Métabolisme énergétique des microorganismes

1-Sources d'énergie et types trophiques

L'énergie nécessaire aux micro-organismes est fournie par la lumière (**organismes phototrophes**) ou par l'oxydation de substances chimiques (**organismes chimiotrophes**). Dans les deux cas, l'énergie est stockée sous forme d'énergie de liaison chimique biologiquement utilisable (**il s'agit de la liaison anhydride phosphorique de l'ATP**). La formation d'ATP à partir de la source primaire d'énergie est plus ou moins complexe selon le type trophique ou métabolique.

Les réactions de synthèse utilisent l'énergie libérée par la décomposition de l'ATP en ADP :

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + Pi + \text{énergie } (\Delta G' = -7.3 \text{ Kcal/mole}).$$

1-1- Organismes phototrophes

Les plantes tirent leur énergie de la lumière, celle-ci intervient également chez les algues vertes, les Cyanophycées et quelques espèces bactériennes. Le processus de photosynthèse comprend deux phases : phase lumineuse et phase obscure.

Photosynthèse

C'est le processus par lequel la plupart des plantes, des algues et certains bactéries photosynthétiques utilisent l'énergie lumineuse pour réaliser la synthèse de molécules organiques (hydrate de carbone + O_2), à partir de composés minéraux CO_2+ H_2O.

Cette absorption de lumière visible est réalisée grâce à un pigment de type **chlorophylle**

Les chlorophylles utilisées par certaines bactéries photosynthétiques sont appelées **Bactériochlorophylles**

- Elle absorbent la lumière à des longueurs d'onde plus grandes que celles captées par la **chlorophylle a**
- Elle absorbent la lumière à des longueurs d'onde plus grandes que celles captées par la chlorophylle a
- Elle absorbent la lumière à des longueurs d'onde plus grandes que celles captées par la chlorophylle a

Type de photosynthèse

Photosynthèse Oxygénique

Chez les plantes, algues et les bactéries photosynthétiques de type oxygénique la substance donatrice de **H+** (et d' **ẽ**) intervenant dans la phase de synthèse est **H2O**, il y a donc libération de **O2**.

Exp: les cynobactéries (*Nostoc* , Oscillatoria…)

Photosynthèse Anoxygénique

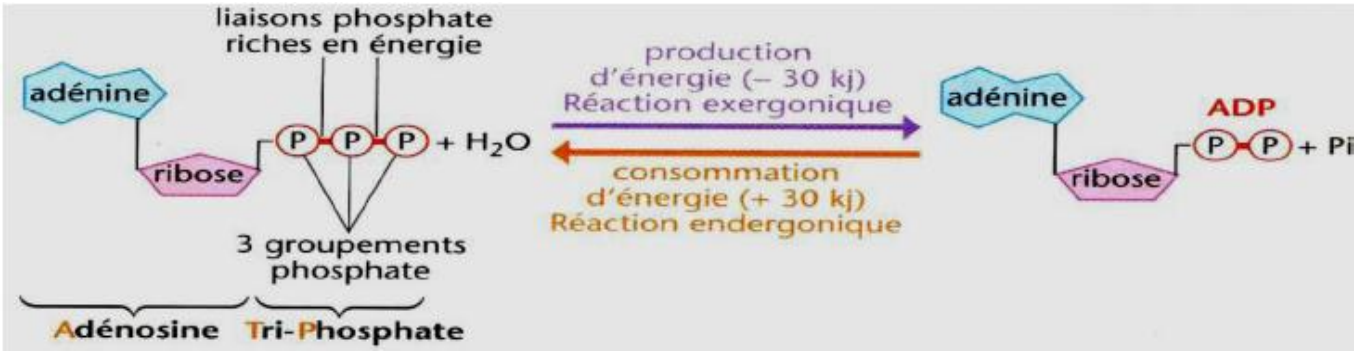
Chez d'autres familles des procaryotes (il n'y a jamais libération d'**O2)** (**H2O** ne peut être donneur).

Le donneur d'**ẽ** et de **H+** peut être:

un composé minéral comme **H2S** chez les *Thiorhodaceae* et les *Chlorobacteriaceae* (**photolithotrophes**),

un composé organique comme **l'acide succinique** chez les *Athiorhodaceae* (**photoorganotrophes**).

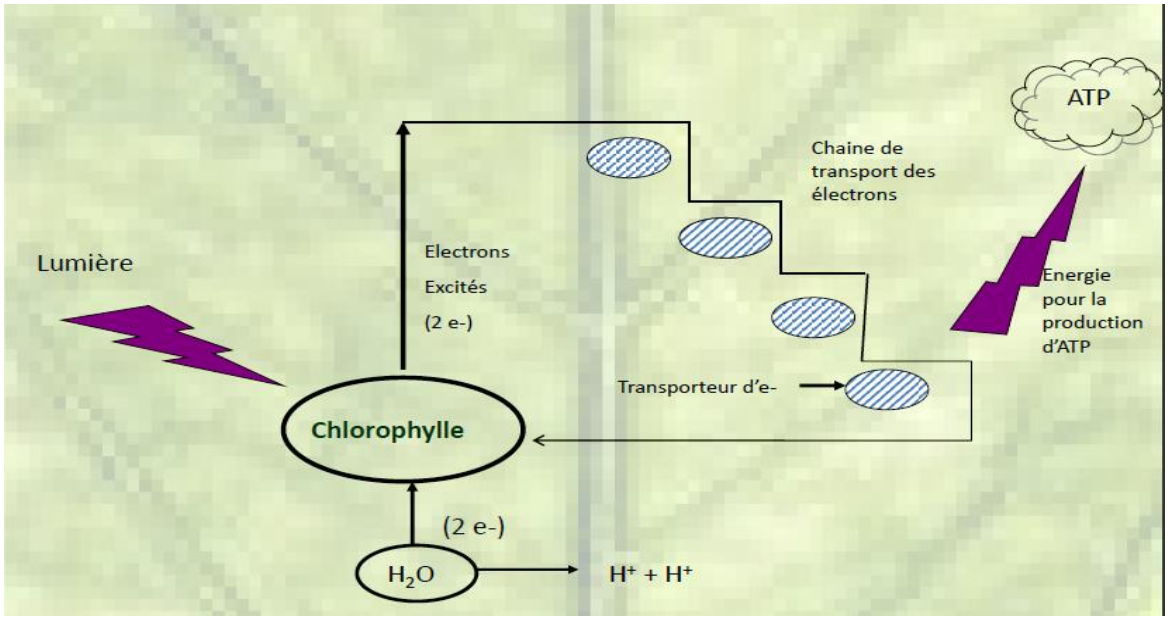
La phase lumineuse : ou **photophosphorylation** aboutit à la formation d'**ATP**, c'est une réaction génératrice d'énergie utilisable par la cellule. Cette phase nécessite la présence de pigments de type chlorophylle, la nature des pigments varie selon la nature de l'organisme phototrophe.



