

# Effets des facteurs environnementaux du drainage minier acide sur les membranes d'*Acidithiobacillus ferrooxidans*

Nadia C.S. Mykytczuk

*Département de biologie*

*Université Laurentienne (Sudbury, Ontario)*

Leo G. Leduc

*Département de biologie*

*Université Laurentienne (Sudbury, Ontario)*

Jack T. Trevors

*Département de biologie environnementale*

*Université de Guelph (Guelph, Ontario)*

Garry D. Ferroni

*L'école de médecine du Nord-Ontario*

*Université Laurentienne (Sudbury, Ontario)*

L'exploitation minière de terrains métallifères produit de vastes paysages, visiblement stériles de roches et de rejets miniers. Cet environnement extrême est caractérisé par des températures saisonnières variables, un pH acide et des niveaux élevés de métaux toxiques tels que le cuivre, le nickel, le zinc, l'uranium, etc. Ce milieu peut s'étendre sur de vastes zones avec la production du DMA, qui est en fait l'eau acide, chargée de métaux lourds infiltrant et polluant les eaux de surface et souterraine (Brierley, 1982; Rawlings 2002). Ces conditions extrêmes physiques et chimiques rendent difficile le maintien des fonctions biologiques, affectant l'équilibre des écosystèmes. Mais quand nous étudions cet environnement plus en profondeur, nous trouvons une communauté diversifiée de bactéries qui peuvent résister aux conditions extrêmes et, dans certains cas, contribuer au problème (Leduc et al., 2002).

Ces espèces de bactéries extrémophiles, par exemple l'*Acidithiobacillus ferrooxidans*, peuvent non seulement survivre, mais aussi mieux se développer sous ces conditions avantageuses. L'*A. ferrooxidans*, qui est une chimiolithotrophe Gram négative, gagne son énergie métabolique de l'oxydation du fer ou du soufre réduit (Leduc et Ferroni, 1994). Par ses processus métaboliques *A. ferrooxidans* utilise le  $\text{Fe}^{2+}$  trouvé dans des minéraux sulfurés et produit le  $\text{Fe}^{3+}$ , qui est à son tour un oxydant puissant.

L'ion ferrique peut indépendamment catalyser davantage l'oxydation des minéraux en libérant le soufre qui réagit alors avec l'eau, créant l'acide sulfurique ainsi que les métaux toxiques (Rawlings, 2002). Ces deux processus contribuent à la création du DMA. L'*A. ferrooxidans* joue alors un rôle central dans le problème environnemental, car il contribue au DMA. Par contre, il y a un aspect positif, où cette bactérie est aussi employée comme agent pour récupérer les métaux des minerais pauvres qui n'ont pas été efficacement enlevés par des processus physico-chimiques établis (Brierley, 1982; Rawlings, 2002; Suzuki, 2001). Les méthodes de lixiviation bactérienne sont effectuées plus efficacement par des souches qui ont la capacité de survivre sous différentes conditions, comme la présence des différents métaux lourds ou une température plus élevée.

Pour mieux comprendre ces deux aspects menant à l'industrie minière, il faut étudier la façon dont l'*A. ferrooxidans* est capable de tolérer ces conditions extrêmes. Il est attendu que la membrane cytoplasmique joue un rôle principal dans la survie des micro-organismes, qui ne sont pas isolés des facteurs physiques et chimiques extrinsèques (Hazel et Williams, 1990; Bloom et al., 1991; Konings et al., 2002; Denich et al., 2003). Selon la perspective thermodynamique, la membrane cytoplasmique est la frontière entre l'environnement externe et le système ouvert vivant d'une cellule bactérienne (Trevors, 2003). Comme point de contact principal avec l'environnement, la flexibilité dans la capacité adaptative de la membrane cytoplasmique et ses composants est une cause déterminante primaire de survie des cellules. La fluidité de la membrane, qui est en grande partie un produit de la composition d'acides gras, est importante pour maintenir l'intégrité, la perméabilité et la viabilité de la cellule en présence de conditions potentiellement nocives (Beney et Gervais, 2001; Konings et al., 2002). Plusieurs fonctions biologiques essentielles se fondent sur une membrane de phase optimale, celle qui est liquide-cristalline. Afin de conserver une membrane assez fluide, les bactéries ont des mécanismes par lesquels elles peuvent changer le degré de saturation ou la taille de leurs acides gras. Mais il y a une limite où la membrane cytoplasmique ne peut pas résister aux facteurs environnementaux. Chez les extrémophiles, ces limites sont souvent plus grandes que celles qu'on trouve typiquement.

