
 <p>Ecole Supérieure de Technologie Béni-Mellal</p>		 <p>جامعة السلطان مولاي سليمان Université Sultan Moulay Slimane</p>			
<b>Filière : Agro-industrie</b>		<b>1<sup>ère</sup> année cycle DUT</b> <b>Module: Biologie Générale/ Microbiologie</b>		<b>Professeur:</b> <b>Khalid BOUTOIAL</b>	
<b>TD de Microbiologie</b>					

## EXERCICE 1

Dans une culture de *Listeria Monocytogènes* en milieu liquide. On mesure le nombre N de bactéries par cm<sup>3</sup> de milieu en fonction du temps. On trace la courbe de croissance Ln N=f(t) ci-dessous (courbe O).

1- commenter l'allure générale de cette courbe et analyser les différentes phases ?

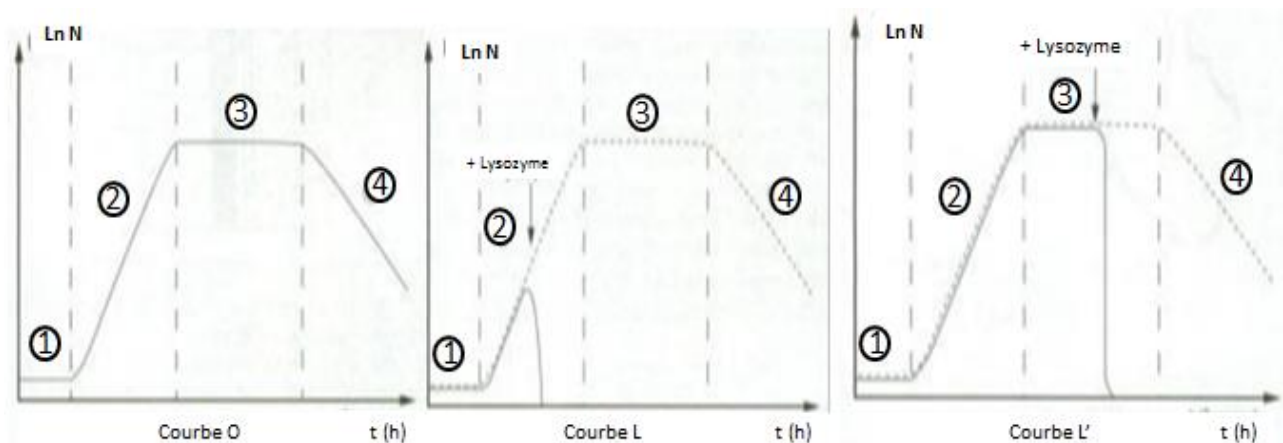
On veut étudier alors l'action du lysozyme. Pour cela on en ajoute :

- dans une culture identique en phase 2, et l'on obtient la courbe L.
- dans une culture identique en phase 3, et l'on obtient la courbe L'.

Ces courbes sont données ci-dessous.

2- analyser ces courbes ?

3- les interpréter en précisant l'action du lysozyme sur les bactéries ?



## EXERCICE 2

On centrifuge 25 mL d'une culture de *Bacillus Megaterium* prélevés en fin de phase exponentielle de la croissance.

Le culot de centrifugation est remis en suspension dans 20 mL de tampon phosphate 0,04 mol.L<sup>-1</sup>, pH 7,2 de façon à laver les cellules bactériennes.

Après avoir de nouveau centrifugé, décanté et recommencé deux fois le lavage, on remet le culot de cellules bactériennes en suspension dans 2,5 mL de tampon phosphate pH 7,2.

A 1 mL de la suspension cellulaire, on ajoute 1 mL de solution de sachharose à 2 mol.L<sup>-1</sup> : tube n° 1.

A 1 mL de la suspension cellulaire, on ajoute 1 mL d'eau distillée : tube n° 2.

Après homogénéisation, les deux tubes sont mis à incuber pendant 2 minutes à 37°C.

Les états frais réalisés sur les deux tubes sont schématisés sur la figure 1.

1- comparer les résultats des deux observations microscopiques ? Justifier votre réponse.

On ajoute dans les deux suspensions précédentes (tube 1 et 2) 0,2 mL de lysozyme.

