

TP-SV-K et SV-A : Regards sur des organismes unicellulaires**Rappel programme :**

- Exploiter des arbres phylogénétiques pour discuter :

- du caractère ancestral de l'état unicellulaire ;
- de l'existence de réversions ;
- de la paraphylie des Eucaryotes unicellulaires.

- Identifier la diversité des organisations unicellulaires (paroi, compartimentation, polarité, cils ou flagelles, etc.) pour positionner les microorganismes dans un arbre phylogénétique à l'aide de :

- préparations microscopiques (colorées ou non) fraîches ou du commerce ;
- clichés de microscopie optique et électronique.

- Conduire l'analyse macroscopique et microscopique d'un biofilm (Nostoc).

Précisions et limites :

Les organismes étudiés dans cette partie ou d'autres parties du programme sont le support de cette étude sur les

unicellulaires : E.coli, Nitrobacter sp., Rhizobium sp., Saccharomyces cerevisiae, paramécies, diatomées, Chlamydomonas sp., Trypanosoma sp., Plasmodium sp.

Colorations utilisables mises en œuvre par les étudiants : Gram, lugol, rouge neutre, vert de méthyle.

Une séance de travaux pratiques est mixte avec le thème portant sur la phylogénie.

1.- Des unicellulaires à l'état procaryote

Il existe deux grands groupes de procaryotes : les archées et les bactéries (**voir figure 1**). Les phylogénies des archées et des bactéries sont principalement établis sur des caractères moléculaires (ARN 16S et 23S notamment).

Rappel : la paroi cellulaire des bactéries est faite de peptidoglycanes contenant de l'acide muramique (un dérivé de N acétyl glucosamine). L'ARN de transfert initiateur de la traduction porte un N-formylméthionine. La coloration de Gram permet de séparer deux groupes de bactéries en fonction de leurs parois, mais ces deux groupes n'ont pas de valeur systématique (*les bactéries gram + partageraient un ancêtre commun proche cependant ?*)

La majorité des bactéries ont une taille allant de 1 à 3 µm. Les trois bactéries au programme font parties du groupe des protéobactéries et sont des bactéries gram négatives.

La classification des bactéries repose essentiellement sur des critères moléculaires (ARN 16S et 23S + autres gènes).

1.1. Escherichia coli : exemple de bactérie hétérotrophe (protéobactéries γ).

Escherichia coli est une bactérie que l'on trouve dans l'intestin des mammifères, Homo sapiens compris. Elle compose environ 80 % de la flore intestinale aérobie chez l'homme, où elle constitue l'espèce dominante du tube digestif. Une majorité de souches de E. coli est inoffensive mais il existe cependant quelques souches pathogènes.

E. coli est un des organismes modèles de la biologie, et donc un des organismes les plus étudiés. Son génome est entièrement séquencé et c'est un outil de choix pour l'évolution expérimentale (**figure 2**).

1.2. Nitrobacter : un exemple de bactérie chimolithotrophe (protéobactérie α).

Nitrobacter se trouve dans les sols ou dans les eaux et participent à la nitrification (voir TP cycles N et C). Elle peut changer de forme (bâtonnet ou poire). Elle est chimolithotrophe et oxyde les nitrites en nitrates ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$) exemple des bactéries du sol (**figure 3**).

1.3. Rhizobium : bactérie hétérotrophe libre ou symbiotique (protéobactéries α).

Le genre Rhizobium rassemble des bactéries aérobies vivant dans les sols et qui peuvent établir des symbioses avec des racines des plantes de la famille des Fabacées. La forme symbiotique de la bactérie est morphologiquement différente de la forme libre = bactéroïde (**figure 4**).

C'est une bactérie hétérotrophe et elle ne réalise la fixation du diazote atmosphérique que lors de la symbiose avec une racine de Fabacées (forme bactéroïde dans une nodosité), les bénéfices sont alors réciproques : glucides pour la bactérie, azote pour la plante : **lien avec TP Cycle de l'azote à faire.**

Les nodosités et le détail de la fixation du diazote seront vus au TP cycles du carbone et de l'azote

2.- Des unicellulaires eucaryotes.

Les eucaryotes sont parfois séparés en deux groupes en fonction du nombre de flagelles : les **unicontes** (un seul flagelle) et les **bicontes** (cellules à deux flagelles). Cette division est de plus en plus remise en cause (voir figure 10).

Il existe une très grande variété d'unicellulaires eucaryotes.

2.1. Les unicellulaires autotrophes : voir TP SV-K Diversité des algues.

Sont au programme : Chlamydomonas (lignée verte = archéplastidés, Chlorophytes), diatomés (Straménopiles = hétérocontes, Bacillariophycées).

2.2. Les unicellulaires hétérotrophes.

a. La paramécie : un unicellulaire cilié (Alvéolates)

La paramécie fait partie du groupe des ciliés, eucaryotes unicellulaires hétérotrophes caractérisées par la présence à leur surface de nombreux cils, au moins à un moment de leur cycle. Elles sont de grandes tailles (200 μm) et pourvus de deux noyaux un diploïde (micronucléus) et un polyploïde (macronucléus), **figure 5**.

b. Les levures : des champignons ascomycètes unicellulaires.

Saccharomyces cerevisiae est un eucaryote unicellulaire, se présentant sous forme de cellules isolées, ovoïdes à arrondies, longues de 6 à 12 μm et larges de 6 à 8 μm . À l'état naturel, on retrouve *Saccharomyces cerevisiae* principalement sur les fruits comme les raisins et sur la grande majorité des écorces d'arbres.

