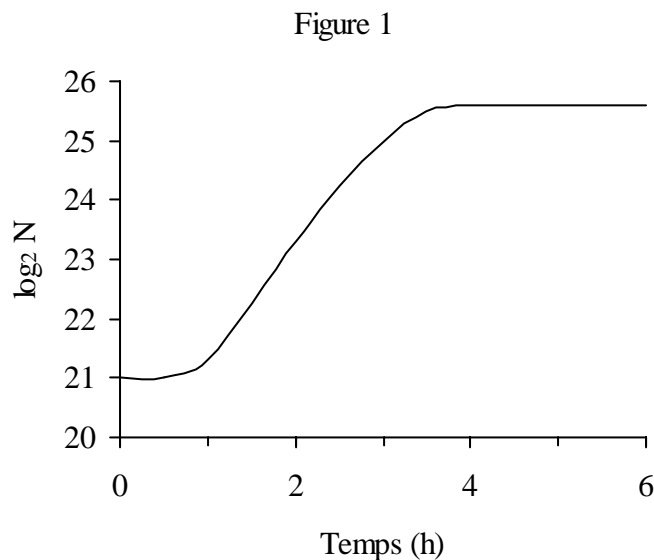


# TD DE CROISSANCE BACTERIENNE

I) Une souche de *Pseudomonas* isolée à partir du sol est capable de se développer sur le milieu suivant:

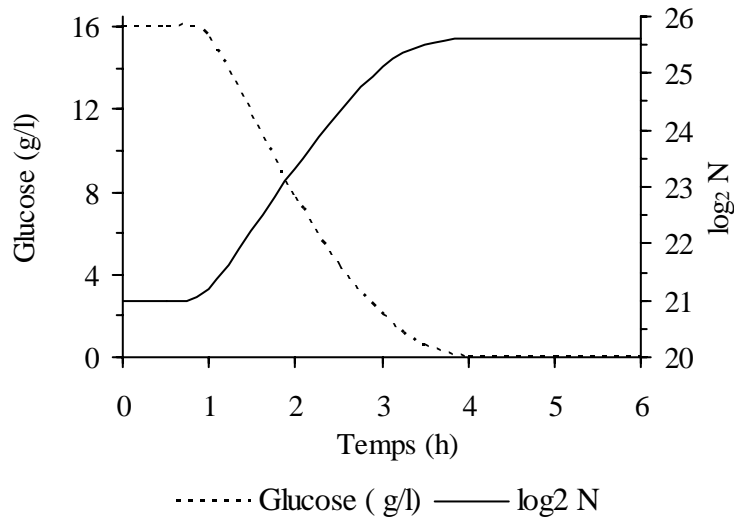
Glucose: 16g/l ;  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ : 1g/l ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 7g/l ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 3g/l ;  $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,1g/l .

Pour étudier la croissance bactérienne de cette souche, ce milieu a étéensemencé à partir d'une culture de 24 h de cette souche sur gélose nutritive puis incubé dans les conditions optimales de température et de pH. L'évolution du nombre de bactéries en fonction du temps est schématisée sur la figure 1.