Il existe deux types de photophosphorylation :

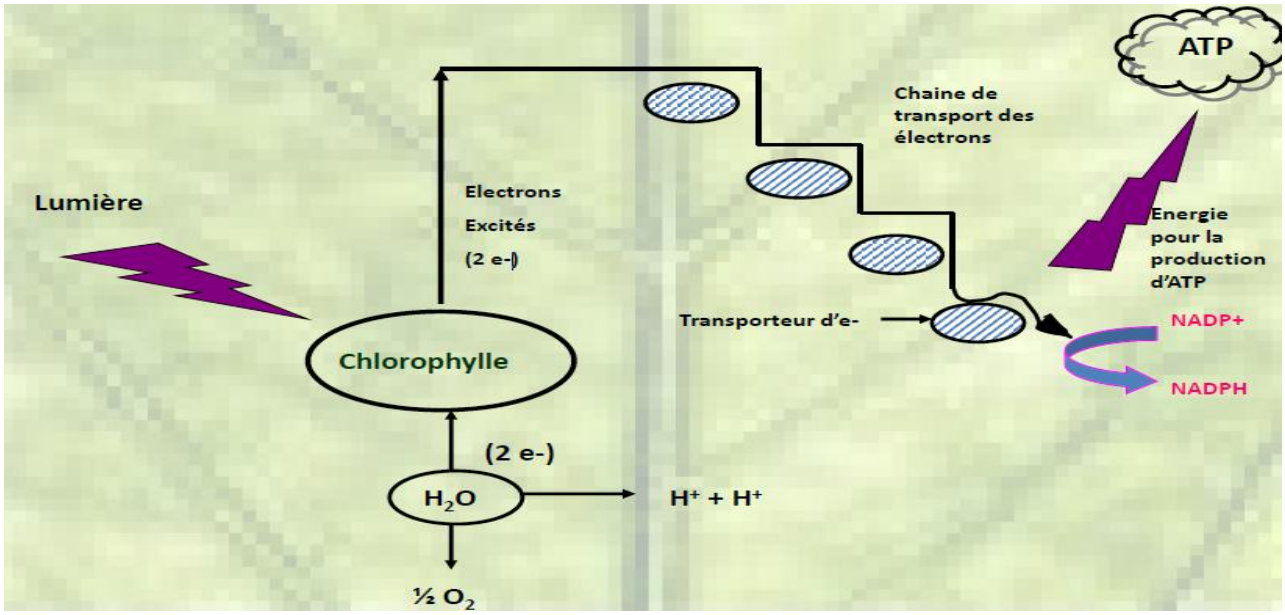
La photophosphorylation cyclique ne produit que l'**ATP**

Les e- arrachés à la chlorpphylle par la lumière retournent a la chlorophylle après leur passage le long de la chaine de transport des e-