L'étude de la membrane cytoplasmique est effectuée par plusieurs méthodes qui nécessitent l'extraction de la membrane ou des lipides ainsi que la diffraction de rayon X, calorimétrie différentielle à balayage, et la résonance magnétique nucléaire. Une méthode qui peut également utiliser un extrait de lipides, mais n'exige pas nécessairement le traitement préparatoire des cellules et présente de nombreux avantages par rapport à ces autres méthodes, est la polarisation fluorescente (Borenstain et Barenholz, 1993; Denich et al., 2003; Trevors, 2003). La polarisation de la membrane cytoplasmique est

employée comme évaluation de la fluidité de la membrane (Borenstain et Barenholz, 1993; Trevors, 2003). La membrane cytoplasmique bactérienne reste dans un état liquide sous conditions optimales, mais peut devenir plus ou moins liquide dans le cas de changements des conditions externes (Hazel et Williams, 1990; Denich *et al.*, 2003). La polarisation de la membrane est un excellent paramètre pour mesurer les effets de plusieurs facteurs environnementaux. En utilisant une sonde fluorescente telle que 1,6 diphényl-1, 3, 5-hexatine (DPH) qui s'insère dans la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes, on peut obtenir des données en temps réel virtuel sur la fluidité de la membrane (Trevors, 2003). Le rapport entre la polarisation de la sonde et la fluidité de la membrane cytoplasmique est inverse. Dans la mesure où la fluidité de la membrane cytoplasmique diminue, la valeur de polarisation augmente, et vice versa. La rotation de la sonde fluorescente dans la membrane cytoplasmique dépend de la structure de la membrane. Dans une membrane de phase rigide, la sonde ne tourne pas librement à cause d'interactions augmentées entre les chaînes d'acides gras. Dans la membrane liquide cristalline, les interactions d'acides gras sont réduites, ce qui permet plus de mouvement des chaînes, et donc plus de rotation de la sonde. Quand la sonde tourne librement, la fluorescence devient dépolarisée et la lumière est émise dans toutes les directions (Trevors, 2003).

Dans notre recherche, nous voulons caractériser le mode d'adaptation d'*A. ferrooxidans* en utilisant plusieurs expériences qui observeront les changements de la fluidité de la membrane de souches qui ont différentes caractéristiques d'adaptation une fois exposées aux effets stressants. Nous prévoyons que la différence de fluidité dans la membrane cytoplasmique dans différentes souches d'*A. ferrooxidans* sera significative après avoir été exposée aux variables telles que des basses températures, une carence en nutriments et différentes concentrations de cuivre et de nickel. Notre hypothèse suppose que les membranes de souches qui se sont adaptées aux limites plus extrêmes de ces variables seront différentes des souches qui sont plus sensibles aux mêmes extrêmes. En employant la méthode de la polarisation fluorescente, nous mesurons la fluidité et le point de transition de phase de la membrane cytoplasmique. Le but de cet article est de présenter les résultats des analyses préliminaires.

## Méthodes et matériels

### *Souches bactériennes*

Un ensemble de quatre souches d'*A. ferrooxidans* précédemment isolées des mines d'uranium Denison (D6 et D7) et Rio Algom (R1) à Elliot Lake en Ontario, et d'une mine de nickel de Falconbridge (F1), de Falconbridge en Ontario, ont été utilisées. Ces souches particulières ont été choisies sur la

base de différentes limites de résistance à certains métaux lourds caractérisées par Leduc *et al.*, (1997), aussi bien que sur la base de différentes limites de température de croissance ayant une capacité psychrotrophe ou mésophile (Ferroni *et al.*, 1986; Leduc *et al.*, 1993) (Tableau 1). Spécifiquement, la souche F1 démontre une tolérance élevée au  $\text{Cu}^{2+}$  et au  $\text{Ni}^{2+}$ , tandis que D7 démontre une faible tolérance aux deux métaux. La souche D6 porte une tolérance élevée pour  $\text{Cu}^{2+}$ , mais très faible pour  $\text{Ni}^{2+}$ , tandis que R1 démontre l'inverse, avec une tolérance plus élevée pour  $\text{Ni}^{2+}$ . La caractérisation thermique indique des capacités psychrotrophes dans D6 et D7, tandis que F1 et R1 sont strictement mésophiles. Ces caractéristiques ont été confirmées en utilisant le taux de croissance déterminé sous conditions optimales et expérimentales en employant la méthode spectrophotométrique décrite par Karamanev *et al.*, (2002).

**Tableau 1**  
**Caractéristiques de la température de croissance et de résistance aux métaux de souches d'*A. ferrooxidans***

Souche	Limite de croissance (°C)	CIM* Cuivre (mM)	CIM Nickel (mM)
D6	5	150	<50
D7	5	5	>15
F1	10	150	200
R1	10	>40	>150

\*CIM, concentration inhibitrice minimale

Toutes les cultures d'*A. ferrooxidans* ont été développées dans le milieu liquide de Tuovinen-Kelly (TK), ajusté aux conditions nécessaires, en triple exemplaires jusqu'au point où les cellules étaient en phase de croissance exponentielle. La température et le niveau de métaux à examiner sont présentés au tableau 2. La température était contrôlée dans des incubateurs giratoires à bain d'eau. Les métaux ont été ajoutés au milieu en forme de sels sulfatés. La carence en nutriments a été effectuée par une incubation prolongée sous des conditions invariables et sans addition du milieu frais. La culture témoin pour toutes les expériences a été préparée en milieu TK à pH 2,1 sans aucun métal lourd additionnel et incubé à la température ambiante ( $26,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ).