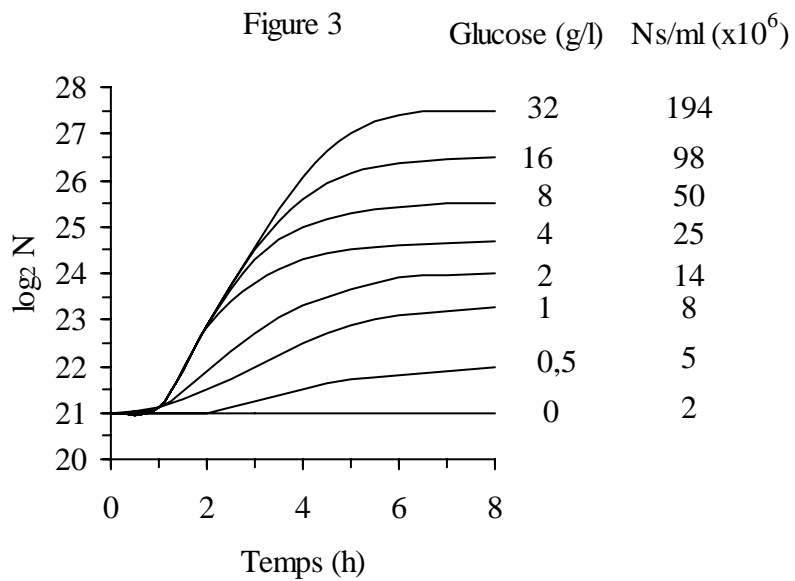
- 1) Délimiter sur le graphe ci-dessus les différentes phases de croissance; interprétez et qualifiez chacune d'elles.
- 2) Déterminez la valeur numérique de trois paramètres nécessaires et suffisants pour caractériser cette croissance.
- 3) D'après les conditions expérimentales, de quoi dépend la 1<sup>ère</sup> phase de la courbe ?
- 4) Expliquez la troisième phase de la courbe à partir de la corrélation entre la croissance bactérienne et la consommation du glucose (figure 2).

Figure 2



**II)** On répète la même expérience de croissance avec la même souche et sur le même milieu de culture, mais en présence de différentes concentrations de glucose.

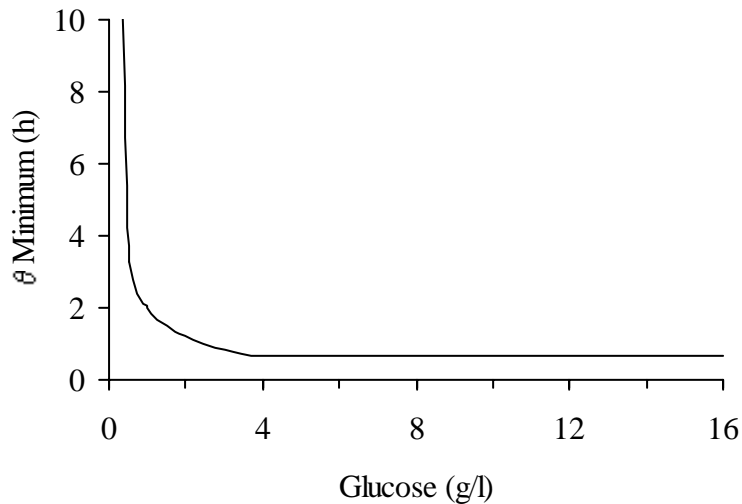
Les différentes courbes de croissance sont représentées sur le même graphe dans la figure 3.



1) Comparer la croissance totale ( $N_s - N_0$ ) et le taux de croissance  $\mu_{max}$  pour les concentrations 32 , 4 et 0,5 mg/ml.

A partir des mêmes données expérimentales, on trace une courbe donnant la variation du temps de génération  $\theta_{minimum}$  en fonction de la concentration initiale en glucose dans le milieu (figure 4).

Figure 4



2) Quelle est la relation entre  $\mu_{\max}$  et  $\theta_{\min}$  ?

3) Pour quelle valeur "seuil" le glucose est considéré comme facteur limitant ?

**III)** La souche est cultivée sur milieu synthétique contenant une source d'azote minérale, des sels minéraux et le glucose à faible concentration. On mesure la densité optique à intervalles de temps réguliers.

1) Au temps 12 h, on ajoute du glucose et on poursuit les mesures. On obtient la courbe de croissance ci-dessous (figure 5a). Interprétez les résultats obtenus.

2) Quelle serait l'allure de la courbe (complétez la figure 5b) si au temps 12 h on avait ajouté du lactose à la place du glucose, sachant que la souche est capable d'utiliser le lactose ?