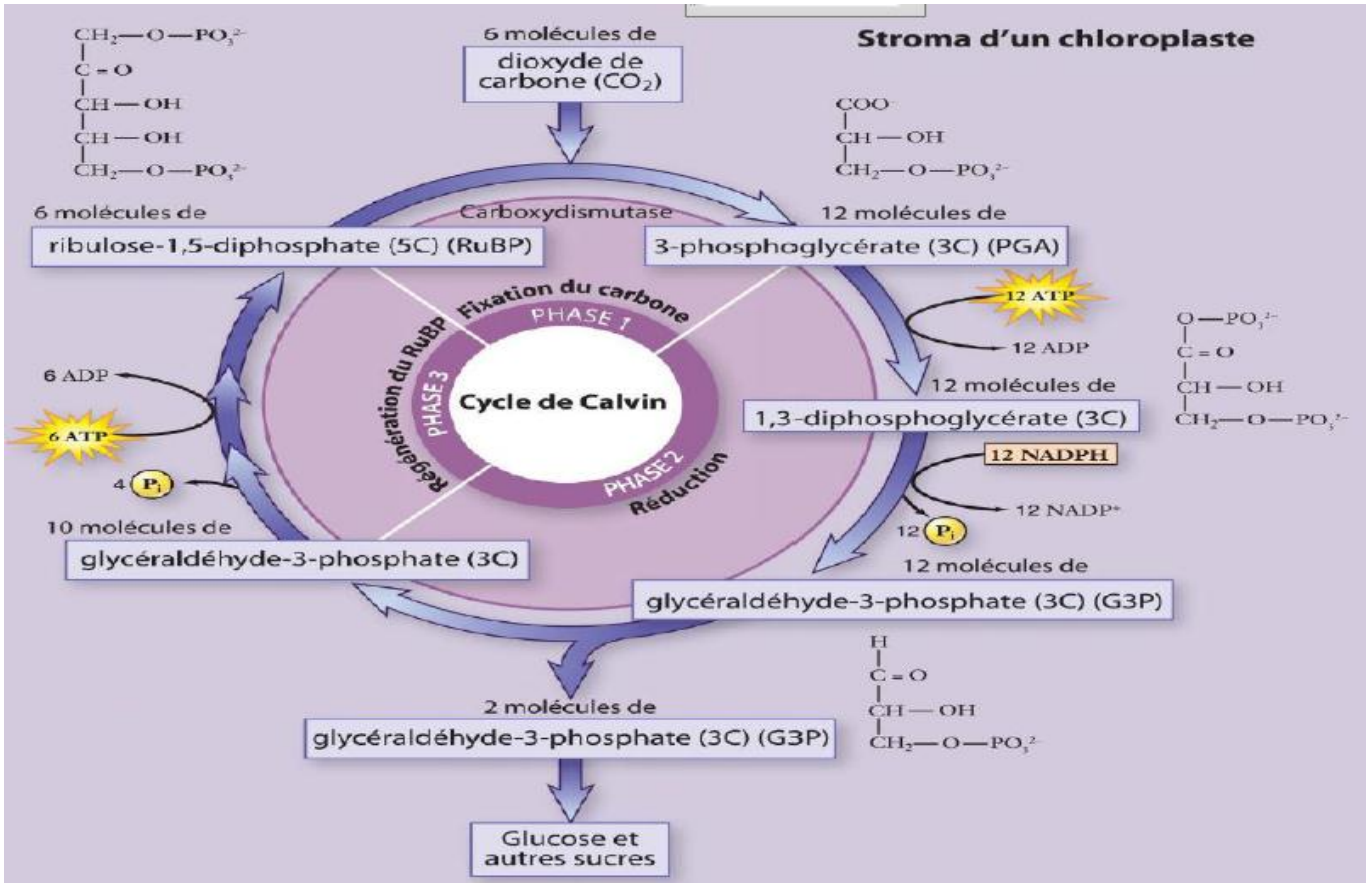
La photophosphorylation non cyclique qui produit à la fois de l'**ATP et du « pouvoir réducteur »**.

Les e- de la chlorpphylle sont acheminés le long de la chaine de transport jusqu'à l'accepteur d'e-, le NADP. Ce dernier se combine à des e- et à des ions H+ prevenant de l'eau pour former le NADPH.



La phase obscure : correspond à une **phase de synthèse de composés organiques**, elle aboutit à la formation de réserves de nature glucidique en utilisant du **CO_2** ainsi que le pouvoir réducteur et l'**ATP** formés au cours de la phase lumineuse. Cette synthèse s'effectue par une suite de réactions ou **cycle de Calvin** dont le bilan se résume par la formule :

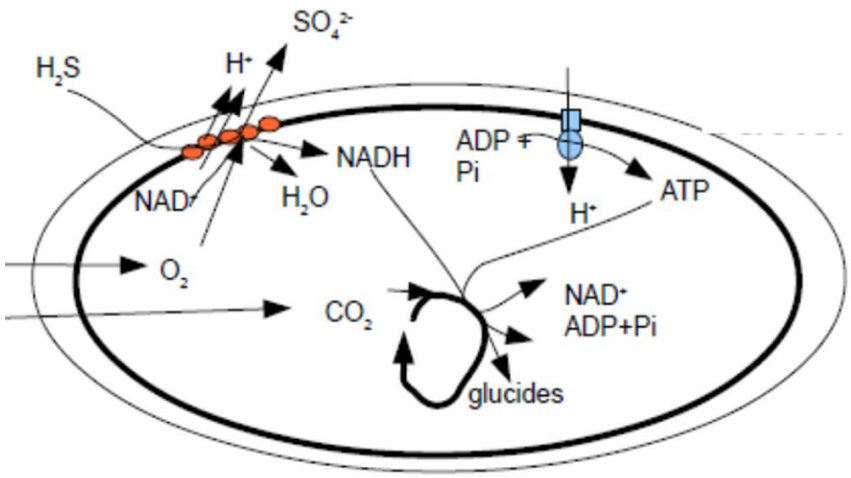
$$n\,CO_2 + 2n\,NADPH, H^+ + 3n\,ATP \rightarrow (CH_2O)n + n\,H_2O + 2n\,NADP^+ + 3n\,ADP + 3nPi$$



1-2- Organismes chimiotrophes

Certains microorganismes (**chimiolithotrophes**) tirent leur énergie de l'oxydation de substances minérales, alors que d'autres la tirent de substances organiques (**chimioorganotrophes**)

Dans la plupart des cas la perte d'**ẽ** est couplée à une perte de **H+** . Ces **ẽ** et **H+** réduisent un accepteur final par l'intermédiaire d'une chaine d'oxydoréduction. La formation d'ATP s'effectue en grande partie durant ce transport (d' **ẽ** et de **H+**),