**Tableau 2**  
**Définitions des variables de stress examinées pour chaque**  
**souche d'*A. ferrooxidans***

Souche	Température (°C)	Cuivre (mM)	Nickel (mM)	Carence en nutriments (jours)
D6	5	15, 135	5, 45	27, 44, 96
D7	5	0.5, 4.5	1.5, 16.5	27, 44, 96
F1	10	15, 135	20, 180	27, 44, 96
R1	10	4, 36	15, 135	27, 44, 96

### *Analyses de polarisation fluorescente*

L'analyse a été exécutée telle qu'élaborée par Vincent *et al.* (2004) avec quelques modifications. Des cellules d'*A. ferrooxidans* ont été filtrées avec des filtres de Whatman No1 pour enlever le fer qui a été précipité sous forme de jarosite. Ensuite, les cellules ont été séparées du milieu liquide par centrifugation à 15 000 x g pendant 10 minutes à 5° C, pour ensuite procéder aux deux étapes de lavage dans un amortisseur (15mM Tris-HCl, pH 2,1). Les cellules lavées ont été suspendues dans le même amortisseur à une DO<sub>600nm</sub> de 0,2. Un échantillon de 3,0 mL de la culture suspendue a été transféré dans une cuvette de quartz dans laquelle 1,0 µL de la solution DPH préparée en 12 mM tétrahydrofuran (*Molecular Probes*, Eugene, Oregon, États-Unis) a été ajoutée et incubée dans l'obscurité pendant 10 minutes à la température ambiante. La polarisation fluorescente a été mesurée avec un spectrophotomètre équipé de polariseurs, un support de cuvette réglé de température et un agitateur magnétique (*Photon Technology International Inc.*, London, Ontario, Canada). Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission ont été ajustées à 358 et à 428 nm, respectivement. Les polariseurs ont été placés dans les positions horizontales ou verticales. Les données ont été enregistrées en utilisant le logiciel de FELIX (version 1,4 ou 3,2 *Photon Technology International Inc.*). Les mesures simples de polarisation ont été déterminées à partir d'un balayage de 15 s de l'échantillon tenu à la même température que celle utilisée pendant l'incubation. Le ratio de polarisation (valeur sans unités) a été déterminé pour chaque analyse ainsi décrite par Shinitzky et Barenholz. (1978) :

$$P = (I_{VV} - I_{VH}G) / (I_{VV} + I_{VH}G)$$

$$r = (I_{VV} - I_{VH}G) / (I_{VV} + 2I_{VH}G) \quad \text{OR} \quad r = 2P / 3 - P$$

Le  $I_{VV}$  et  $I_{VH}$  sont les intensités de la lumière émises dans les directions verticales et horizontales relativement à la lumière d'excitation (Trevors, 2003). Le facteur discordant (G) dépend de chaque spectrophotomètre où la sensibilité des photomultiplicateurs est mesurée par l'intensité de la lumière émise dans les directions verticales ( $I_{HV}$ ) et horizontales ( $I_{HH}$ ) quand la lumière d'excitation est orientée verticalement (Litman et Barenholz, 1982; Borenstain et Barenholz, 1993). Le point de transition de phase de la membrane ( $T_m$ ) a été déterminé à partir d'une mesure continue de l'échantillon soumis à une température accrue de 0-65 °C jusqu'à ce que la membrane se soit désintégrée. Le point de transition se trouve à la température où la pente de la courbe change.

### ***Analyses statistiques et réplique expérimentale***

Des tests statistiques ont été effectués à des fins de comparaison dans chaque souche sous différentes conditions et entre les souches, pour chaque variable de stress utilisant une analyse de la variance (ANOVA) suivi du test Student Neuman-Keuls (SNK;  $\alpha = 95 \%$ ). Les expériences ont été accomplies en triple exemplaire et les données ont été comparées entre chaque ensemble de résultats aussi bien que pour la moyenne de tous les résultats.

