



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES**

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire

SESSION 2015

DURÉE DE L'ÉPREUVE : 2h00

COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

Dictionnaire anglais-français, calculatrice ; tout autre matériel est interdit.

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.

Ce sujet comporte 6 pages numérotées de 1/6 à 6/6.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2015
Biologie des procaryotes et des eucaryotes U4.1 Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	Page : 1 / 6

Les biofilms et leur utilisation

Très présents dans l'environnement, les biofilms sont des associations hétérotypiques de microorganismes parfaitement organisées en structures tridimensionnelles complexes, sur des surfaces inertes ou vivantes. Les communautés microbiennes y vivent en symbiose, et les rôles coopératifs des individus qui les composent peuvent être très spécialisés et différents de ceux rencontrés chez les formes « libres ».

1. Le biofilm foliaire : un habitat particulier (3 points)

Les feuilles de plantes constituent des surfaces vivantes sur lesquelles des biofilms microbiens peuvent être retrouvés. Les bactéries majoritairement rencontrées sont des *Pseudomonas* (35%) et *Xanthomonas campestris* (15 %), les autres se répartissent en une vingtaine d'espèces différentes, dont des bactéries du genre *Erwinia*.

La cohésion entre les espèces bactériennes se réalise grâce aux substances extra-pariétales ou EPS (*Extra Polymeric Substances*).

1.1. La vie en communauté.

1.1.1. La symbiose, est un exemple d'association étroite entre deux ou plusieurs organismes différents.

Préciser, en rappelant leurs caractéristiques, les trois grands types de relation qui existent chez les êtres vivants.

1.1.2. Proposer l'intérêt d'un biofilm de type.

1.1.3. Citer un exemple d'EPS bactérien.

1.2. La fixation du diazote.

Parmi les genres présents dans un biofilm foliaire, on rencontre la bactérie diazototrophe *Erwinia* d'autant plus fréquemment que les sols sont pauvres en azote.

1.2.1. Proposer une définition de diazototrophe.

1.2.2. Indiquer le nom de l'enzyme catalysant de la fixation du diazote. Préciser le type de réaction dont il s'agit.

2. *Pseudomonas syringae* et la neige artificielle (7 points)

Certains microorganismes présents sur les feuilles des arbres peuvent jouer un rôle dans la formation des cristaux de glace, lors de l'étape de nucléation de ces cristaux. En grossissant, ces cristaux provoquent alors des blessures, favorisant la colonisation du végétal par la bactérie.

La neige se forme à de basses températures. En « ensemencant » les nuages par des particules servant de base à la cristallisation, il est possible d'obtenir de la neige artificielle à des températures plus élevées, voisines de 0°C.

Les particules utilisées sont un concentré de protéines appelées INa (*Ice Nucleation-active protein*) et produites entre autres par *Pseudomonas syringae*. La protéine agit directement sur les molécules d'eau, les orientant de façon à accélérer le processus de cristallisation.

Les conditions de production de cette protéine font l'objet d'études.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2015
Biologie des procaryotes et des eucaryotes U4.1 Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	Page : 2 / 6

2.1. Cultures, milieux et conditions de culture.

Le **document 1** indique les conditions de conservation et de culture de *Pseudomonas Syringae*

- 2.1.1. Préciser les types trophiques et les exigences éventuelles de la souche, ainsi que ses conditions de culture. Justifier les réponses.
- 2.1.2. Indiquer un mode de stérilisation de l'air entrant.
- 2.1.3. Nommer le procédé de culture utilisé. Justifier la réponse.

2.2. Croissance et nucléation

La croissance et la production des points de nucléation par les bactéries en culture est suivie au cours du temps (**document 2**).

2.2.1. À partir de ce document :

- déterminer les différentes phases de la croissance ;
- proposer une hypothèse expliquant l'évolution de la culture à partir de 24 h ;
- estimer la concentration bactérienne minimale permettant une température T50 de nucléation de -10°C .

2.2.2. Pour les premières 24 h de culture, calculer les paramètres cinétiques de croissance : $Q_{X\text{ expo}}$ (vitesse spécifique de croissance de la souche) et G (temps de génération).

2.3. Origine de la nucléation

Des analyses comparatives quant à la présence et l'expression d'un « *ice gene* » au sein des populations bactériennes montrent que celui-ci dérive d'un ancêtre commun par transfert horizontal, impliquant la conjugaison bactérienne. Il est à l'origine de la synthèse d'une protéine INa ayant une forte affinité pour l'eau, et présente dans la membrane externe.