Détermination de types trophiques chez les microorganismes

Exemple : **Organismes chimio-litho-autotrophes**

Source d'énergie

l'énergie lumineuse :	Photo
l'oxydation de substances :	Chimio

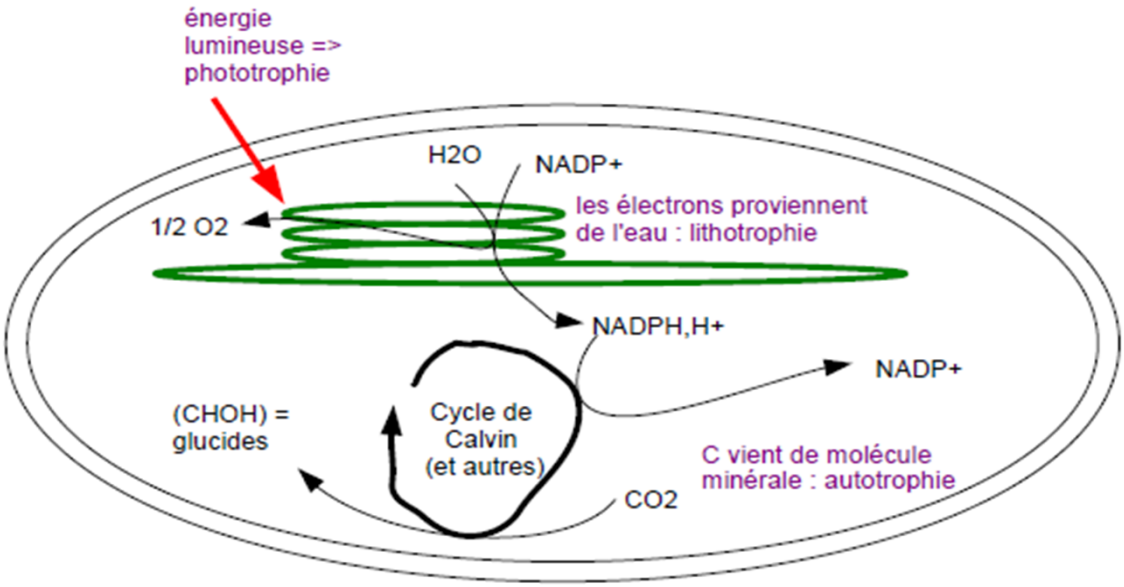
Source d'électron

substances minérales :	Litho
substances organiques :	Organo

Source de carbone

substances minérales	Autotrophe
substances organiques	Hétérotrophe

Organismes Photo-litho-autotrophes



Organismes Chimio-litho-autotrophes

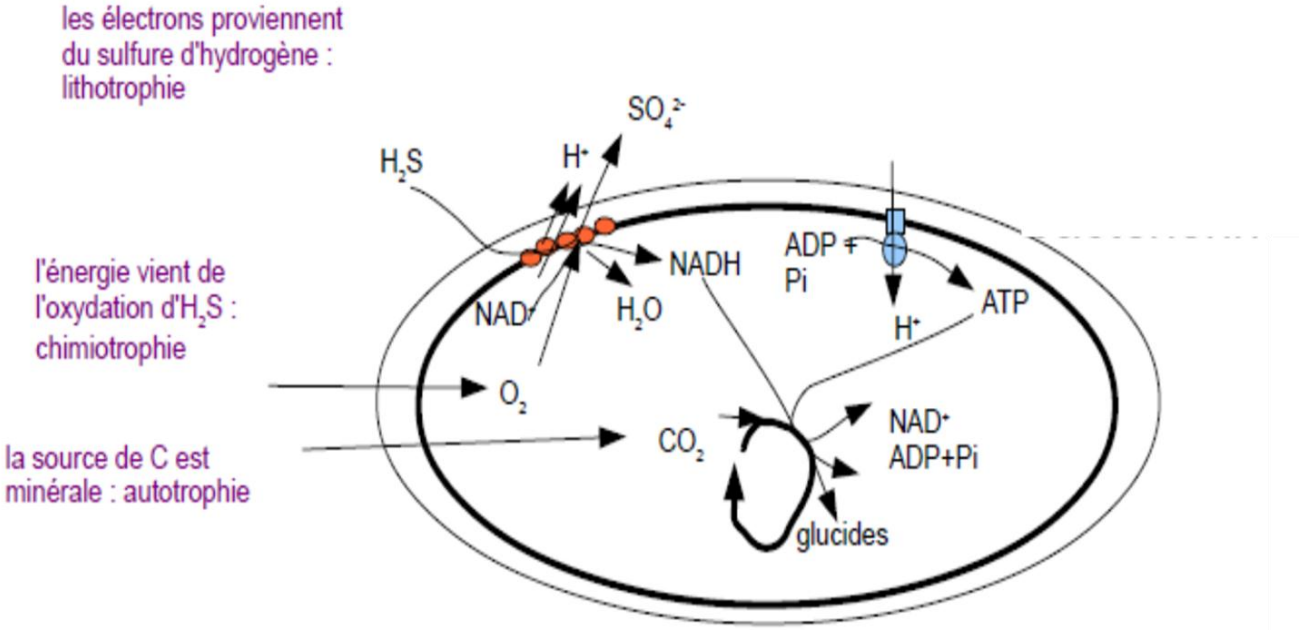


Tableau des différents types trophiques chez les microorganismes :

Source d'énergie	**Source d'électrons**	**Source de carbone**	**Type trophique**	**Exemples**
Lumière **-*Photo*-**	Composés organique **-Organo-**	Organique : -Hétérotrophe	Photo–organo-hétérotrophe	Certaines bactéries (Cyanobactéries…..)
		Minérale : -Autotrophe	Photo- organo -autotrophe	Athiorhodacées
	Composé inorganiques (minérale) **-Litho-**	Organique : -Hétérotrophe	Photo-litho -hétérotrophe	Certaines bactéries (*Thiobaca*…)
		Minérale : -Autotrophe	Photo-litho-autotrophe	la plupart des Cyanobactéries, Thiorhodacées, Chlorobactéries
Composés Chimiques (organique ou non organiques) **-Chimio-**	Composés organique **-Organo-**	Organique : -Hétérotrophe	Chimio-organo-hétérotrophe	la plupart des bactéries (dénitrifiantes ...).
		Minérale : -Autotrophe	Chimio-organo-autotrophe	certains Dinoflagellés (mixotrophie)
	Composé inorganiques (minérale) **-Litho-**	Organique : -Hétérotrophe	Chimio-litho-hétérotrophe	Certaines bactéries (*Bosea*, *Albibacter*…)
		Minérale : -Autotrophe	Chimio-litho-autotrophe	Certaines bactéries terrestres (nitrifiantes, méthanogènes…)