## **Résultats**

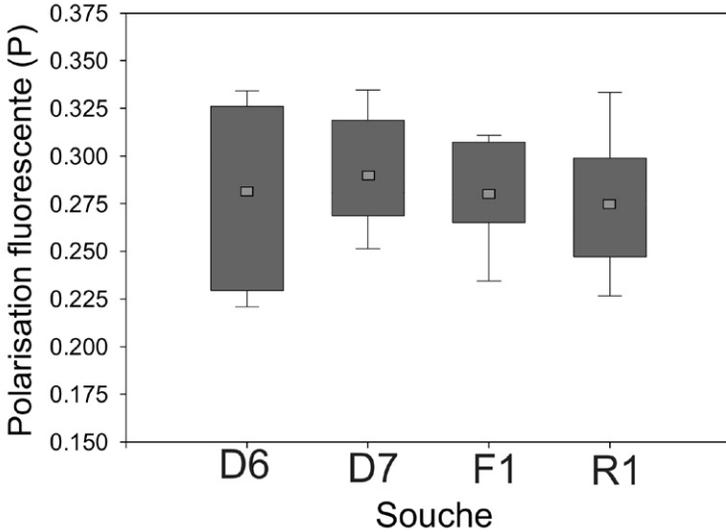
### ***Données de base***

Pour savoir comment la membrane d'*A. ferrooxidans* change en réponse au stress, il fallait déterminer la fluidité de la membrane de chaque souche sous conditions optimales. Des cultures témoins élevées sous conditions optimales ont été réalisées afin de créer une base de comparaison. Les tests statistiques ont révélé que la valeur moyenne entre toutes les souches n'est pas significativement différente et se situe entre 0,25 et 0,28 (figure 1). Pour l'analyse de transition de phase, le point de transition s'est produit quand la membrane est désintégrée, ce qui est indiqué par le changement le plus prononcé sur la courbe de transition (figure 2). Encore une fois, les quatre souches ont démontré un résultat semblable vers environ 47-48° C.

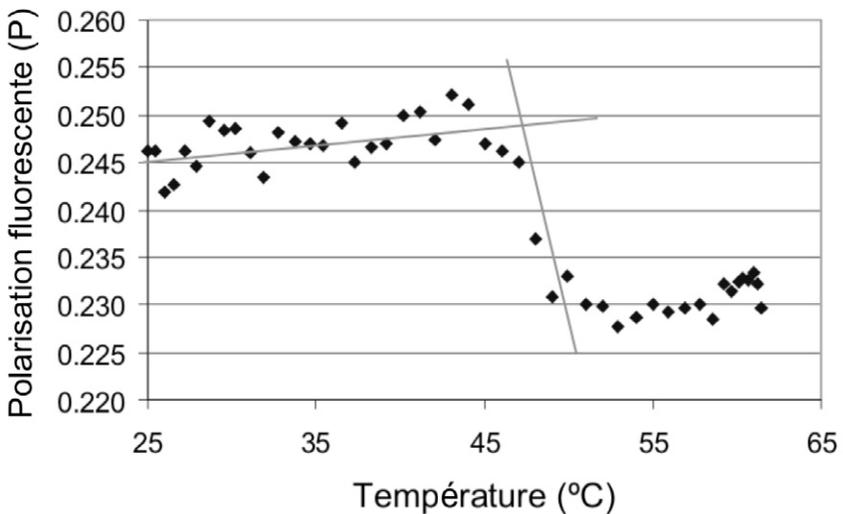
### ***Polarisation sous stress environnementaux***

Les résultats des effets de basses températures ont été déterminés à 5° C pour les souches D6 et D7 et 15° C pour R1 et F1. Dans la comparaison des données moyennes ( $n = 3$ ), les souches psychrotrophes (D6 et D7) et mésophiles (F1 et R1) n'ont eu aucune différence significative contrairement aux témoins respectifs. Par contre, la distribution étendue des données pour D6 et D7 est accompagnée de différences significatives qui se sont produites dans les expériences 1 et 2 (figure 3). Ces deux souches démontrent une polarisation

**Figure 1**  
**Distribution des résultats de la polarisation fluorescente sous conditions optimales**



**Figure 2**  
**Courbe typique de l'analyse de température de transition.**  
**Résultats pour la souche R1 illustrés et la  $T_m$  se produit à 47°C**



de la membrane plus élevée que dans les souches mésophiles avec  $0.334 \pm 0.004$  pour D6 dans l'expérience 1, et  $0.309 \pm 0.010$  et  $0.349 \pm 0.023$  dans l'expérience 2 pour D6 et D7, respectivement. Les deux souches mésophiles démontrent peu de variation dans la fluidité de leurs membranes aux températures de croissance sous-optimales. Les analyses de la température de transition de phase ont indiqué des différences notables où toutes les souches ont eu des valeurs du  $T_m$  effectivement plus basses que sous conditions optimales (tableau 3). Les transitions deviennent également plus étendues, se prolongeant à plus de 20-30° C (figure 4). D6 et D7 ont eu un  $T_m$  semblable à 5° C, tandis que R1 semblait maintenir une transition plus raide et aussi une plus haute valeur du  $T_m$ , comparé aux autres souches.