Les levures peuvent vivre en présence de dioxygène et respirent ou en l'absence de dioxygène et fermentent (fermentation alcoolique).

Les levures vivent sous deux formes : haploïde ($n = 16$) ou diploïde ($2n = 32$). Elles se reproduisent de façon asexuée par bourgeonnement (mitose inégale) et par reproduction sexuée. La forme diploïde produit par méiose des spores dans un asque. Les formes haploïdes produisent des gamètes. **Figure 6**.

Les levures interviennent dans la formation de nombreuses boissons (vin, bière), et du pain et des pâtes levées.

c. Deux exemples d'unicellulaires parasites : le plasmodium et le trypanosome.

- Plasmodium (apicomplexés, alveolata = alvéolobiontes).

Les apicomplexés (anciennement sporozoaires) sont des parasites extra ou intracellulaires d'animaux. Dans le cas du plasmodium, c'est un parasite intracellulaire. Ils forment des spores = zoïtes qui servent à la dissémination et à la transmission d'un hôte à l'autre. La forme sporozoïte est la forme infectieuse du cycle, c'est une forme mobile qui mesure environ 10 μm sur 1 μm . Il y a des organites spécialisés constituant un complexe apical original.

Plasmodium falciparum est responsable du paludisme (= malaria) qui infecte plus de 200 millions de personnes dans le monde (pour comparaison, le VIH infecterait 35 millions de personnes). Le plasmodium est transmis par pique d'un moustique du genre anophèle, le moustique est qualifié de vecteur. **Figure 7**.

La cellule de Plasmodium absorbe des solutés dissous à l'aide de transporteurs présents sur la membrane plasmique. Il y a absorbotrophie, mais il peut avoir aussi phagotrophie.

- Trypanosome (Discobés = discicristés).

Le trypanosome est un unicellulaire absorbotrophe parasite extracellulaire du groupe des Discodes, qui est également le groupe de l'euglène, unicellulaire chlorophyllien. Ce groupe est caractérisé par des cellules très mobiles, dotées de deux flagelles (un grand et un petit), la membrane cellulaire est sous tendue de feuilletts typiques de microtubules corticaux, les crêtes des mitochondries sont discoïdes.

Les espèces du genre *Trypanosoma* provoquent la maladie du sommeil (en Afrique) et la maladie de Chagas (en Amérique du Sud). Le vecteur est un insecte piqueur (mouche tsé-tsé du genre *Glossina* en Afrique, punaise du genre *Rhodnius* en Amérique). Le trypanosome vit dans le sang (sans rentrer dans les globules rouges : parasite extracellulaire à la différence du plasmodium qui est intracellulaire) et la lymphe. Progressivement, le parasite déborde les défenses de la personne infectée et atteint d'autres organes, notamment le système nerveux central mais aussi le cœur, les reins. **Figure 8**.

Les relations hôtes parasites : aussi bien pour le trypanosome que pour le plasmodium, l'existence de parasites à temps de génération très court dans le milieu intérieur est un puissant facteur de sélection du système immunitaire adaptatif qui recrute des mécanismes moléculaires similaires à ceux impliqués dans la recombinaison méiotique.

3.- Les unicellulaires dans l'arbre phylogénétique : figures 1 et 11 à 13.

Suivant temps disponible, observation complémentaires d'unicellulaires hétérotrophes : foraminifères, radiolaires.

A l'aide des caractères dégagés par l'étude des organismes au programme, replacer les dans les arbres fournis.

Discuter des deux possibilités pour l'état unicellulaire : ancestral ou dérivé (plésiomorphe ou apomorphe).

Discuter de la place des levures

Discuter de la notion de groupes polyphylétique et paraphylétique

Remarque : anciennement, les unicellulaires eucaryotes hétérotrophes étaient regroupés sous le nom de protozoaires.

Discuter cette notion de protozoaires.

4.- La notion de biofilm bactérien

Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Les bactéries peuvent tout aussi bien adhérer à une surface biotique (par exemple cellules de la muqueuse, dents...) qu'à une surface abiotique (outils chirurgicaux avant stérilisation, poignée de porte...).

Plusieurs espèces différentes de bactéries peuvent s'unir dans un biofilm. **Figures 9 et 10.**

Le nostoc est une cyanobactérie filamenteuse (donc pluricellulaire...) qui peut former un biofilm à la surface des eaux. Le nostoc est formé par une file de cellule chlorophyllienne (voir figure), avec des temps en temps des cellules à la paroi épaissie = hétérocyste, possédant la nitrogénase, enzyme permettant la fixation du diazote atmosphérique.