- 2.3.1. Indiquer trois caractéristiques principales de la conjugaison bactérienne.
- 2.3.2. Schématiser les enveloppes des bactéries impliquées dans la conjugaison. Positionner la protéine INa.

3. *Xanthomonas campestris* et le E415 : xanthane (8 points)

Parmi les autres bactéries présentes dans les biofilms, *Xanthomonas campestris*, bactérie aérobie, synthétise du xanthane, polysaccharide ramifié extracellulaire formant une couche visqueuse à l'extérieur de la paroi cellulaire.

Une fois extraite, cette molécule, stable à la chaleur et à l'acidification, peut être utilisée comme additif alimentaire (E415) pour ses propriétés épaississantes et gélifiantes.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2015
Biologie des procaryotes et des eucaryotes U4.1 Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	Page : 3 / 6

3.1. Procédés traditionnels de culture

Les premiers procédés de culture étaient soit des procédés continus en milieu renouvelé, soit des procédés discontinus en milieu alimenté (*fed-batch*).

- 3.1.1. Comparer sous forme d'un tableau le fonctionnement optimal de ces deux procédés, sur les points suivants : volume de culture, alimentation en substrat, soutirage de culture, concentration en biomasse et en produit (xanthane) dans la cuve.
- 3.1.2. Proposer une hypothèse justifiant le choix d'un procédé continu pour la production de xanthane.

Le **document 3** présente l'évolution de deux vitesses spécifiques (consommation du glucose et production de xanthane) au cours des deux procédés précédents.

- 3.1.3. Écrire la formule littérale du taux de dilution (*dilution rate*) **D**, en culture continue. Préciser les unités et la signification des grandeurs utilisées.
- 3.1.4. À partir de la formule proposée en 3.1.3 et du principe général de la culture continue, expliquer ce que représente le taux de dilution.
- 3.1.5. Calculer, pour un taux de dilution $D = 0,1 \text{ h}^{-1}$, les rendements de conversion du glucose en xanthane des deux procédés. Conclure sur le choix du procédé à utiliser dans ces conditions.
- 3.1.6. Préciser le phénomène observé en *fed-batch* pour $D > 0,1 \text{ h}^{-1}$.

3.2. Amélioration des procédés

Différents points peuvent être optimisés dans cette production, notamment le procédé de culture et la méthode de séparation biomasse - produit.

- 3.2.1. L'utilisation de procédés discontinus se multiplie et un brevet déposé concernant le dispositif d'agitation est proposé dans le **document 4**. Schématiser ce dispositif, en représentant les mouvements d'écoulement du milieu de culture. Justifier son utilisation dans le cadre de la production de xanthane.
- 3.2.2. Le **document 5** présente un système utilisant des cellules immobilisées. Identifier les différentes parties du système (n° 1 à 8).

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

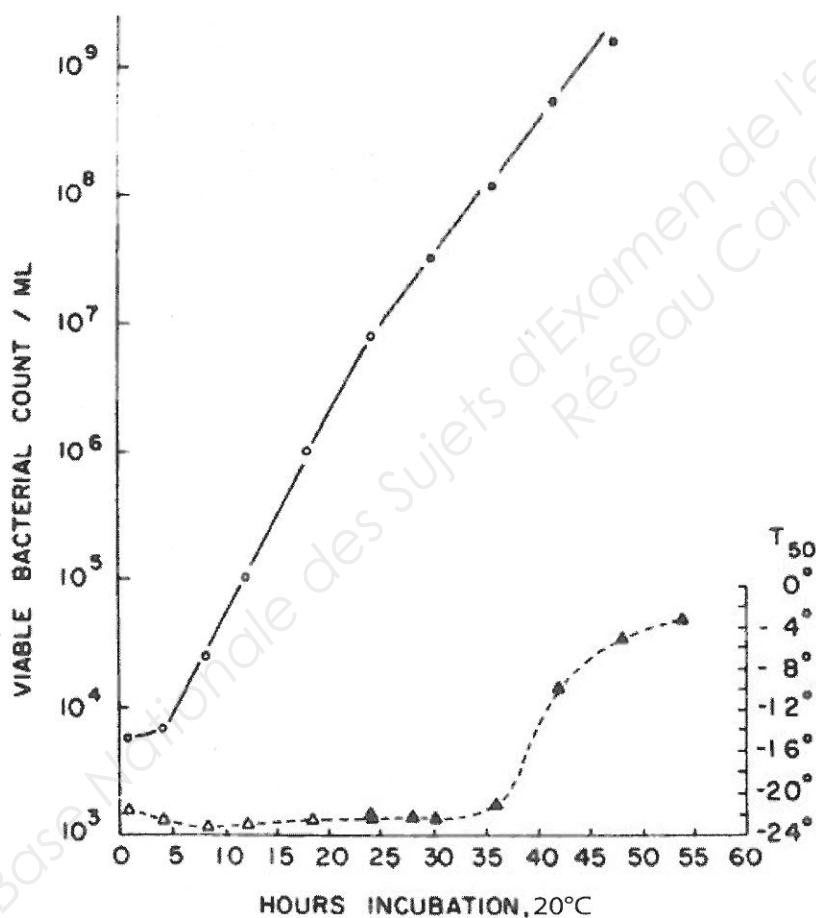
Document 1 Culture de la souche *Pseudomonas syringae*