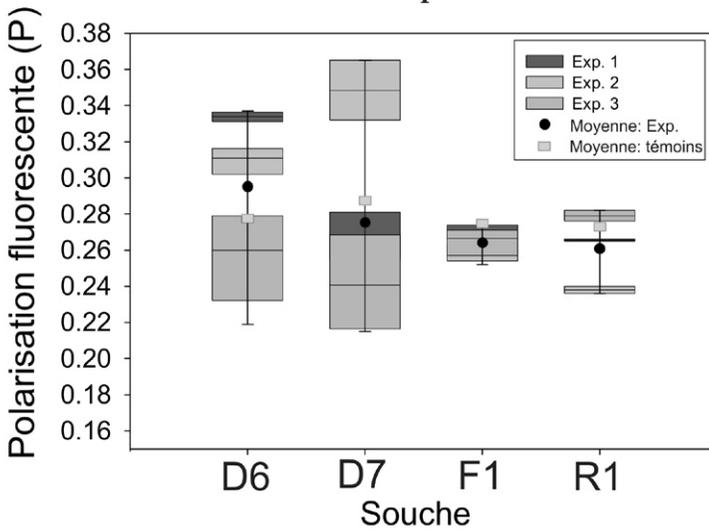
**Tableau 3**  
**Résultats de la température de transition de phase sous**  
**chaque condition expérimentale**

Souche	$T_m$ (°C) 57h	$T_m$ (°C) 5°C	$T_m$ (°C) 15°C	[Cu <sup>2+</sup> ] (mM)	$T_m$ (°C) Cu <sup>2+</sup>	[Ni <sup>2+</sup> ] (mM)	$T_m$ (°C) Ni <sup>2+</sup>	$T_m$ (°C) 27j	$T_m$ (°C) 44j	$T_m$ (°C) 96j
<b>D6</b>	47.0	12.0		15	31.0b	5	29.5	52.0	*	*
				135	26.0b	45	23.0			
<b>D7</b>	48.5	15.0		0.5	32.0	1.5	33.0	49.0	*	*
				4.5	22.0*	13.5	22.0b			
<b>F1</b>	50.5		23.0	15	24.0b	20	37.0	52.5	50.5	*
				135	27.0b	180	23.0b			
<b>R1</b>	47.5		37.0	4	34.0	15	27.0*	52.0	51.5	52.0
				36	26.0b	135	25.0b*			

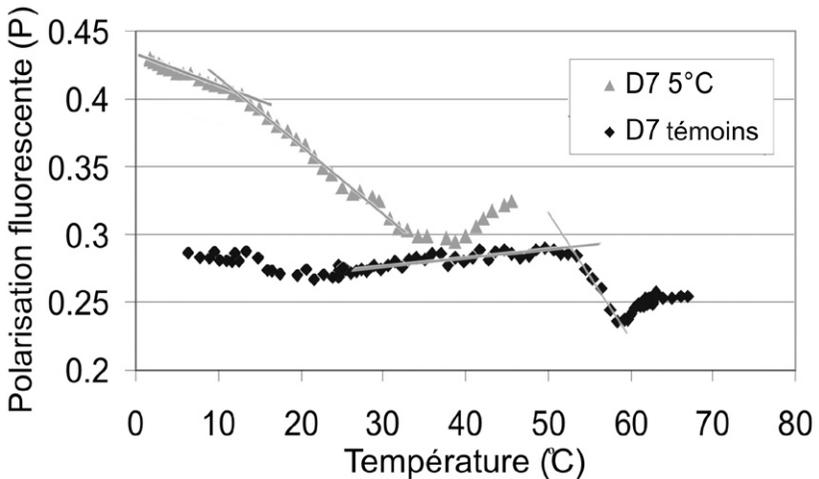
\* Résultats portent l'incertitude dans le point de transition.

**b** : Transitions sont étendues (entre 20-30° C)

**Figure 3**  
**Distribution des résultats de la polarisation fluorescente**  
**sous de basses températures**



**Figure 4**  
**Comparaison des courbes de la température de transition pour l'état**  
**optimal et sous un stress de basse température.**  
**Résultats pour la souche D7 illustrés**



Les résultats du stress imposé par une carence en nutriments (de 27 jours) démontrent que sous un stress nutritif, la moyenne de polarisation n'est pas significativement différente par comparaison avec la moyenne des témoins, sauf pour R1, qui démontre une membrane plus rigide dans les expériences 2 et 3 (figure 5). Par contre, sous les mêmes conditions, la température de transition est significativement augmentée pour la plupart des souches, avec des valeurs entre 40,0 ° C et 52,5 ° C (tableau 3). En évaluant les résultats de 44 et 96 jours, on remarque une augmentation significative dans la fluidité de la membrane pour les souches D6 et F1 (tableau 4). Cependant, les résultats au-delà de 27 jours sont devenus extrêmement variables, même pour chaque échantillon, ce qui augmente l'incertitude dans l'interprétation de l'état de la membrane.