2- Types respiratoires : destinée des électrons

2-1- Chaines de transport d'électrons

Le système de transport des électrons est plus ou moins complexe selon la nature du substrat oxydé, et varie d'un organisme à l'autre. Il fait intervenir des enzymes (déshydrogénases, cytochromes réductases,…) et des coenzymes (FAD, NAD, NADP, cytochromes,…) qui constituent des intermédiaires à la fois accepteurs et donneurs d'électrons (et parfois de protons). Il s'agit d'une suite de réactions couplées d'oxydoréductions. L'énergie libérée par les réactions d'oxydoréductions successives est utilisée pour le transfert membranaire des protons (théorie de Mitchell), ce qui crée un gradient électrochimique dont le rééquilibrage permet la genèse de l'ATP. Il y a souvent découplage entre le transport des protons et celui des électrons, exemple :

$$RH_2 + NAD^+ \longrightarrow R + NADH, H^+ \text{ et } NADH, H^+ \longrightarrow NAD^+ + 2H^+ + 2e^-$$

Les H^+ vont directement à l'accepteur tandis que les électrons sont transportés par une chaine spécifique.
Le type classique de transport est celui de la « chaine respiratoire » ou « chaine des phosphorylations oxydatives » des eucaryotes, cette chaine est localisée pour sa plus grande partie dans les mitochondries. Sa présence et sa structure peuvent être mises en évidence par l'action de différents inhibiteurs : cyanure, azide, antimycine A, roténone,…

Chez les bactéries, la localisation est membranaire (membrane cytoplasmique) et il existe de nombreuses variantes.
En principe, le rendement énergétique des chaines longues est supérieur à celui des chaines courtes. Le rendement énergétique maximal par couple d'électrons et de protons est de 3ATP (non compris les ATP éventuellement formés par le mécanisme de phosphorylation du substrat), il est souvent inférieur. Chez les bactéries, la présence d'ATPases gêne l'étude des rendements énergétiques.

2-2 Accepteurs finaux d'électrons

Le comportement « respiratoire » du microorganisme et ses relations vis-à-vis de l'air sont conditionnés par la nature de l'accepteur final d'électrons et de protons.
Il existe plusieurs définitions des termes respiration et fermentation. Au sens strictement biochimique,
le terme respiration, ou métabolisme oxydatif, est appliqué aux processus d'oxydation dans lesquels l'accepteur final est une molécule minérale,
alors que **le terme fermentation**, ou métabolisme fermentaire, est appliqué au cas où l'accepteur final est un composé organique, généralement endogène.

Type respiratoire selon le demande en O_2

Ce caractère permet de classer les bactéries, selon leurs réponses de croissance en présence et en absence d'oxygène, en 5 groupes :

1. Aérobie strict : l'accepteur final de l'hydrogène est obligatoirement l'O_2 de l'air,

2. Anaérobie strict : l'accepteur est de nature différente et l'O_2 est toxique

3. Anaérobie aérotolérant : sont capables de croître en présence ou en l'absence d'O_2, l'accepteur est de nature différente et l'O_2 n'est pas toxique

4. Anaérobie facultatif (aéroanaérobie) : la bactérie se développe indifféremment dans des conditions d'aérobie ou d'anaérobiose mais se développe mieux en sa présence

5. Microaérophile : ont besoin d'O_2 mais à un niveau acceptable.

2-2-1- Respiration aérobie

Il existe divers mécanismes de respiration aérobie (**l'accepteur final des protons est l'oxygène de l'air**), ils ne peuvent intervenir que **dans des conditions d'aérobiose**. Les microorganismes ne possédant qu'un système de ce type sont des « **aérobies strictes** ».

La voie la plus couramment rencontrée chez les microorganismes aérobies est la voie classique des cytochromes. L'enzyme terminale est le cytochrome oxydase.

L'oxydase ou cytochrome oxydase : est une enzyme présente dans certaines chaines respiratoires bactériennes, c'est une enzyme qui catalyse une réaction d'oxydo-réduction en impliquant une molécule **d'oxygène** (O_2) comme accepteur d'électrons. Dans ces réactions, l'oxygène est réduit en eau H_2O ou en eau oxygénée H_2O_2.

Remarque : certaines oxydations entrainent la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (sous-produit des processus métaboliques). Le peroxyde d'hydrogène est toxique pour la cellule sauf si elle la possède l'enzyme catalase, capable de décomposer le H_2O_2 en H_2O et O_2.

Lorsqu'un microorganisme possède ce système et pas de catalase, le contacte avec l'oxygène de l'air est toxique et il est donc anaérobie stricts. Selon la réaction :

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O + O_2$$

Recherche de l'oxydase

L'oxydase ou cytochrome oxydase : c'est une enzyme qui catalyse une réaction d'oxydo-réduction en impliquant une molécule **d'oxygène** (**O2**) comme accepteur d'électrons.