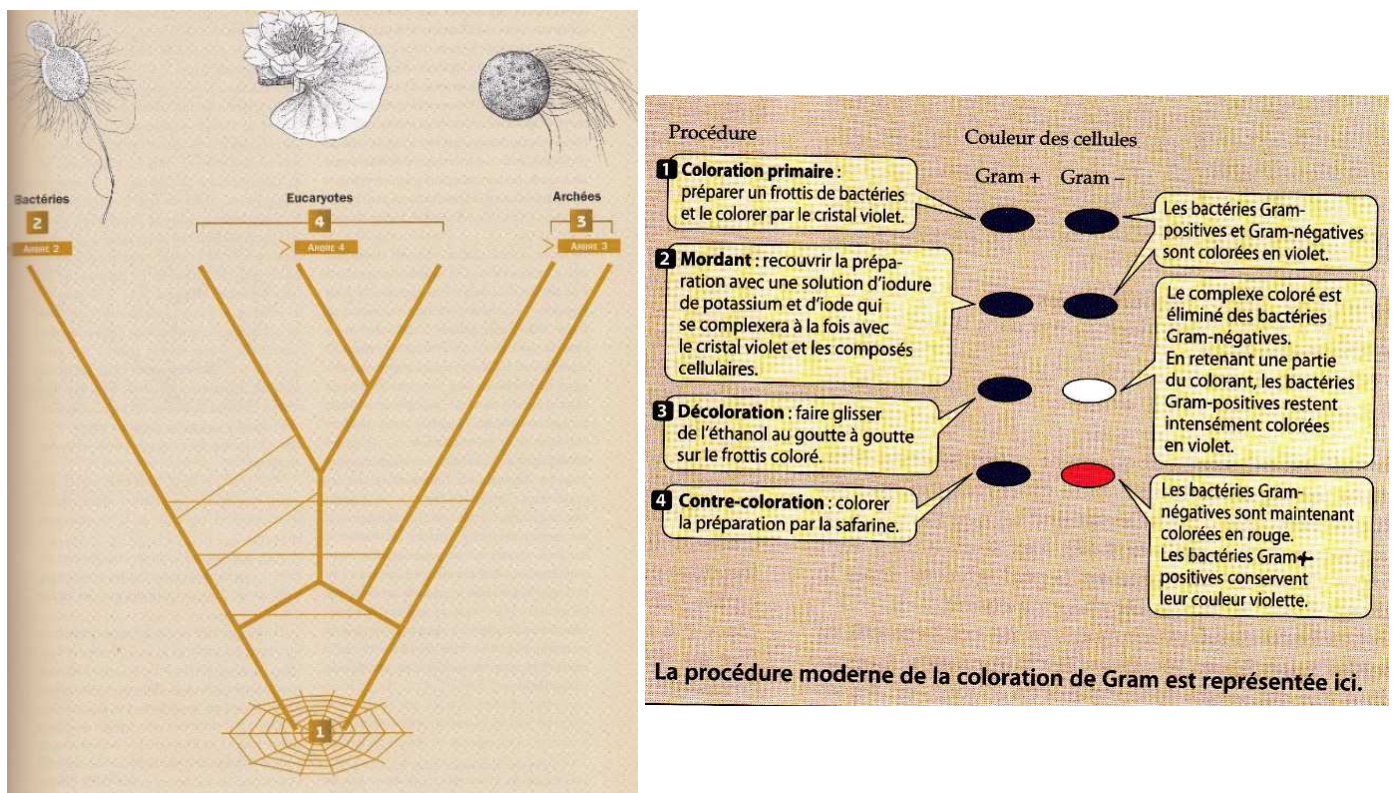
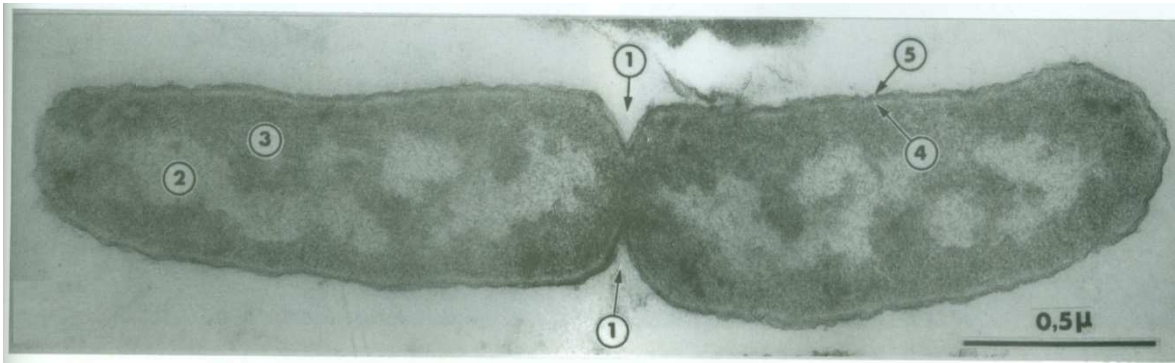


Figure 1 : rappel des 3 grands groupes du vivant. Adroite : rappel coloration de Gram

A gauche : dans Lecointre Le Guyader, classification phylogénétique du vivant, Belin, quatrième édition.

A droite : dans Perry et al, Microbiologie. 2004. Dunod.



MET *E. coli* en division. J.P. Gourret 1987 Documents de microscopie électronique. Université de Rennes I / Publications de l'INRAP.