**Tableau 4**  
**Comparaison des résultats de polarisation de la membrane sous une carence en nutriments**

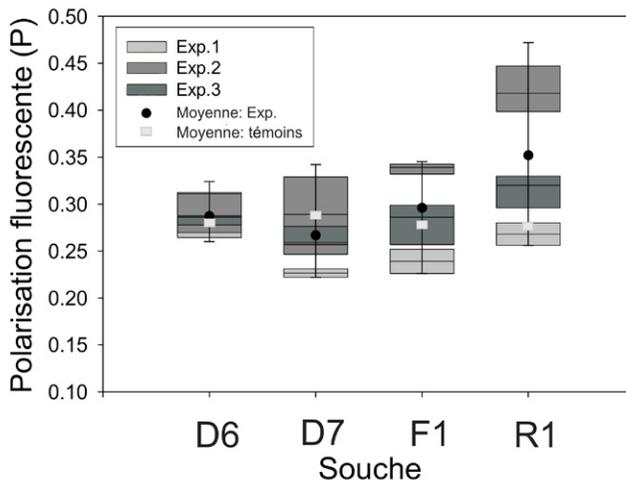
Souche	Moyenne de polarisation de la membrane (P) sous une carence en nutriments (jours)		
	27±S.D.	44±S.D.	96±S.D.
D6	0.287 ± 0.022a	0.266 ± 0.009a	0.172 ± 0.040b
D7	0.267 ± 0.040a	0.282 ± 0.024a	0.205 ± 0.153a
F1	0.296 ± 0.045a	0.231 ± 0.034a,b	0.195 ± 0.096b
R1	0.352 ± 0.074a	0.285 ± 0.003a	0.296 ± 0.013a

a,b : les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes d'après une analyse d'ANOVA et de SNK ( $\alpha = 0.05$ )

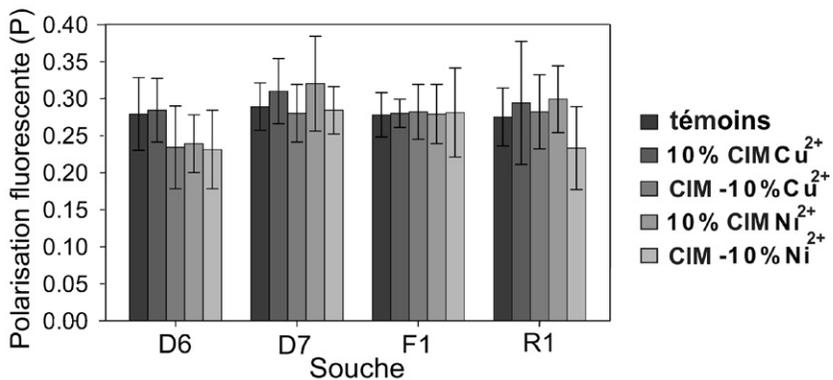
Pour les résultats du stress causé par le cuivre et le nickel, la comparaison a été faite entre une faible concentration (10 % du CIM) et l'autre approchant la concentration inhibitrice minimale (CIM-10 %) (figure 6). Les données suggèrent qu'une faible concentration du cuivre ou du nickel diminue la fluidité de la membrane, tandis que les niveaux plus élevés déclenchent une membrane plus liquide. Dans les expériences individuelles, nous avons observé des différences significatives entre les valeurs de témoins dans les membranes de D7 et R1 cultivées en cuivre et des valeurs D6, D7, et R1 cultivées en nickel. Pour ces souches, des différences significatives entre les effets de faibles concentrations et niveaux plus élevés ont également été observées. Il est notable que la souche F1, qui porte une forte résistance aux deux métaux, n'a démontré aucun changement significatif dans la polarisation de la membrane dans tous les cas. Les analyses de la température de transition ont produit des diminutions significatives pour toutes les souches pour la

comparaison avec leurs témoins mais aussi entre les concentrations faibles et élevées (tableau 3). Les courbes de transition sont devenues plus étendues particulièrement sous le stress du métal élevé. Le cuivre et le nickel ont eu des effets semblables dans le  $T_m$ . Cependant, entre les souches, les différences en valeurs du  $T_m$  étaient plus semblables pour les niveaux élevés avec des valeurs entre 22 et 27 ° C, mais plus variables sous faible concentration de métaux avec des valeurs entre 24 et 37 ° C.

**Figure 5**  
Distribution des résultats de la polarisation fluorescente sous une carence en nutriments



**Figure 6**  
Distribution des résultats de la polarisation fluorescente sous un stress de faibles concentrations et de concentrations élevées en cuivre et nickel



## Discussion

Les facteurs stressants dans l'environnement DMA influencent la membrane bactérienne en causant les changements physiques des lipides qui affectent à leur tour la fluidité de la membrane (Hazel et Williams, 1990; Denich *et al.*, 2003). Afin de maintenir les fonctions cellulaires, l'*A. ferrooxidans* doit modifier la fluidité de sa membrane cytoplasmique en réponse aux stress. Sous les conditions optimales, la fluidité de la membrane de toutes les souches était semblable, suggérant que chaque souche maintient une membrane optimale avec une fluidité semblable en dépit des différences potentielles en composition de la membrane.