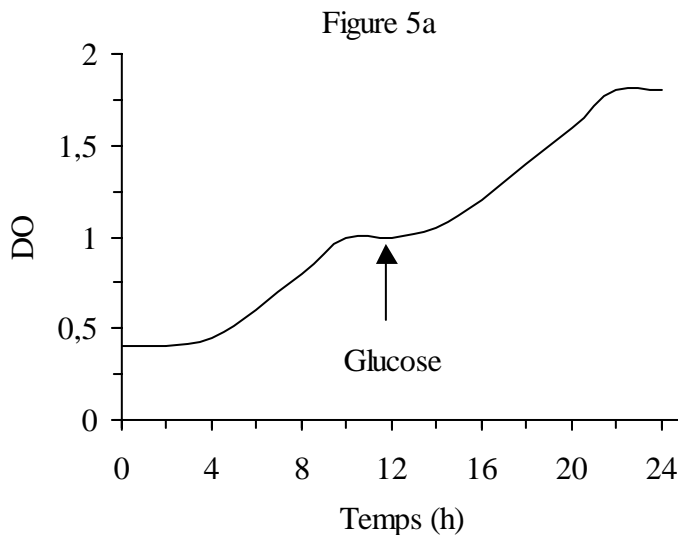
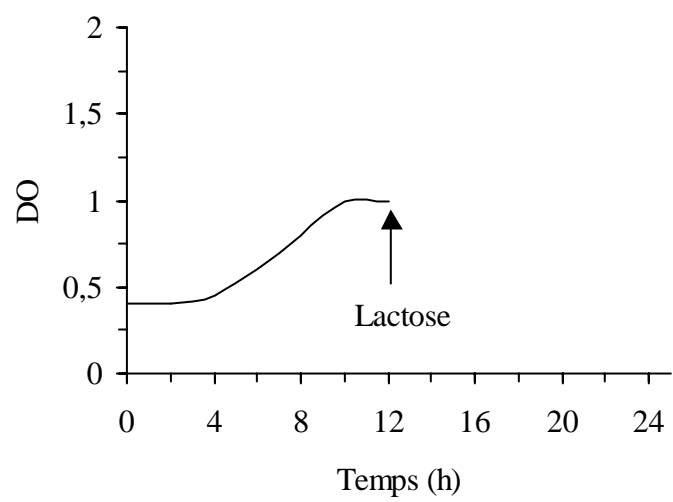


Figure 5b



# CROISSANCE BACTERIENNE

## CORRIGE

### Exercice I :

- 1) Schéma du protocole expérimental (Figure P).
- 2) - **Délimitation** des phases de croissance (Figure 1).
  - **Interprétation :**

#### Phase I : Phase de latence :

- Adaptation au nouveau milieu. Préparation de la machinerie enzymatique nécessaire à la dégradation des nouveaux substrats.
- Détoxification du milieu.
- Pas de division bactérienne ( $\mu = \text{zéro}$ ).

#### Phase III : Phase expérimentale :

- C'est la seule phase de la courbe expérimentale dont l'évolution correspond à la théorie ( $\log_2 N = \mu t + \log_2 N_0$  est une courbe du type  $y = ax + b$  c.à.d une droite de pente  $\mu$ ).
- Les bactéries sont dans leur état physiologique et métabolique optimum. D'où un maximum de synthèses surtout d'ADN et par conséquent un maximum de divisions bactérienne. Le taux de croissance est maximum ( $\mu_{\text{max}}$ ). Ce paramètre qui permet de caractériser la croissance doit être calculé au niveau de cette phase (pente de la courbe).

#### Phase V : Phase stationnaire :

- "Arrêt" de croissance. "Arrêt" de divisions bactérienne ( $m = \text{zéro}$ ).
- Les conditions de culture commencent à devenir défavorables.

#### Phase VI : Phase de déclin :

- Les conditions de culture sérieusement défavorables.
- Il y a mort des bactéries ( $\mu < \text{zéro}$ ).
- Existence possible de formes de résistance (spores) pour les souches qui sporulent.

### **Phase II : Phase d'accélération :**

- Phase intermédiaire entre la phase de latence et la phase exponentielle.
- Il y a accélération du rythme de division bactérienne ( $\mu$  passe de zéro et tend vers  $\mu_{\max}$ ).

### **Phase IV : Phase de ralentissement :**

- Phase intermédiaire entre la phase exponentielle et la phase stationnaire ( $\mu$  passe de  $\mu_{\max}$  et tend vers zéro)..
- Il y a ralentissement du rythme de division bactérienne.