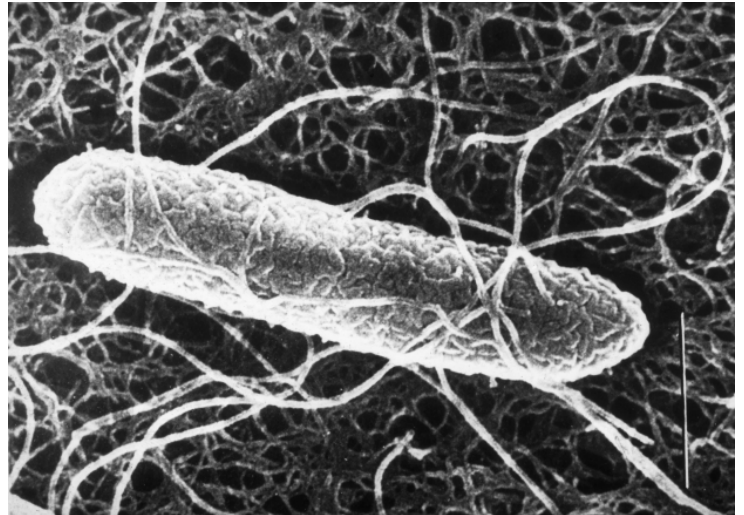
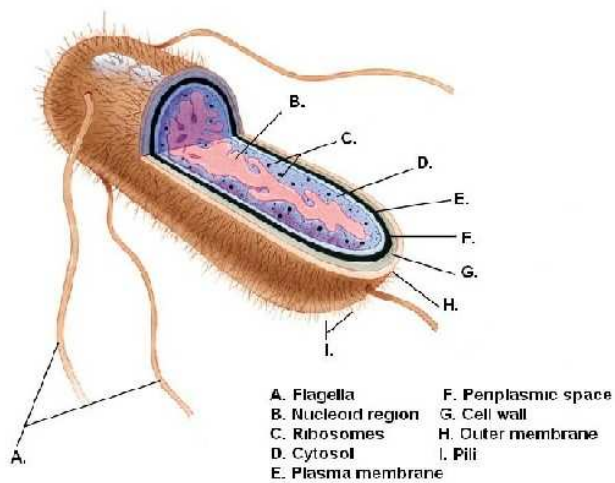


Figure 2. *Escherichia coli* (eubactéries). A gauche : schéma dans http://www.steadyhealth.com/articles/Escherichia_coli_infection_Symptoms_Treatment_a146.html A droite : *E. coli* en MEB : http://www6.inra.fr/experimentation_sante_animale/L-Institut-d-Experimentation-en-Infectiologie-Animale/Competences-et-savoir-faire/Production-de-poussins-axeniques

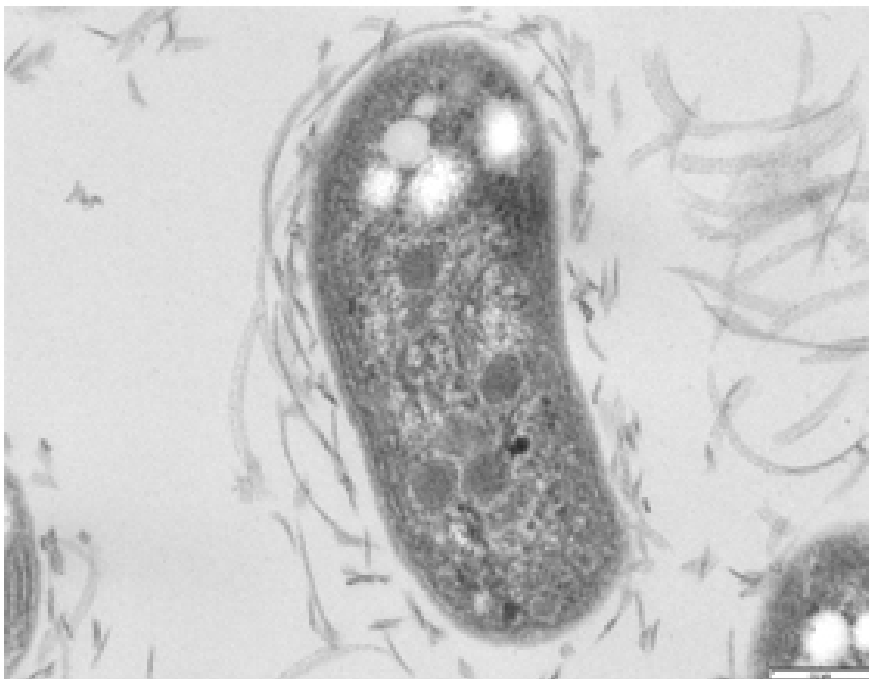
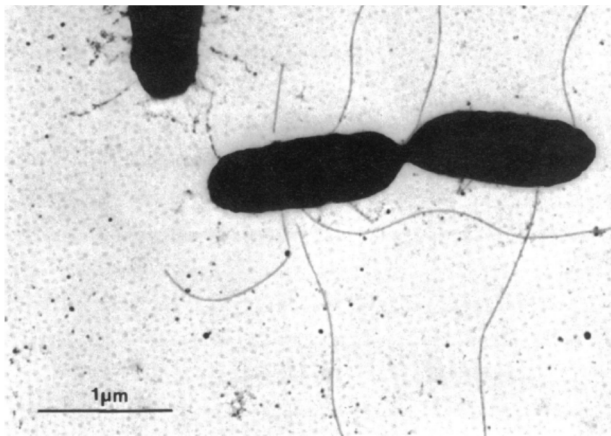
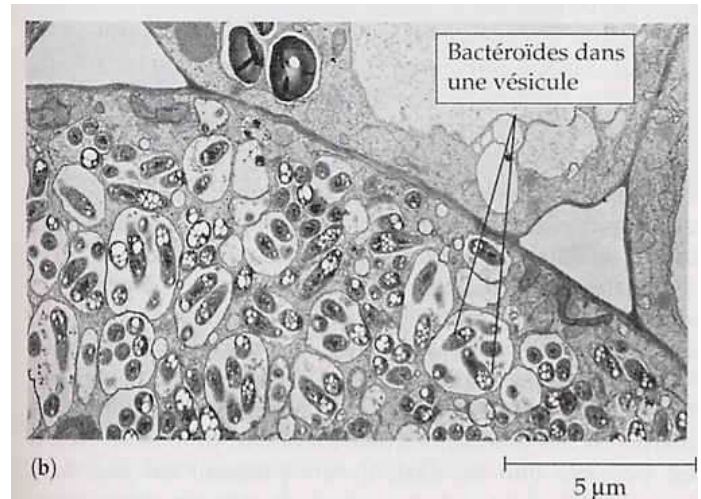
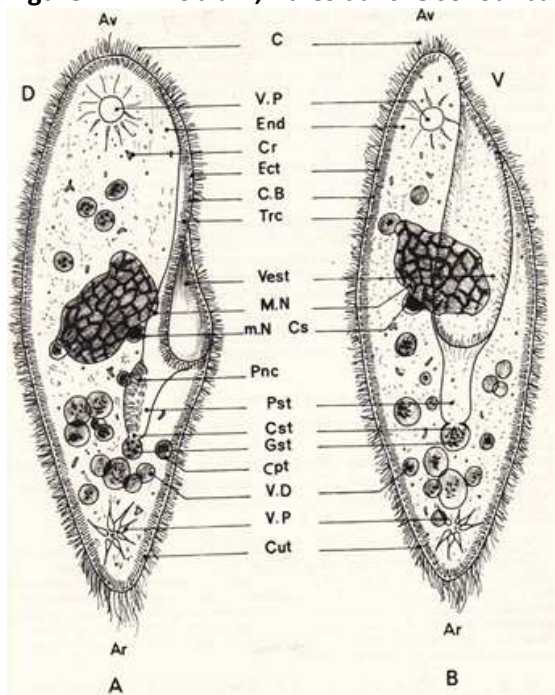