On examine au microscope optique les deux suspensions après 5, 15 et 30 minutes d'incubation à 37°C

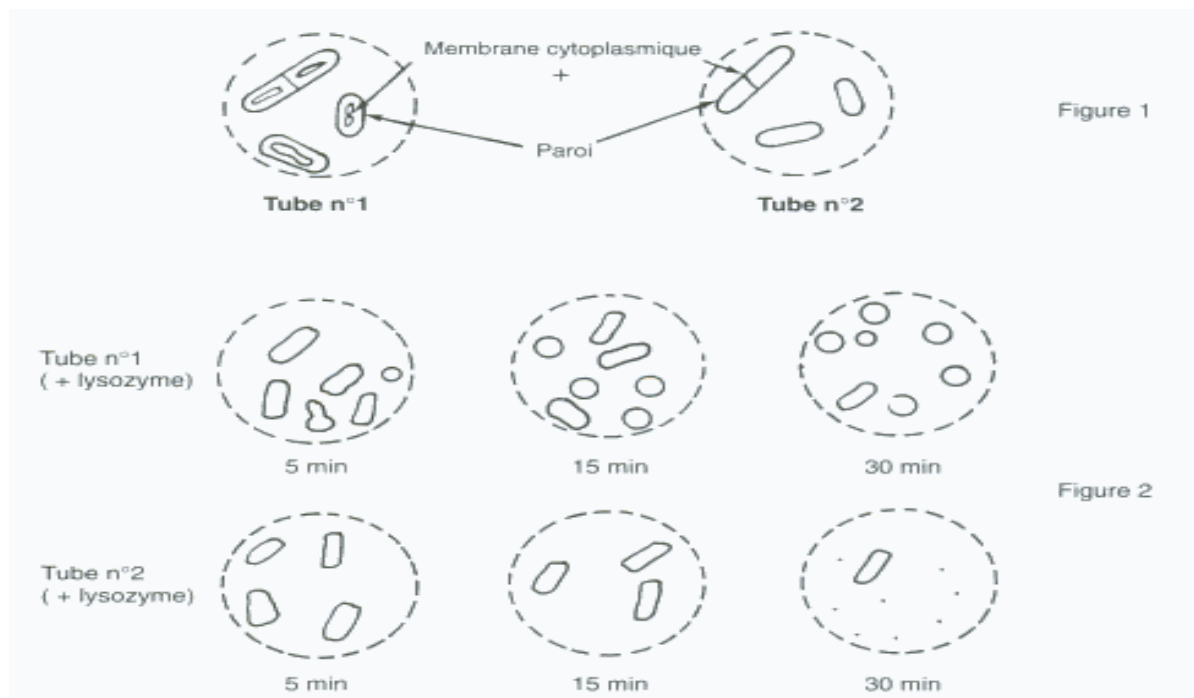
Les observations microscopiques sont schématisées sur la figure 2.

2- Que deviennent les cellules bactériennes dans les tubes 1 et 2.

3- Préciser le rôle de lysozyme ?

4- Interprétez les observations microscopiques en fonction des conditions expérimentales imposées aux tubes 1 et 2.

Les mycoplasmes ne sont pas sensibles au lysozyme. Pourquoi ?



Schémas des observations microscopiques des deux expériences

### **EXERCICE 3**

On étudie la croissance d'une souche d'Acetobacter.

1- décrire une technique qui permette d'étudier l'évolution de la population bactérienne en fonction du temps ?

2- la souche d'Acetobacter est cultivée dans un milieu liquide contenant les substrats appropriés et de l'acide para-aminobenzoïque (PAB), indispensable à cette bactérie.

Le tableau ci-dessous donne le nombre de bactéries par unités de volume (N) à différentes temps de culture.

2.1. Tracer la courbe  $\ln N = f(t)$  ?

2.2. Indiquer sur cette courbe les différentes phases de la croissance ?

2.3. Mesurer directement sur la courbe tracée le temps de génération ?

2.4. Calculer le taux de croissance ?

Tableau 1: nombre de bactéries en fonction du temps

t (heures)	N
0	$10^5$
1	$10^5$
2	$10^5$
3	$10^5$
4	$1,38.10^5$
5	$2,51.10^5$
6	$5,75.10^5$
7	$1,32.10^6$
8	$3,02.10^6$
9	$6,92.10^6$
10	$1,51.10^7$
11	$2,51.10^7$
12	$3,63.10^7$
13	$4,17.10^7$
14	$4,57.10^7$
15	$5,01.10^7$
16	$5,25.10^7$
17	$5,25.10^7$