### **3) La phase de latence dépend :**

- De la nature et la richesse du milieu. Pour un milieu riche (naturel) cette phase est courte ou inexistante alors que pour un milieu pauvre (synthétique) elle est longue. Dans le cas de l'exercice la phase de latence est justifiée par le passage d'un milieu riche et naturel (gélose nutritive) à un milieu plus pauvre et synthétique (milieu M).

### **4) La phase stationnaire est conditionnée par :**

- L'épuisement du milieu en nutriments tels que la source de carbone (ex : Glucose dans ce cas).
- L'accumulation de produits toxiques qui ne sont pas nécessairement des déchets mais peuvent être tout simplement des produits métaboliques ( ex : éthanol pour la fermentation alcoolique) qui deviennent inhibiteurs à partir d'une certaine concentration.
- Le développement d'un équilibre physico-chimique défavorable. Ex : variation du pH du milieu, variation de l'oxygénation du milieu ...etc.
- Le remplissage du volume du récipient disponible (il n'y a plus d'espace pour les bactéries).

### **5) Les trois paramètres nécessaires et suffisants pour caractériser la croissance sont :**

Le taux de croissance maximum ( $\mu_{\max}$ ),  $\theta_{\min}$  et la croissance totale ( $N_s - N_0$ ).

- $\mu_{\max}$  est calculé au niveau de la phase exponentielle (Figure 1) par projection sur les axes du graphe.  $\mu_{\max} = \log_2 N_2 - \log_2 N_1 / t_2 - t_1$ . Sa valeur numérique est environ 2 heure<sup>-1</sup>.
- $\theta_{\min} = 1 / \mu_{\max} = 1 / 2 = 0,5$  heure ou 30 minutes.
- $N_s - N_0$  : Se calcule à partir des valeurs sur la Figure 1.  $N_s$  = nombre de bactéries en phase stationnaire et  $N_0$  = nombre de bactéries initiales. Sachant que si  $\log_2 N = x$  donc  $N = 2^x$ .

$$N_0 = 2^{21} = 2 \cdot 10^6 \text{ u.f.c / ml}$$

$$N_s = 2^{25,5} = 47,45 \cdot 10^6 \text{ u.f.c / ml}$$

$$N_s - N_0 = (47,45 - 2) \cdot 10^6 = 45,45 \cdot 10^6 \text{ u.f.c / ml}$$

### **Exercice II :**

- 1) Comparaison de la croissance totale ( $N_s - N_0$ ) et  $\mu_{\max}$  pour les concentrations de glucose de 0,5, 4 et 32 g/l.

[Glucose] (g/l)	$\mu_{\max}$ (heure <sup>-1</sup> )	(Ns - N <sub>0</sub> ) (u.f.c / ml)
0,5	$21,5 - 21 / 2 = 0,25$	$(5 - 2) \cdot 10^6 = 3 \cdot 10^6$
4	$25 - 23 / 1 = 2$	$(25 - 2) \cdot 10^6 = 23 \cdot 10^6$
32	$25 - 23 / 1 = 2$	$(194 - 2) \cdot 10^6 = 192 \cdot 10^6$

- Dans les conditions expérimentales, la croissance totale (biomasse produite) est directement proportionnelle à la concentration du glucose : Plus la concentration du glucose augmente plus la quantité de biomasse produite augmente.
- Pour  $\mu_{\max}$  et donc  $\theta_{\min}$ , l'évolution des courbes  $\mu_{\max} = f([\text{Glucose}])$  et  $\theta_{\min} = f([\text{Glucose}])$  sur la figure 4 montre l'existence de 2 phases :
  - **Phase I** : -  $0 \text{ g/l} < [\text{Glucose}] < 4 \text{ g/l}$ .
    - $\mu_{\max}$  augmente et  $\theta_{\min}$  diminue lorsque la concentration du glucose augmente.
    - Le glucose est donc considéré ici comme facteur limitant la croissance.
  - **Phase II** : -  $[\text{Glucose}] \geq 4 \text{ g/l}$ .
    - $\mu_{\max}$  constant et maximum et  $\theta_{\min}$  constant et minimum lorsque la concentration du glucose augmente.
    - Le glucose n'est donc pas considéré ici comme facteur limitant la croissance.