Les basses températures exercent un effet qui rigidifie la membrane cytoplasmique bactérienne (Russell, 1990; Hazel et Williams, 1990; Denich *et al.*, 2003). Les souches psychrotrophes D6 et D7 avaient une membrane plus rigide que les souches mésophiles F1 et R1 dans les expériences 1 et 2. Mais d'après la comparaison des valeurs moyennes, les résultats de la polarisation de la membrane étaient comparables. Ceci suggère que D6 et D7 peuvent croître avec une membrane moins liquide et peuvent également changer la fluidité de leur membrane afin d'atténuer les effets rigidifiants de la température. Ceci est également évident pour les températures de transition diminuée, où les membranes de D6 et de D7 contiennent probablement une plus grande proportion de lipides avec des points de fusion plus bas. Ceci est souvent réalisé en créant des acides gras plus courts ou plus désaturés, un fait illustré dans plusieurs espèces bactériennes (Russell et Fukunaga, 1990; Russell, 1997). Les souches mésophiles semblent également changer leur membrane où l'abaissement du  $T_m$  permet que la fluidité de la membrane soit maintenue près du niveau optimal, même à la limite inférieure de la température de croissance. Ce maintien de fluidité optimale est décrit dans l'hypothèse de « l'adaptation homeoviscose » de Sinensky (1974) qui suggère que les bactéries peuvent modifier la membrane cytoplasmique en réponse au stress pour garder une fluidité constante.

Le stress d'une déficience nutritive a semblé avoir peu d'effet sur la fluidité de la membrane après 27 jours d'incubation, sauf la souche R1 qui avait une membrane plus rigide. L'augmentation en valeurs du  $T_m$ , pour toutes les souches excepté D7 indique que les membranes sont probablement modifiées afin d'avoir une plus grande proportion de lipides, avec des points de fusion plus élevés. Cependant, au-delà de 27 jours, la grande variation dans les valeurs de polarisation est probablement une conséquence des états physiologiques variables des cellules survivantes. Souvent, une carence en nutriments force une diminution d'activité métabolique et un plus faible taux de croissance, suivi par une augmentation de la viscosité des lipides de la membrane (Shinitzky, 1984).

Les métaux déclenchent un effet profond sur la membrane cytoplasmique bactérienne. Nous avons vu que les niveaux faibles ont notamment diminué la fluidité de la membrane. Ceci provient probablement des interactions de cations avec la membrane lipidique négativement chargée (Quinn, 1986; Russell, 1989). À des concentrations plus élevées, la plupart des souches ont abaissé leur fluidité et le  $T_m$  de la membrane afin d'atténuer les effets rigidifiants des métaux. Bien que les changements du  $T_m$  de la souche F1 soient comparables aux autres souches, la polarisation de la membrane n'a pas changé de manière significative, ce qui indique qu'elle est mieux adaptée contre les effets nuisibles des métaux. La résistance aux métaux dans les bactéries est contrôlée principalement par les systèmes de transport enzymatique (Trevors *et al.*, 1985; Silver et Phung, 1996; Bruins *et al.*, 2000). Ces enzymes, souvent intégrés dans la membrane cytoplasmique, dépendent de la fluidité de la membrane pour maintenir leurs fonctionnalités optimales.

Ces résultats préliminaires indiquent que l'*A. ferrooxidans* réalise des modifications de la fluidité de sa membrane en réponse aux stress externes et que certaines souches peuvent mieux s'adapter et résister aux conditions extrêmes. La prochaine étape de cette recherche examinera comment les changements de composition de lipide dans les membranes de ces souches contribuent à la polarisation de la membrane cytoplasmique observée. La caractérisation plus intime de la membrane d'*A. ferrooxidans* fournira une meilleure compréhension de l'adaptation de cette espèce aux stress extrêmes. De plus, en étudiant les différentes souches, nous accomplissons une étape intégrale qui fournira de l'information valable pour mieux développer des traitements de remédiation environnementale et améliorer les efforts de l'industrie minière. Aussi, cette recherche caractérisera des souches d'*A. ferrooxidans* qui pourront être capables de réaliser la lixiviation bactérienne des métaux de façon plus efficace (Suzuki, 2001; Rawlings 2002).

## Références

- BENEY, L., et P. GERVAIS (2001). « Influence of the fluidity of the membrane on the response microorganisms to environmental stress », *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 57, p. 34-42.
- BLOOM, M., E. EVANS, et O.G. MOURITSEN (1991). « Physical properties of the fluid lipid-bilayer component of cell membrane; a perspective », *Quarterly Reviews of Biophysics*, vol. 24, p. 293-397.
- BORENSTAIN, V., et Y. BARENHOLZ (1993). « Characterization of liposomes and other lipid assemblies by multiprobe fluorescence polarization », *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 64, p. 117-127.
- BRIERLEY, C.L. (1982). « Microbiological mining », *Scientific American*, vol. 247, p. 44-53.