Figure 3 : *Nitrobacter* (source : wikipedia)



Forme libre dans le sol (Source : Bal et al)

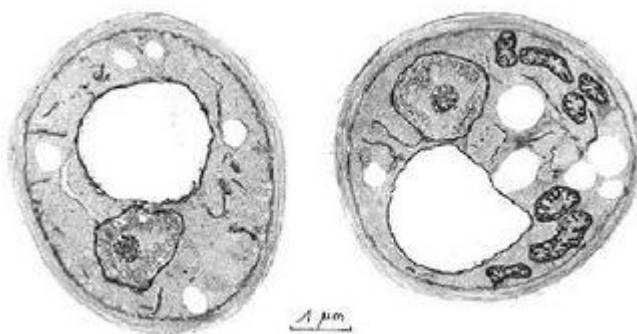
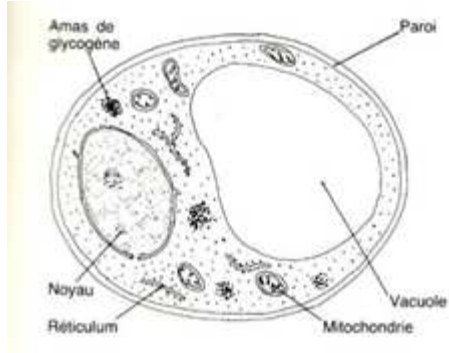
A droite : bactéroïde

Source : <http://biosol.free.fr/liens/rhizo2003/nodulation.htm>**Figure 4 : Rhizobium, libres dans le sol ou bactéroïde dans une cellule d'une nodosité.****Fig. 6-1 : *Parametium caudatum* : organisation générale. A. : vue latérale droite; B. : vue ventrale.**

Av. : extrémité antérieure; Ar. : extrémité postérieure; C. : cil; C.B. : alignement des corpuscules basaux; Cpt. : région du cytoprocte; Cr. : cristalloïde; Cs. : caryosome; Cst. : cytostome; Cut. : cuticule; D. : face dorsale; Ect. : ectoplasme; End. : endoplasme; Gst. : gastriole ou vacuole digestive en formation; M.N. : macronucléus; m.N. : micronucléus; Pnc. : pénuculi visibles par transparence; Pst. : péristome; Trc. : trichocystes; V. : face ventrale; V.D. : vacuole digestive; Vest. : vestibule; V.P. : vacuole pulsatile (la vacuole antérieure est en diastole; la vacuole postérieure est en systole).



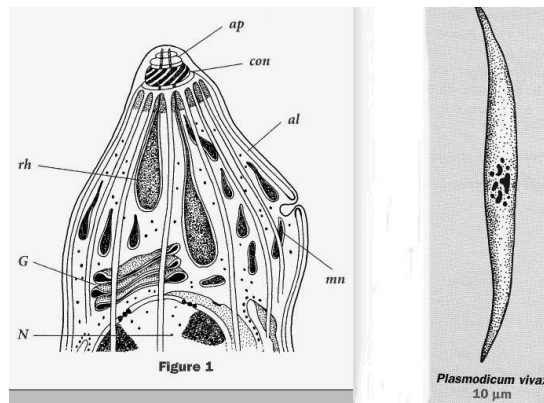
Source : TP de biologie animale. A. Beaumont et C. Cassier et

<http://www.snv.jussieu.fr/> <http://forum.mikroskopie.com/> pour l'image de Paramécie.**Figure 5 : paramécie (eucaryotes, groupe des ciliées, alvéolobiontes).****Figure 6 : Saccharomyces cerevisiae. A droite : MET (d'après <http://benoit.urgelli.free.fr>), à gauche, schéma d'interprétation dans Robert et et Catesson. Biologie végétale tome 2. Doin. 1990.**