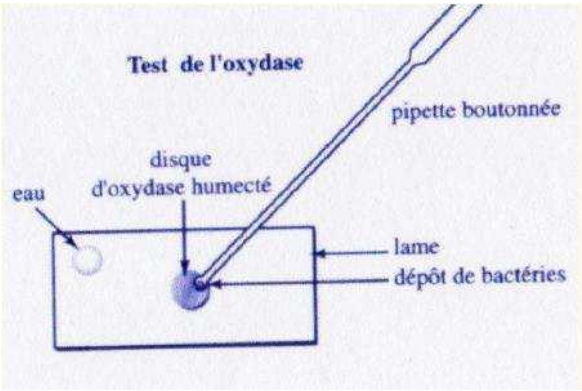
Principe

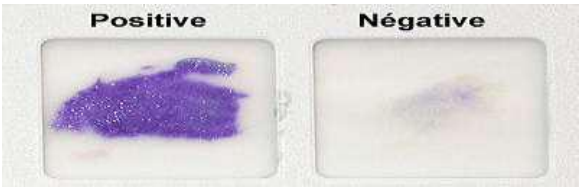
Ce test permet la détection de la phénylène -diamine-oxydase ou le cytochrome oxydase; enzyme entrant dans

divers couples d'oxydoréduction.

La technique

Il s'agit de mettre en contact une colonie bactérienne avec un disque d'oxydase. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette, soit immédiatement, soit après quelques secondes.



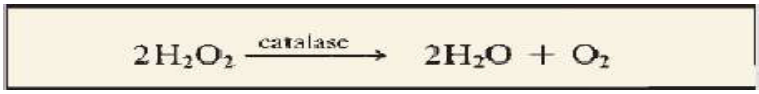


Recherche de la catalase

Certaines oxydations entrainent la production de peroxyde d'hydrogène (H2O2). Le peroxyde d'hydrogène est toxique pour la cellule sauf si elle la possède l'enzyme catalase

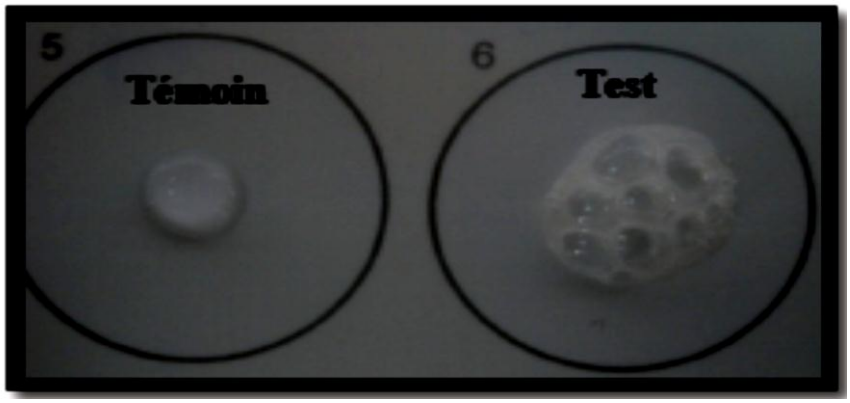
Principe:

La catalase est un enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H2O2) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



La technique

Il s'agit de mettre en contact une colonie bactérienne avec une goutte d'eau oxygénée. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'un dégagement gazeux



2-2-2- Respiration anaérobie

Il s'agit d'un processus où l'accepteur final d'hydrogène est une substance minérale oxydée. De nombreux microorganismes sont capables d'oxyder complètement le glucose en l'absence d'air à condition qu'il y ait du nitrate dans le milieu. Outre les nitrates, d'autres produits peuvent être utilisés : nitrites, sulfates, soufre, CO_2…

$NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow \longrightarrow NH_4^+$ chez divers microorganismes (avec parfois
$NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2$).
$SO_4^{2-} \longrightarrow \longrightarrow S \longrightarrow H_2S$ chez *Desulfovibrio*
$CO_2 \longrightarrow CH_4$ chez *Methanobacterium* et autres méthanogènes.

L'oxydation anaérobie de l'hydrogène (H_2) chez les chimiotrophes fait intervenir le même type de réaction:

$$4\,H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O \;\; ; \;\; 4\,H_2 + SO_4^{2-} \longrightarrow H_2S + 2\,H_2O + OH^-$$

De nombreux microbes vivant dans les environnements dépourvus d'oxygène (pauvre d'oxygène). Pour utiliser les mécanismes du transfert des électrons pour la synthèse d'ATP. d'autres accepteurs finaux des électrons sont utilisés à la place d'oxygène, par exemple : le nitrate (NO_3), le sulfate (SO_4^{2-}), CO_2, soufre, …ect .

2-2-2-1- Respiration de nitrates :

Les microorganismes qui utilisent le nitrate comme accepteur d'électrons réduisent le nitrate en nitrites par l'action de nitrate réductase selon l'réaction suivante :

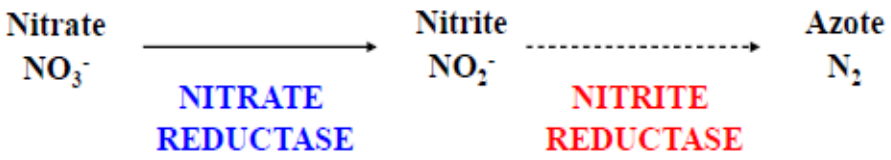
$$NO_3^- + NADH,H^+ \longrightarrow NO_2 + NAD^+ + H_2O\,.$$

