



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : MICROBIOLOGIE

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : ECOLOGIE MICROBIENNE

Intitulé :

Les extremophiles dans leurs environnements et leurs applications biotechnologiques

Préparé par : - Belala seif eddine

Le : 23/09/2021

- Cherouat billel

- Bouseba abdeldjalil

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme Riah Nassira (MCA-UFM Constantine).

Rapporteur : Mme Bouzeraib Latifa (MAA-UFM Constantine1).

Examineur : Mme Hachemi Zoubeida (MAA Constantine 3).

Année universitaire
2020- 2021

Remerciement

*Nous remercions **Allah**, le tout puissant pour sa bonté, pour sa miséricorde et pour sa clémence.*

Et de nous avoir donné la force et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.

*Tout d'abord, Nous remercions plus particulièrement madame **Hachemi zoubeida** d'avoir accepté la responsabilité de Directeur de mémoire et de nous avoir permis de mener à bien ce travail grâce à son soutien de tous les instants, sa générosité, ses conseils et sa bienveillance.*

Nous avons vraiment eu un grand honneur de travailler sous sa direction.

Nous adressons nos remerciements aux membres de jury madame Riah N et madame Bouzeraib L merci de nous avoir fait l'honneur d'accepter de juger notre mémoire de Master, veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

Nous adressons également un immense merci à toute la famille du département de microbiologie en particulier à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à notre formation enseignants, collaborateurs ou simples agents.

Nous n'oublions pas de remercier toute notre promotion du Master 2021, avec qui on a passé des moments difficiles et d'autre agréable grâce à leur sympathie et esprit d'équipe.

Nous remercions aussi nos parents, nos amis d'études et toutes personnes ayant soutenu de près ou de loin ce travail.

Dédicaces

Je tiens c'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail :

Ma mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde.

Mon père qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que dieu le garde et le protège et lui donne la santé.

A mes chères sœurs et mes chers frères pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A ceux avec qui j'ai vécu les plus beaux moments de mes années à l'université, à mes compagnes et amis OUSSAMA, BILLEL et DJALIL, ISLEM, surtout à celle qui a partagé avec moi la majorité des TP et TD, ma chère amie AMANI.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A tous ceux qui comptent pour moi.

A vous chers lecteur.

SEIF EDDINE.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

À mes parents, présents tout au long de la réalisation de ce travail.

À mon frère et mes sœurs de qui je me ressource de courage et d'envie de travail.

À mes amis et collaborateurs Billel et Seif avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

À mon encadreur qui ma guidé tout au long de ce travail.

À tous mes amis.

ABDELJALIL B.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts :

A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents, leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.

A toute la famille

A mes frères, mes fidèles amis

A tout mes collègue de travaille

A ma promo de master 2 en écologie microbienne et mes enseignants.

CHEROUAT BILLEL.

Les extrémophiles dans leurs environnements et leurs applications biotechnologique

Résumé :

Cette étude est une synthèse bibliographique sur les micro-organismes qualifiés d'extrémophiles, qui pour certains, vivent en présence de sel à forte concentration (halophiles), pour d'autres à des températures froides ou chaudes (psychrophiles et thermophiles), dans des milieux très acides ou basiques (acidophiles et alcaliphiles) ou sous pression (piézophiles). Dans ces niches écologiques extrêmement hostiles où les conditions de vie non conventionnelles, ces microbes de l'extrême ont mis en place des stratégies pour s'adapter aux stress physicochimiques auxquels ils sont confrontés. Plusieurs enzymes produits par les extrémophiles (extrêmolytes) et leurs activités enzymatiques, ont trouvées des applications nouvelles en biotechnologie. Les plus connues et les plus variées sont utilisées en biologie moléculaire, en chimie fine, dans l'industrie des détergents, dans l'agro-alimentaire, dans le secteur des biocarburants, etc.

Mots clés : Extrémophiles, environnements, Stratégies, adaptation, enzymes et biotechnologie.