Les souches sont conservées sur des géloses trypticase soja (GTS) en pente à température ambiante. Le milieu de culture de base utilisé pour tous les tests de production de points de nucléation est le bouillon Citrate de Koser (composition ci-après). Les cultures sont réalisées à température de 20 à 25 °C en fioles d'Erlenmeyer, aérées par bullage d'air grâce à un tube de verre passant à travers le bouchon de coton, et plongeant dans le milieu.

Bouillon Citrate de Koser

Citrate de sodium	3,00 g.L ⁻¹
Phosphate d'ammonium et de sodium	1,50 g.L ⁻¹
Phosphate de potassium	1,00 g.L ⁻¹
Sulfate de magnésium	0,20 g.L ⁻¹
pH final à 25°C	6,7 ± 0,2

Document 2 Suivi de croissance et de production des points de nucléation



Symbols: ○, 0- to 24-h cultures; ●, 24- to 54-h cultures; Δ, freezing point (T₅₀) 0- to 24-h culture; ▲, freezing point (T₅₀) 24- to 54-h culture.

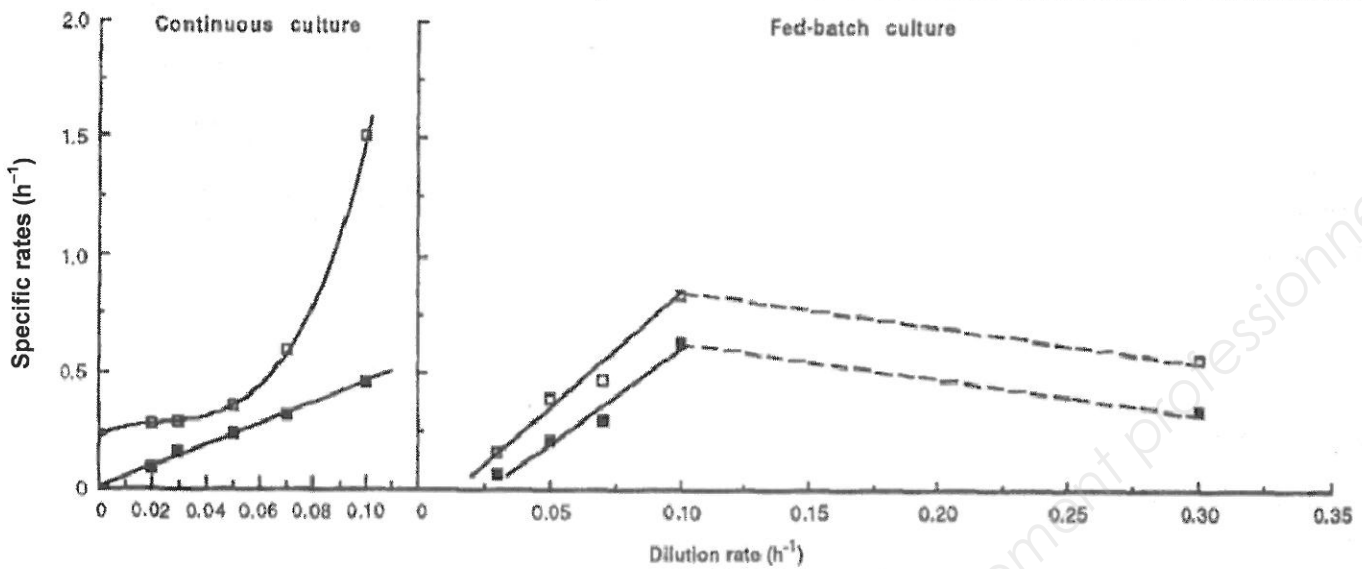
La production de points de nucléation est suivie selon le mode opératoire suivant :

1. Dépôt des gouttes de la culture sur un bloc d'aluminium ;
2. Refroidissement progressif du bloc ;
3. Enregistrement de la température de congélation.