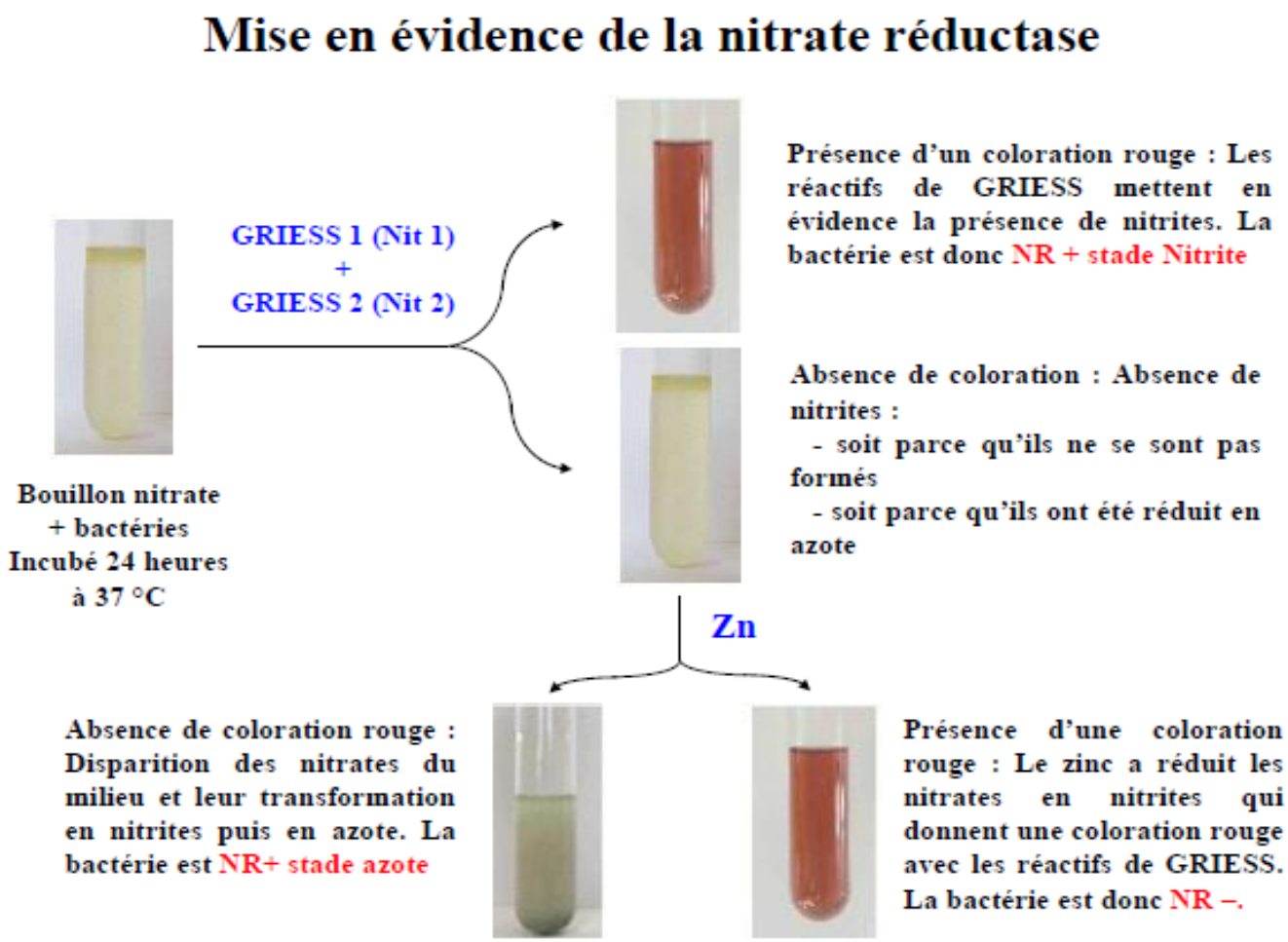
Recherche de nitrate réductase

Principe

Respiration anaérobie, Il s'agit d'un processus où l'accepteur final d'hydrogène est une substance minérale oxydée.

Les microorganismes qui utilisent le nitrate comme accepteur d'électrons réduisent le nitrate en nitrites par l'action de nitrate réductase





2-2-2-2- Réduction du sulfate (SO_4^{2-}) en sulfure (ion sulfure) S^{2-} :

Réduction du sulfate (**SO_4^{2-}**) en sulfure(ion sulfure) **S^{2-}** chez les Désulfovibrio puis en hydrogène sulfuré (H2S) (sulfure d'hydrogène). **Désulfovibrio desulfuricans :** ce sont des bactéries anaérobies à une métabolisme généralement respiratoire utilisant le sulfate pour remplacer l'oxygène dans la respiration cellulaire donc ces bactéries utilisent le sulfate ou autre composé soufrés comme accepteurs finaux d'électron.

La réduction du **SO_4^{2-}** en **S^{2-}** puis en H_2S se fait selon la réaction :

$$So_4^{2-} + 8\,H^+ + 8é \longrightarrow \underset{(sol)}{S^{2-}} + 4\,H_2O \longrightarrow \underset{(gaz)}{H_2S}$$

Ces bactéries réductrices de soufre ont une grande importance dans le recyclage de soufre dans les écosystèmes.

2-2-3- La fermentation

Une substance organique, généralement endogène et issue de la dégradation du substrat, sert d'accepteur d'électrons (et de protons) : ce substrat est souvent l'acide pyruvique ou un produit dérivé (acétaldéhyde, acétolactate…).

De nombreuses fermentations peuvent s'effectuer en anaérobiose car tous les électrons et protons issus de l'oxydation du substrat servent à réduire l'accepteur organique (cas de la fermentation homolactique).

Pour d'autres fermentations, une partie seulement des électrons et protons est ainsi utilisée : l'oxygène intervient comme accepteur complémentaire, de manière facultative (certaines fermentations hétérolactiques bactériennes) ou obligatoire (fermentation des pentoses par certaines levures).

2-2-4- Fermentation oxydative

Les fermentations oxydatives donnent des produits plus oxydés que le substrat et nécessitent habituellement la présence d'oxygène comme accepteur d'électrons et de protons (fermentation gluconique, fermentation acétique…). Il s'agit de respirations « incomplètes ».