2) La valeur seuil de limitation est la concentration de glucose de 4 g/l.

### Exercice III:

1) Addition du glucose (figure 5a) :

- Il y a reprise de la croissance après ajout du glucose. Ce dernier est donc épuisé et constitue dans ce cas le facteur limitant la croissance.
- Il y a démarrage immédiat (pas de phase de latence L2) après ajout du glucose. Ceci s'explique par le fait qu'il s'agit du même substrat (glucose) et donc le même milieu et que les bactéries sont encore jeunes (début de la phase stationnaire).
- $\mu_{\max 1} = \mu_{\max 2}$  et  $CT_2 > CT_1$  ( $CT$  = croissance totale). Ceci n'est possible que si la  $[\text{Glucose}]_1$  et  $[\text{Glucose}]_2$  ne sont pas limitantes et que  $[\text{Glucose}]_2 > [\text{Glucose}]_1$  (voir figure 3).

2) Addition du lactose (figure 5b) :

- Il y a reprise de la croissance après ajout du lactose. La source de carbone (glucose épuisé) est donc dans ce cas le facteur limitant la croissance.
- Existence d'une phase de latence L2 après ajout du lactose. Ceci s'explique par le fait qu'il s'agit de substrats différents (lactose au lieu du glucose) et donc de milieux différents.
- $\mu_{\max 1}$  et  $\mu_{\max 2}$  sont différents puisqu'il s'agit de substrats différents (lactose au lieu du glucose).

On peut avoir ce type de courbe pour des cultures en présence de co-substrats carbonés (ex : glucose et lactose ou glucose et peptones). Le glucose plus simple est d'abord utilisé par les bactéries avant d'attaquer le deuxième substrat plus complexe (lactose ou peptone).

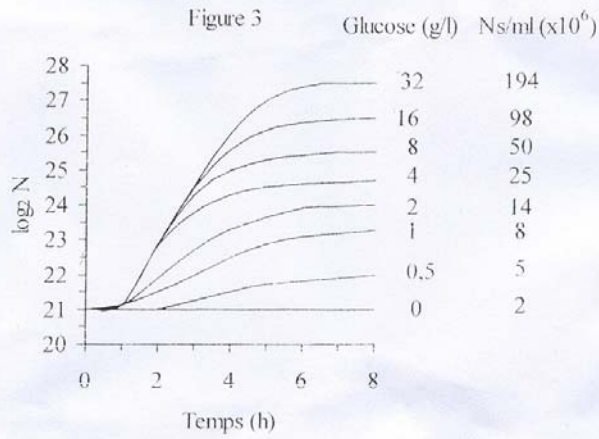
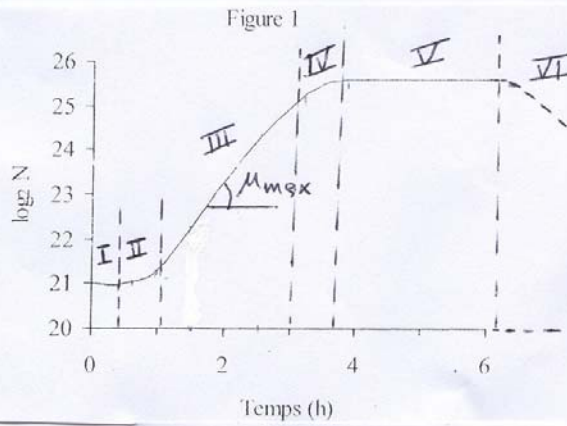
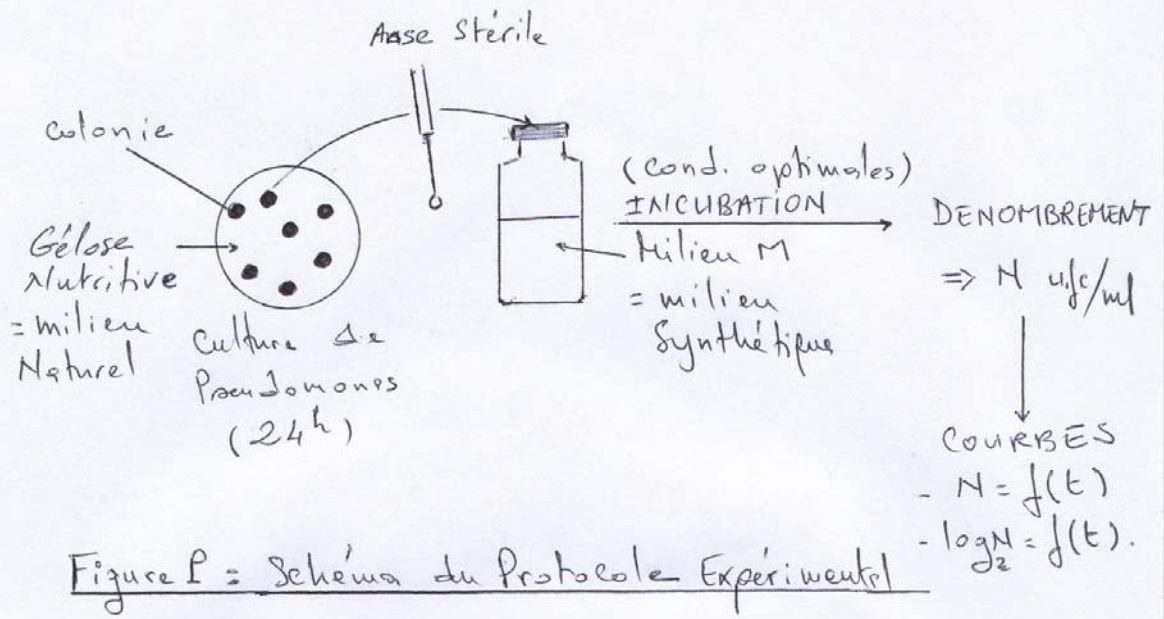