La température T₅₀ est déterminée par l'observation de la congélation de 50% de l'échantillon.

Applied Microbiology, Sept. 1974, p. 456-59

Document 3 Culture de *X. campestris* en culture continue et en culture alimentée



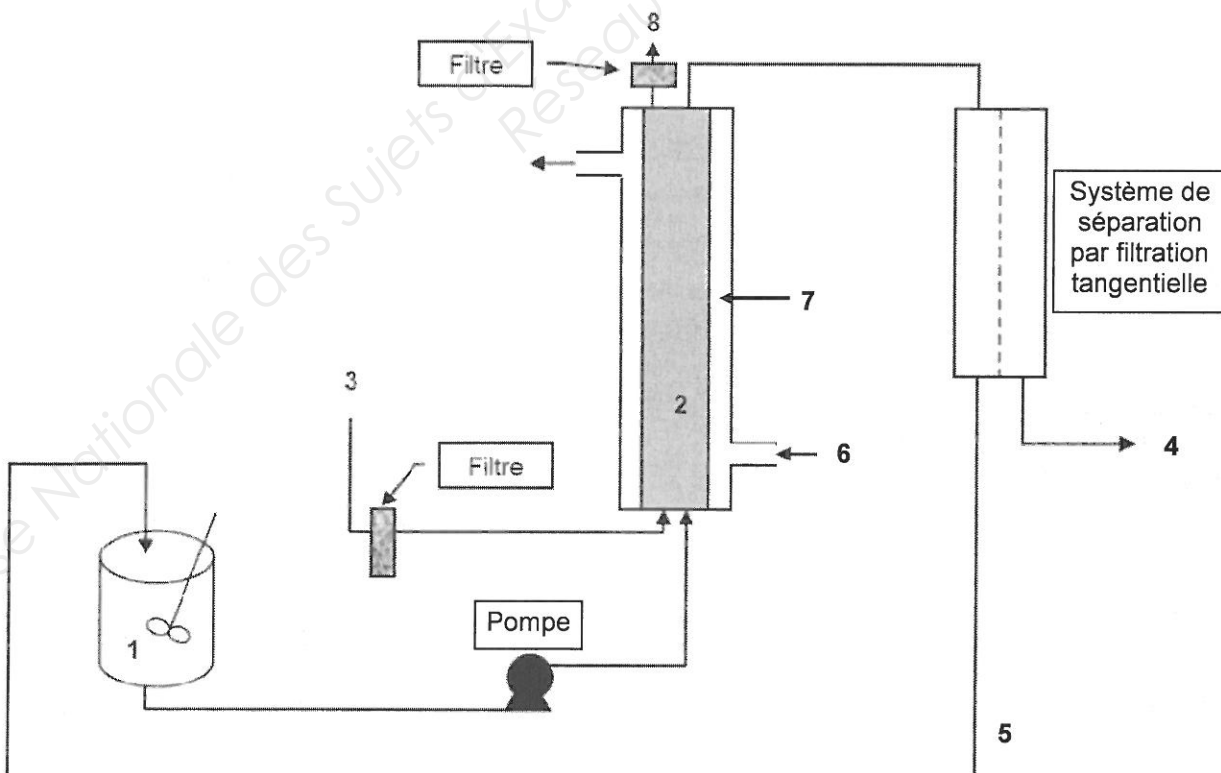
Metabolic plot showing □, glucose specific consumption rate; ■, xanthan specific production rate

Applied Microbiology, 1993, 38, p. 709-713

Document 4 Brevet n°US5972695 (extrait)

“An aerated fermenter for the production of xanthan gum is provided with an upper helical impeller and a lower Rushton turbine impeller and an agitator shaft for driving these impellers.”

Document 5 Culture continue avec cellules immobilisées



Malaysian journal of Microbiology, 2008, 4, p. 1-5