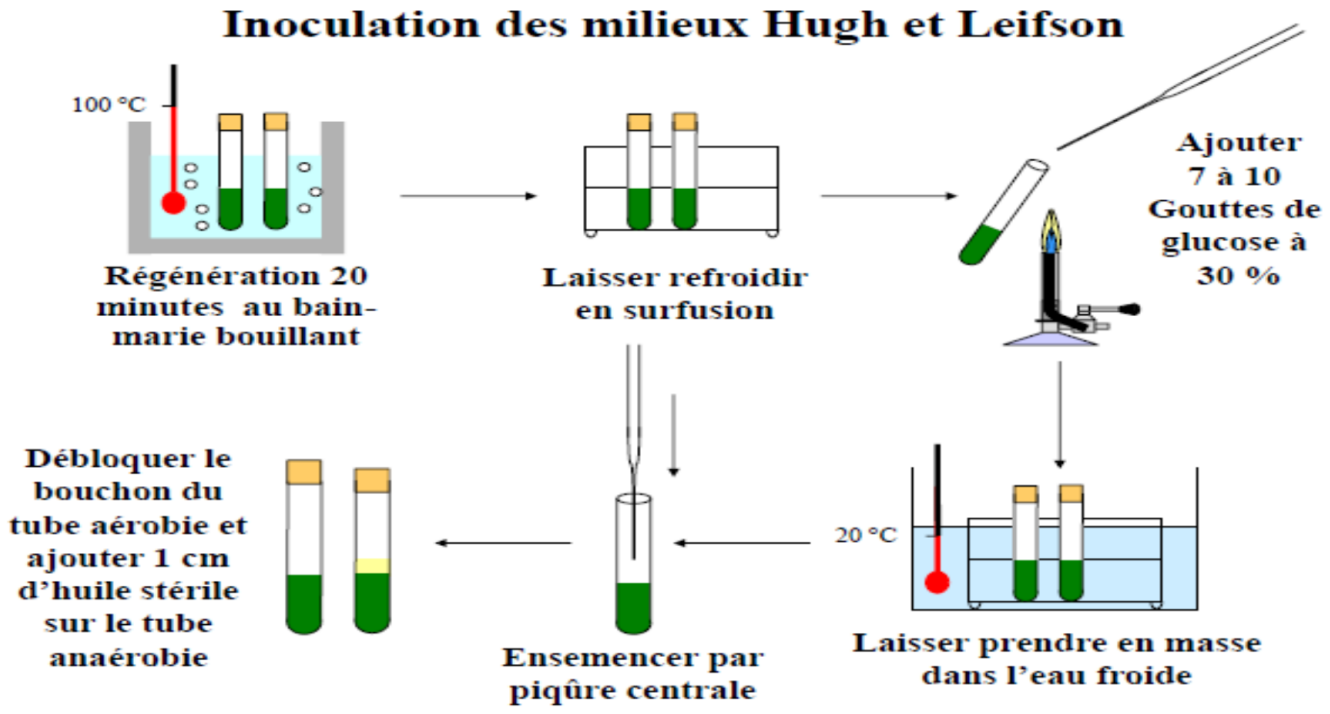
Le métabolisme glucidique

Le milieu utilisé est le milieu Hugh et Leifson de couleur vert, Ce milieu permet de déterminer la voie d'attaque des glucides. (glucose, arabinose et xylose)

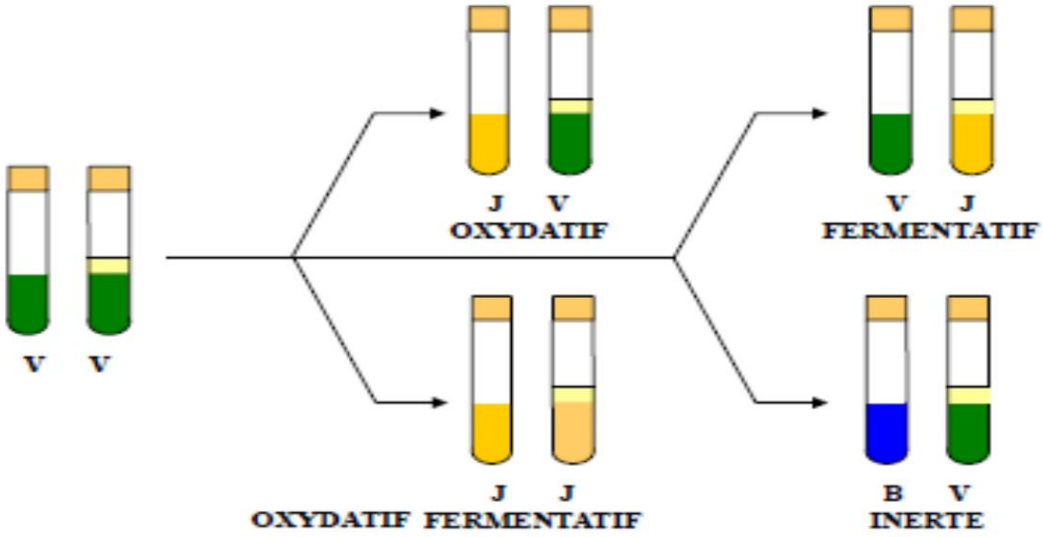
Principe

L'étude du métabolisme énergétique il découle que un glucide peut être catabolisé par voie respiratoire ou par voie fermentative. Le milieu de **Hugh et Leifson** permet de distinguer entre les deux processus. La dégradation d'un glucide s'accompagne généralement d'une acidification du milieu. Le milieu de Hugh et Leifson contient un indicateur de pH, le bleu de bromothymol, qui prend une couleur jaune en milieu acide.

Technique



Lecture:

Lecture du milieu Hugh et Leifson

Tube fermé (anaérobiose)	Tube ouvert (aérobiose)	Métabolisme
-	+	Oxydatif
+	+	Fermentatif
+	-	Fermentatif
-	-	Inerte