Figure 4

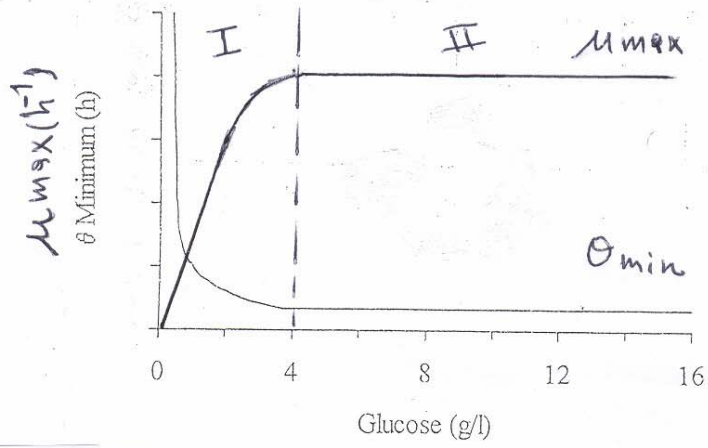


Figure 5a

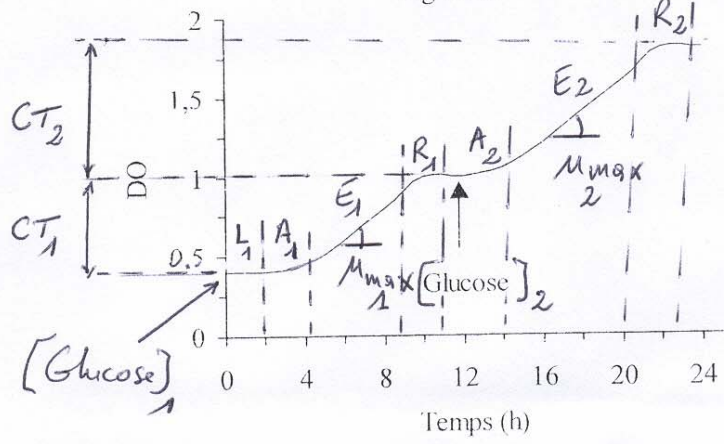


Figure 5b