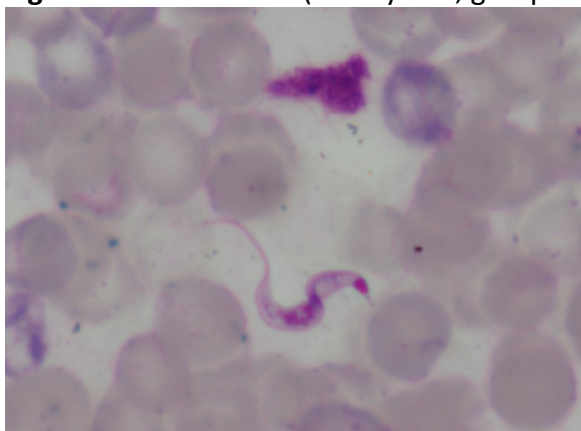


<http://www2.ac-lyon.fr/>

Figure 7 : Plasmodium (eucaryotes, groupe des apicomplexés, alvéolobiontes).

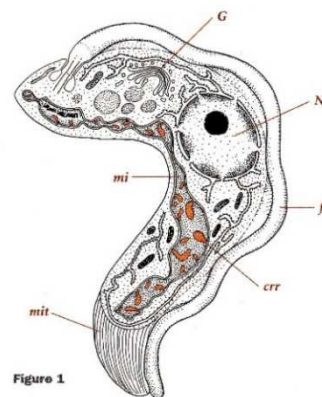


Dans G. Lecointre et H. Le Guyader

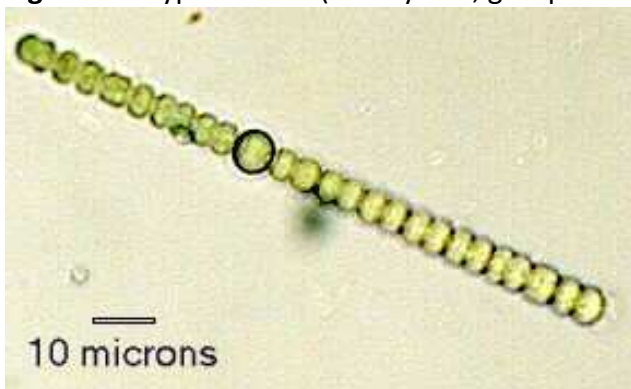


<http://www2.ac-lyon.fr/>

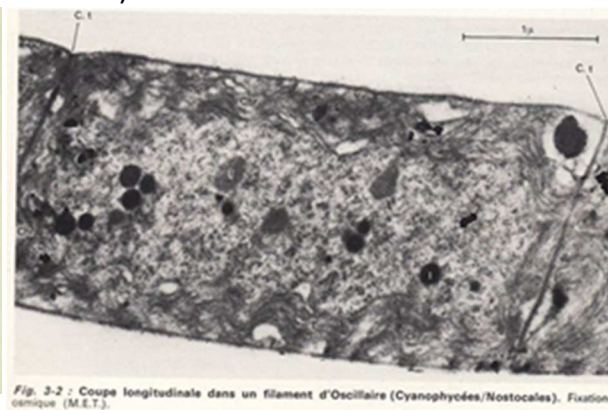
Figure 8 : Trypanosome (eucaryotes, groupe des discobés).



Dans G. Lecointre et H. Le Guyader.



Anabaena. Source : <http://www.nps.gov/>



Dans Gorenflot, précis de botanique.

Eutrophisation liée à des cyanobactéries :

Source : Image de droite : <http://www.agencess04.qc.ca/>

Schéma simplifiée d'une cyanobactérie :