Extremophiles in their environments and biotechnological applications

Abstract

This study is a bibliographic summary of microorganisms qualified as extremophiles, which for some live in the presence of high concentration salt (halophiles), for others at cold or hot temperatures (psychrophiles and thermophiles), in very acidic or basic environments (acidophilic and alkaliphilic) or under pressure (piezophilic). In these extremely hostile ecological niches where unconventional living conditions, these extreme microbes have implemented strategies to adapt to the likely physicochemical stresses they face. Several enzymes produced by extremophiles (extremolytes) and their enzymatic activities have found new applications in biotechnology. The most known and most varied are used in molecular biology, fine chemistry, in the detergent industry, in the food industry, in the biofuel sector.

Keywords: Extremophiles, environments, Strategies, adaptation, enzymes and biotechnology.

الكائنات الحية الدقيقة المؤهلة الغير عادية في بيئاتهم وتطبيقاتها في التكنولوجيا الحيوية

ملخص

هذه الدراسة عبارة عن ملخص بيليوغرافي للكائنات الحية الدقيقة المؤهلة الغير عادية ، والتي تعيش بالنسبة للبعض في وجود ملح عالي التركيز ، والبعض الآخر في درجات حرارة باردة أو ساخنة ، في حمضية جداً أو قاعدية أو البيئات المضغوطة

في هذه المنافذ البيئية المعادية للغاية أو الظروف المعيشية غير التقليدية ، نفذت هذه الميكروبات الغير عادية استراتيجيات للتكيف مع الضغوط الفيزيائية والكيميائية التي تواجهها. وجدت العديد من الإنزيمات التي تنتجها هذه البكتيريا وأنشطتها الأنزيمية تطبيقات جديدة في التكنولوجيا الحيوية. يتم استخدام أشهرها وأكثرها تنوعاً في البيولوجيا الجزيئية ، والكيمياء الدقيقة ، وصناعة المنظفات ، وصناعة الأغذية ، وقطاع الوقود الحيوي

الكلمات المفتاحية: الكائنات الحية الدقيقة المؤهلة الغير عادية ، البيئات ، الإستراتيجيات ، التكيف ، الإنزيمات والتكنولوجيا الحيوية

Table Des matières

- **Remerciements**
- **Dédicaces**
- **Listes des figures**
- **Résumé**

Introduction 1

➤ **CHAPITER 01 Monde des extrémophiles**

1	Le monde des extrémophiles :.....	3
2	La découverte des extrémophiles :.....	3
3	Les extrémophiles dans leurs différents milieux :.....	6
3.1	Les micro-organismes halophiles :.....	6
3.2	Les micro-organismes thermophiles :.....	7
3.3	Les micro-organismes psychrophiles :.....	9
3.4	Les micro-organismes acidophiles :.....	10
3.5	Les micro-organismes alcaliphiles :.....	11
3.6	Les micro-organismes piézophiles :.....	12
3.7	Les micro-organismes radio-résistants :.....	13
3.8	Les micro-organismes xérophiles :.....	14

➤ **CHAPITER 02 Propriétés des extrémophiles.**

1	Propriétés des extrémophiles :.....	17
1.1	Stabilité des constituants cellulaires :.....	17
1.2	Osmoadaptation :.....	19
1.3	Adaptation aux pH extrêmes :.....	20
1.4	Adaptation des psychrophiles à basse température :.....	20

➤ **CHAPITRE 03 Applications biotechnologiques.**

Les micro-organismes extrêmophiles et leurs applications :.....	21
Conclusion.....	24
Références bibliographiques.....	25

Table des figures

Figure 1 : Représentation de la diversité des trois domaines du vivant.	5
Figure 2 : Le Great Salt Lake, dans l'Utah, aux États-Unis (dépôts de sel).	6
Figure 3 : Sources chaudes dans le Parc national de Yellowstone – USA. Crédit photo : J.-L. Garcia.....	8
Figure 4 : Habitats naturels des microorganismes psychrophiles : (A) Glace de la mer Antarctique, (B) Glacier de l'arctique, (C) Sol gelé : permafrost, (D) Montagnes enneigées (Alpes)	9
Figure 5 : Le fleuve de Rio Tinto-Espagne	10
Figure 6 : le Lac Magadi au Kenya	11
Figure 7 : Cratère de l'EmiKoussi dans le massif du Tibesti (Tchad)	12
Figure 8 : Échantillons de pechblende (UO_2) et de pyrrhotite (FeS).....	14
Figure 9 : Blocs de dolérite recouverts par la patine du désert (biofilms) dans le désert de Namibie.	15

