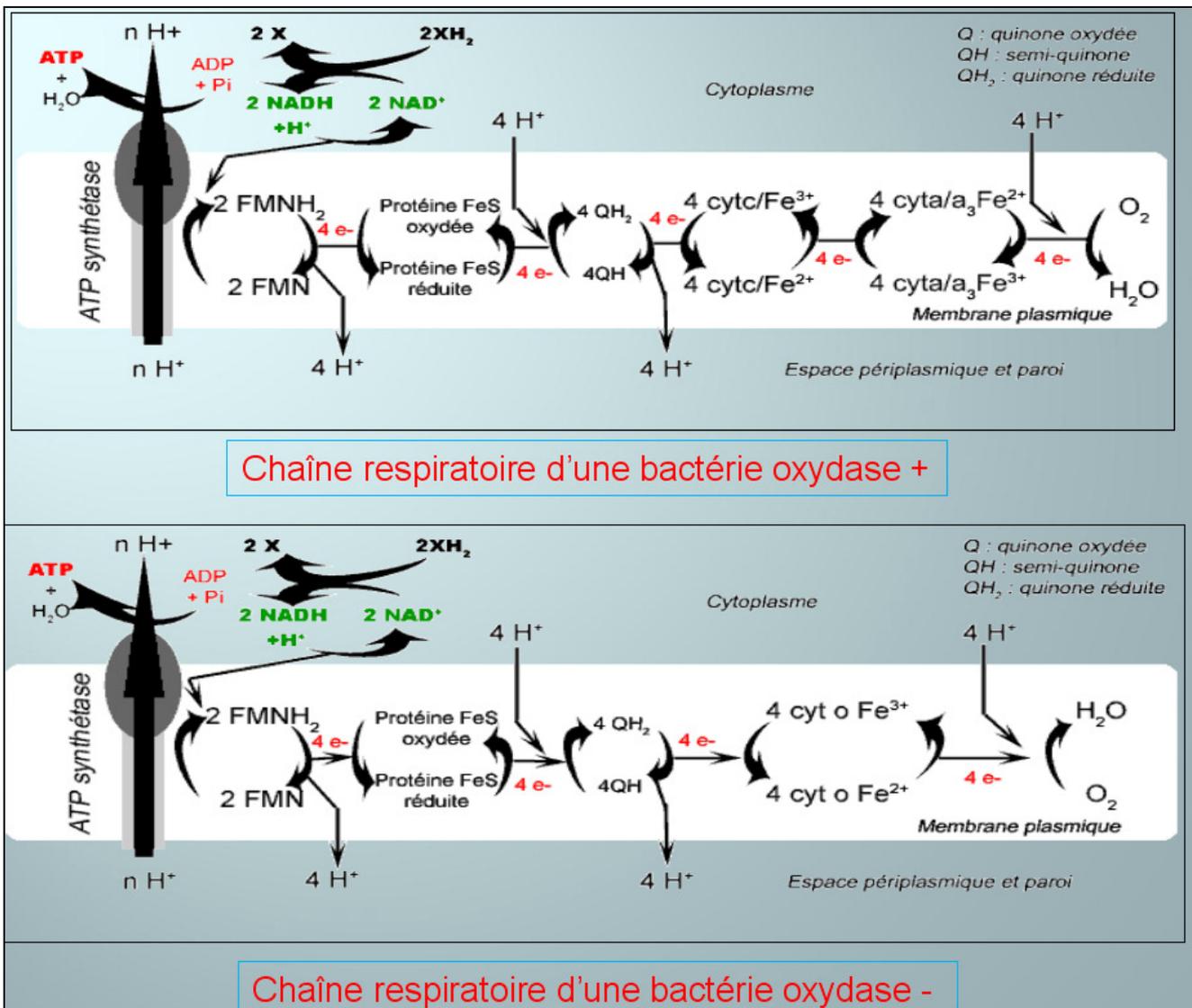


Figure 6 : comparaison des chaînes respiratoires bactériennes (respiration aérobie)

• **Respirations anaérobies**

Chez de nombreuses bactéries aérobies, **le dioxygène peut être remplacé en tant qu'accepteur final des électrons par une autre molécule minérale** (NO_3^- , SO_4^{2-} ...) ou par un composé organique (fumarate).

Dans le cas de la **respiration nitrate (figure 7)**, les électrons sont transférés du NADH vers le NO_3^- par une chaîne respiratoire dont la dernière enzyme est la **nitrate réductase A**, qui catalyse la **réduction des nitrates en nitrites** :



Les nitrites peuvent s'accumuler dans le cytoplasme, ou être à leur tour dégradés sans production d'énergie supplémentaire jusqu'au stade N_2 . Dans ce cas la nitrate réductase A est dite **dissimilatrice**, car elle intervient dans le processus de **dénitrification**.