<http://svt.ac-dijon.fr/>

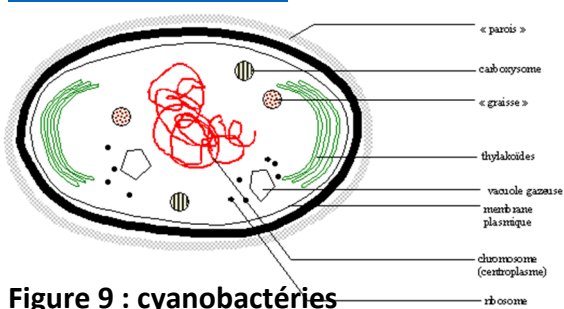


Figure 9 : cyanobactéries



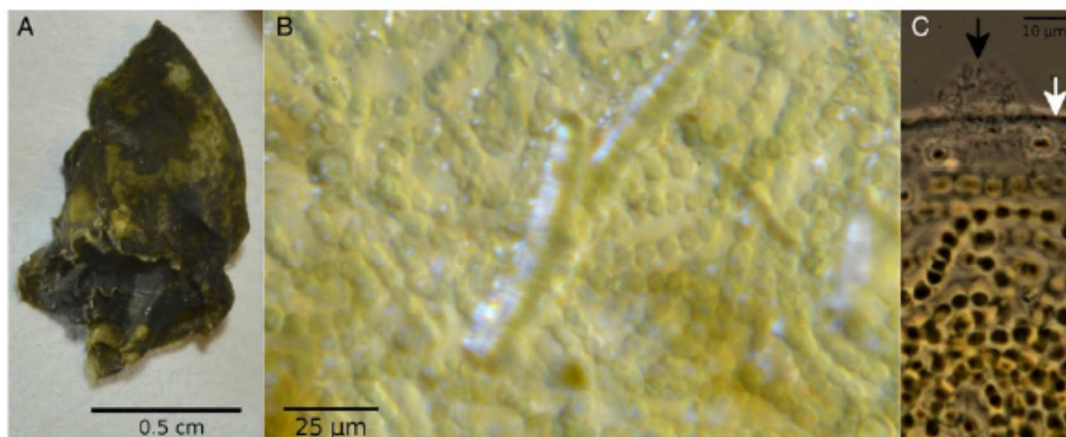


Fig. 2. *N. commune*: dry biofilm (A); stereo microscope micrograph of wet surface with visible *N. commune* cell filaments (B); phase contrast micrograph of bacterial microcolony (black arrow) on EPS surface (white arrow) (C).

Cyanobactérie et biofilm : Source Jänchen et al. 2016.

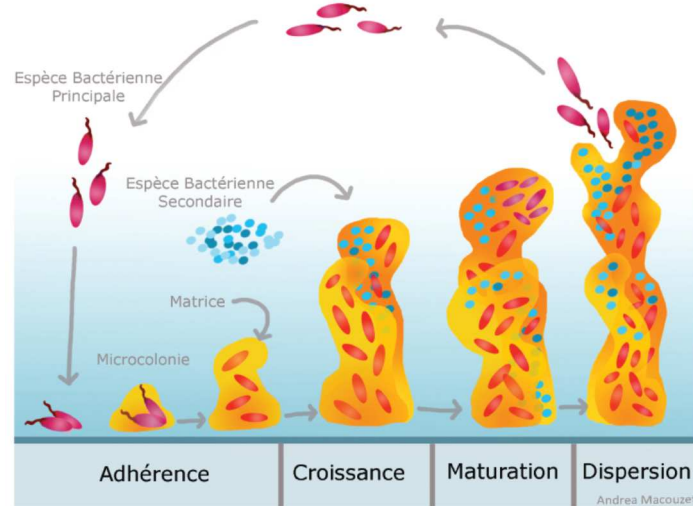


Figure 2. Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien.

Figure 10 : étapes de réalisation d'un biofilm. Source : Tremblay et al. Les biofilms bactériens. The canadian Journal of Veterinary Research. 2014.

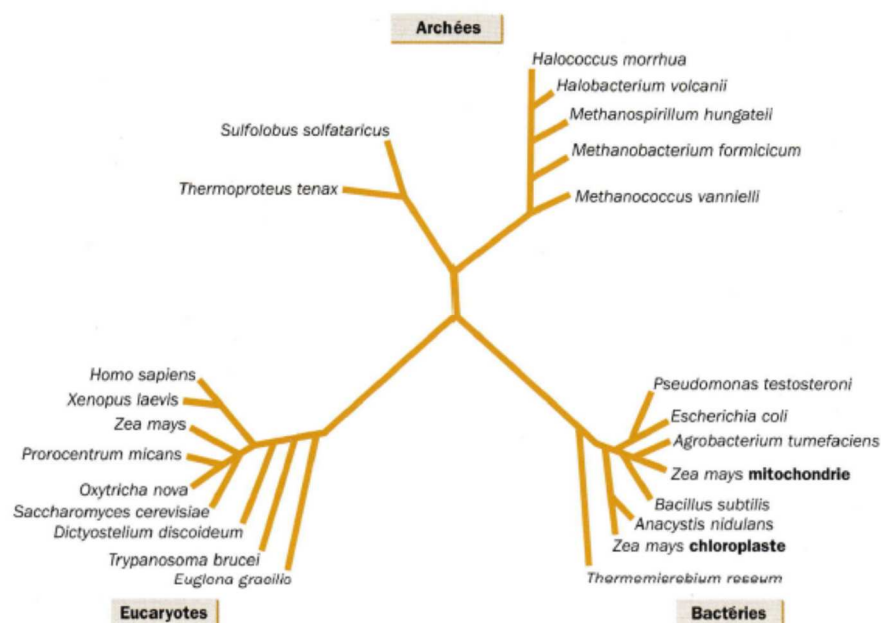


Figure 11 : arbre non raciné établi d'après les ARN 16S et 23S. Source : Lecointre, Le Guyader. Belin.