- BRUINS, M.R., S. KAPIL, et F.W. OEHME (2000). « Microbial resistance to metals in the environment », *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol.45, p. 198-207.
- DENICH, T.J., L.A. BEAUDETTE, H. LEE, et J.T. TREVORS (2003). « Effect of selected environmental and physico-chemical factors on bacterial cytoplasmic membrane », *Journal of Microbial Methods*, vol. 52, p. 149-182.
- FERRONI, G.D., L.G. LEDUC, et M. TODD (1986). « Isolation and temperature characterization of psychrotrophic strains of *Thiobacillus ferrooxidans* from the environment of a uranium mine », *Journal of General and Applied Microbiology*, p. 32; 169-175.
- HAZEL, J.R., et E.E. WILLIAMS (1990). « The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment », *Progress in Lipid Research*, vol. 29, p. 167-227.
- KARAMANEV, D.G., L.N. NIKOLOV, et V. MAMTARKOVA (2002). « Rapid and simultaneous quantitative determination of ferric and ferrous ions in drainage waters and similar solutions », *Minerals Engineering*, vol. 15, p. 341-346.
- KONINGS, W.N., S.-V. ALBERS, S. KONING, et J.M. DRIESSEN (2002). « The cell membrane plays a crucial role in the survival of bacteria and archaea in extreme environments », *Antoine van Leeuwenhoek*, vol. 81, p. 61-72.
- LEDUC, L.G., et G.D. FERRONI (1994). « The chemolithotrophic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans* », *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 14, p. 103-120.
- LEDUC, D., L.G. LEDUC, et G.D. FERRONI (2002). « Quantification of bacterial populations indigenous to acidic drainage streams », *Water, Air, Soil Pollution*, vol. 135, p. 1-21.
- LEDUC, L.G., J.T. TREVORS, et G.D. FERRONI (1993). « Thermal characterization of different isolates of *Thiobacillus ferrooxidans* », *FEMS Microbiology Letters*, vol. 108, p. 189-194.
- LEDUC, L.G., G.D. FERRONI, et J.T. TREVORS (1997). « Resistance to heavy metals in strains of *Thiobacillus ferrooxidans* », *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 13, p. 453-455.
- LITMAN, B.J., et Y. BARENHOLZ (1982). « Fluorescent probe: diphenylhexatriene », *Methods in Enzymology*, vol. 81, p. 678-685.
- QUINN, P.J. (1986). « Models of haloadaptation in bacterial membranes », *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 39, p. 87-94.
- RAWLINGS, D.E. (2002). « Heavy metal mining using microbes », *Annual Review in Microbiology*, vol. 56, p. 65-91.
- RUSSELL, N.J. (1997). « Psychrophilic bacteria.-molecular adaptations of membrane lipids », *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 118A(3), p. 489-493.
- RUSSELL, N.J. (1990). « Cold adaptation of microorganisms », *Philosophy Transactions of the Royal Society of London, B*, vol. 326, p. 595-611.

- RUSSELL, N.J., et N. FUKUNAGA (1990). « A comparison of thermal adaptation of membrane lipids in psychrophilic and thermophilic bacteria », *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 75, p. 171-182.
- RUSSELL, N.J. (1989). « Functions of lipids, p. structural roles in membrane functions », dans C. Ratledge, et S.G. Wilkinson (dir.), *Microbial Lipids*, vol. 2. Academic Press, Toronto, Canada, p. 279-365.
- SILVER, S., et L.T. PHUNG (1996). « Bacterial heavy metal resistance: New surprises », *Annual Reviews in Microbiology*, vol. 50, p. 753-789.
- SHINITZKY, M. (1984). « Membrane fluidity and cellular functions », dans M. Shinitzky (dir.), *Physiology of Membrane Fluidity*, CRC Press Florida, p. 1-53.
- SHINITZSKY, M., et Y. BARENHOLZ (1978). « Fluidity parameters determined by fluorescence polarization », *Biochemica and Biophysica Acta*, vol. 515, p. 367-394.
- SINENSKY, M. (1974). « Homeoviscous adaptation: A homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli* », *Proceedings of the National Academy of Science U. S. A*, vol. 71, p. 522-525.
- SUZUKI, I. (2001). « Microbial leaching of metals from sulfide minerals », *Biotechnology Advances* 19(2), p. 119-32.
- TREVORS, J.T. (2003). « Fluorescent probes for bacterial cytoplasmic membrane research », *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, vol. 57, p. 87-103.
- TREVORS, J.T., K.M. ODDIE et B.H. BELLIVEAU (1985). « Metal resistance in bacteria », *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 32, p. 39-54.
- VINCENT, M., L.S. ENGLAND, et J.T. TREVORS (2004). « Cytoplasmic membrane polarization in Gram-positive and Gram-negative bacteria grown in the absence and presence of tetracycline », *Biochimica and Biophysica Acta*, vol. 1672, p.131-134.