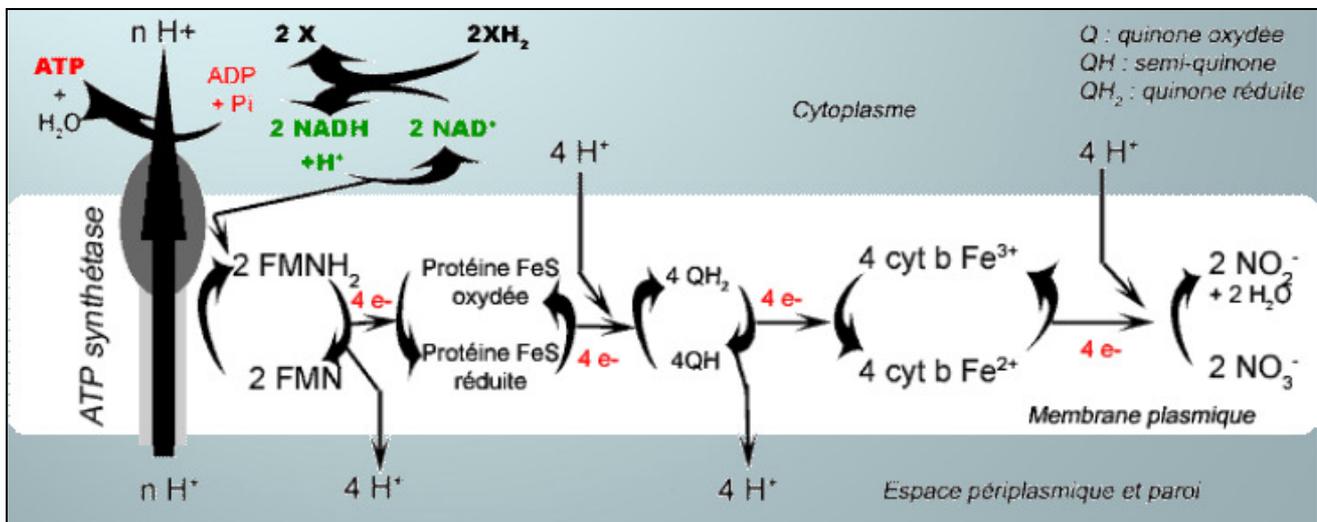


Figure 7 : chaîne respiratoire utilisant l'ion nitrate comme accepteur final des électrons

NB : la **nitrate réductase B** est au contraire dite **assimilatrice**, car elle catalyse la réduction des nitrates en ions ammoniums, qui représentent alors une source d'azote. Pour différencier expérimentalement les deux enzymes, NRA et NRB, on ensemence une gélose viande-foie nitraté additionnée de chlorate de potassium, qui sous l'action de la NRA, est transformé en chlorite toxique pour les bactéries. L'absence de culture est donc constatée dans ce cas.

Dans le cas de la **respiration fumarate**, bien que l'accepteur final soit un composé organique, il existe tout de même une chaîne de transport électronique membranaire permettant la synthèse d'ATP. C'est la **fumarate réductase** qui permet la **réduction du fumarate en succinate (figure 8)**.

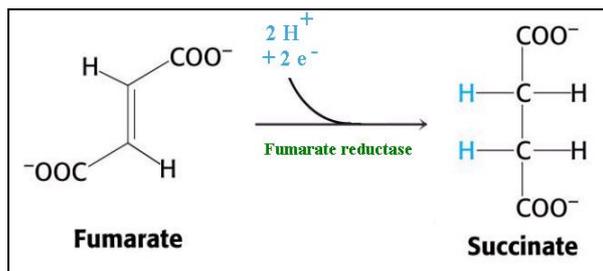


figure 8

2.4. Fermentations

En absence de chaîne respiratoire (ou en absence d'accepteur final convenable si elle est présente), les micro-organismes doivent réoxyder le NADH en NAD⁺ par une autre voie (car en absence de NAD⁺, la glycolyse est bloquée). Le pyruvate, ou l'un de ses dérivés, est alors utilisé comme accepteur d'électrons (et de protons) pour effectuer cette réoxydation. Les bactéries **anaérobies strictes** (*Clostridium*) ou **anaérobies préférentielles** (Streptocoques) pratiquent exclusivement la fermentation, tandis que les bactéries aérobies facultatives (Entérobactéries) respirent et/ou fermentent en fonction des conditions environnementales. **Le rendement énergétique des fermentations est inférieur à ceux des respirations :**

respiration aérobie > respirations anaérobies > fermentations

- **Fermentation homolactique**

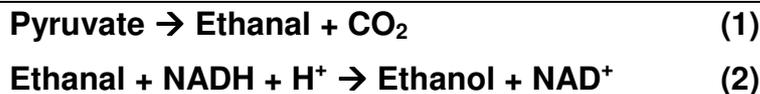
C'est le cas le plus simple : le pyruvate sert d'accepteur d'électrons et d'hydrogène pour la réoxydation du NADH :



Il s'agit de la principale fermentation permettant la transformation du lait en yaourt ou en fromage frais. Elle est présente chez de nombreuses espèces de streptocoques et de *Lactobacillus*.

- **Fermentation éthanolique (ou « alcoolique »)**

Le pyruvate est décarboxylé en éthanal (1), qui est ensuite réduit en éthanol (2) :



Cette fermentation, pratiquée par de nombreuses levures (dont *Saccharomyces cerevisiae*), permet la fabrication du pain et de boissons alcoolisées telles que le vin ou la bière.

- **Fermentation « acides mixtes » (figure 9 : voie 1)**

Elle se caractérise par la diversité des produits de fermentation (éthanol, acide acétique, acide lactique, acide succinique, CO₂, H₂). Elle est pratiquée par les entérobactéries dites « **VP -** ».

- **Fermentation butanediolique (figure 9 : voie 2)**

Chez les bactéries dites « **VP +** » (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* chez les entérobactéries), une grande partie du pyruvate est transformée en **acétoïne** (mise en évidence lors de la réaction de **Voges Proskauer**), qui sert d'accepteur d'électrons et d'hydrogène. Le produit final de cette voie est le (2,3-)**butanediol**.