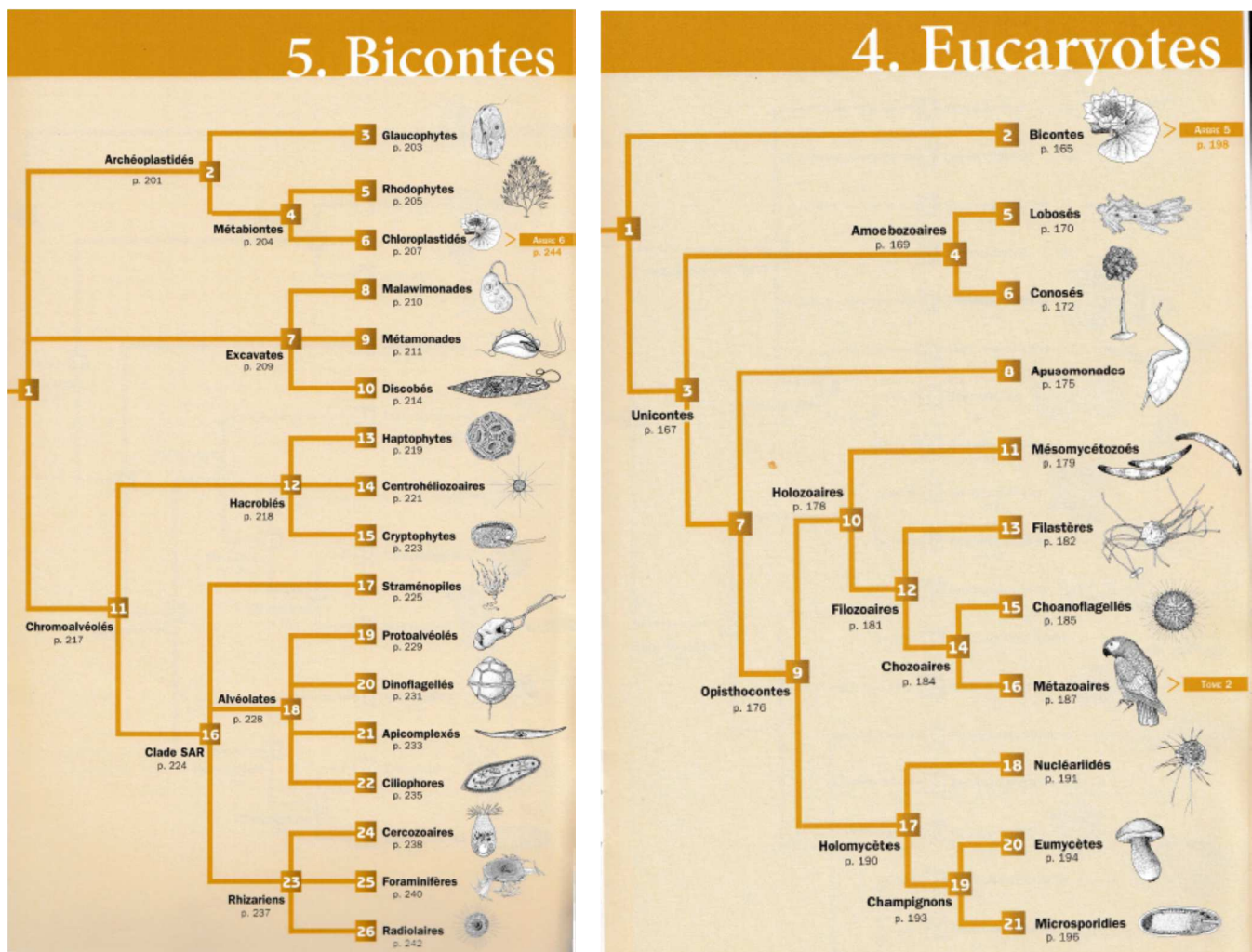


Figure 12 : Classification des bicontes et des eucaryotes. Source : Lecointre, Le Guyader. Belin, édition 2016.

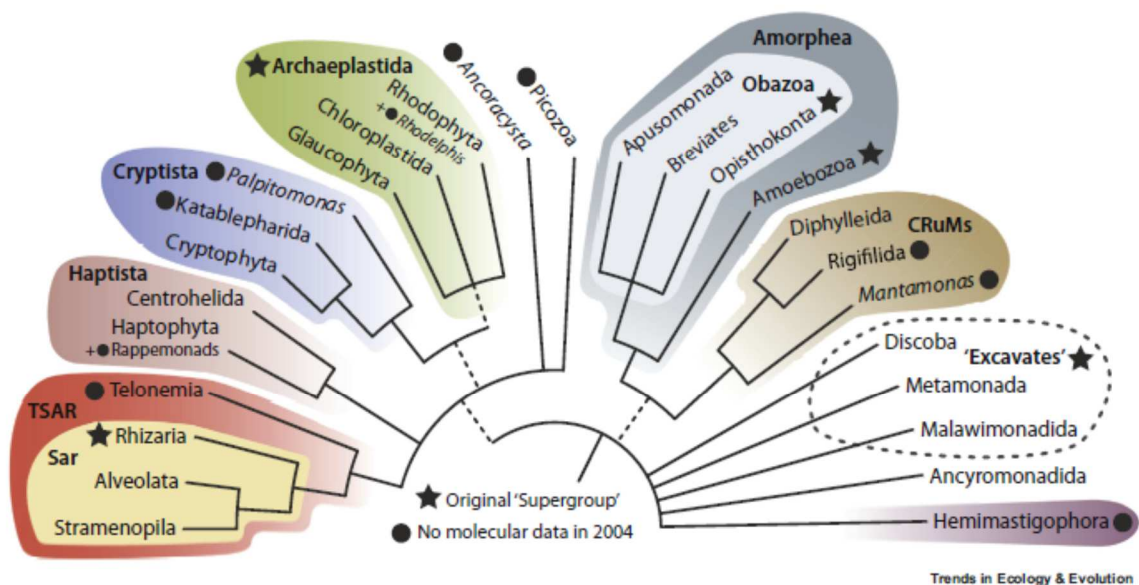


Figure 1. The New Tree of Eukaryotes.

Figure 13 : Arbre des eucaryotes, version 2020. Source : F. Burki et al. The new tree of Eukaryotes. Trend in ecology and evolution. Janvier 2020. Dans cette version, la notion de bicontes et d'uniconte disparaît.

Rappel : La mémorisation des arbres phylogénétiques n'est pas au programme, seule l'exploitation des arbres peut être demandée.