Liste des tableaux

Tableaux 01 : microorganismes extremophiles et leurs envirenements (adapté de horikoshi and bull(2011))	16
Tableaux 02 : tableau d'applications biotechnologique de quelques enzymes obtenues de bactéries halophiles modérées et extrêmes (moreno, 2013).....	23

Introduction

Introduction

La vie existe dans tous les lieux possibles sur terre. Au cours de son évolution, un certain nombre d'écosystèmes ont été formés. Ces écosystèmes diffèrent par la grande variété des facteurs physico-chimiques et biologiques qui composent notre environnement et contrôlent la croissance et la survie de tous les organismes vivants. Traditionnellement, le pH et la salinité sont considérés comme des facteurs géochimiques, par opposition à la température, la pression et le rayonnement que l'on appelle les facteurs physiques [1].

Jusqu'au 2^{ème} siècle, on pensait que la vie n'était pas possible que dans les environnements « normal », c'est-à-dire la ou les conditions sont compatibles à la vie de l'homme. Les chercheurs ont commencé à trouver des organismes qui survivent dans des conditions loin de ces normes, dans des milieux extrêmes [2] et les organismes qui vivent dans ces milieux sont appelés « extrémophiles ».

Qu'entendons-nous par milieu extrême ? Pour pouvoir définir un environnement extrême, on doit d'abord définir l'environnement non extrême ou normal. Il n'existe pas de définition stricte d'un environnement « normal » mais nous pouvons supposer qu'il existe un consensus général sur certains des facteurs physiques et chimiques les plus importants. Ainsi, un environnement normal est de 4 à 40 C°, pH 5 à 8,5 et a une salinité entre celle de l'eau douce et celle d'eau de mer.

Les études phylogénétiques basées sur l'analyse de l'ARN ribosomal 16S ont permis de mettre en évidence l'existence de trois domaines distincts : les bactéries (ou *Bacteria*), les archées (*Archaea*) et les eucaryotes (*Eukarya*). Bien qu'établie dès 1978 par le microbiologiste américain Carl Woese, cette classification du vivant ne s'est imposée que très lentement, car il a été difficile d'imaginer l'existence d'organismes vivants dans les conditions très hostiles [3] La plupart des extrémophiles se trouvent dans le monde microbien et la gamme des extrêmes environnementaux tolérés par les microorganismes est beaucoup plus large que les autres formes de vie [4].

Différentes stratégies sont utilisées et des mécanismes cellulaires, moléculaires et génétiques sont mis en jeu par ces microorganismes pour maintenir l'intégrité de leur machinerie à des conditions de température, pression ou salinité mortelles pour toute autre forme de vie.

Leur étude révèle les capacités du vivant à coloniser des écosystèmes « hostiles ». Les propriétés particulières de leurs enzymes sont actuellement exploitées pour développer des procédés industriels propres et durables. Les micro-organismes du sol et des océans dominent

notre planète [5]. Ils jouent des rôles importants dans la régulation des grands cycles géochimiques et constituent potentiellement un réservoir de nouveaux biocatalyseurs pour les technologies du futur. Notre connaissance de cette biodiversité reste encore très partielle, la microbiologie étant encore trop cantonnée à la santé humaine. Moins de 1% des microorganismes de l'environnement peuvent être mis en culture au laboratoire. Dans la dernière décennie, le développement de nouveaux outils qui permettent d'analyser directement l'ADN issus de communautés microbiennes (la métagénomique) a bouleversé notre vision des écosystèmes microbiens [6].

Grâce à eux, les chercheurs ont découvert des environnements longtemps considérés comme incompatibles avec la vie. Malgré leurs conditions physiques et chimiques extrêmes, ils contiennent des formes de vies microbiennes abondantes [7].

Le choix de ce sujet est motivé par la mise en avant de l'importance de l'étude de tels organismes mais également la compréhension des mécanismes impliqués et utilisés dans l'adaptation aux conditions extrêmes.

Ce mémoire est une lecture essentielle pour une compréhension des extrémophiles et leur application biotechnologique potentielle. Il est axé autour de trois chapitres. Après une introduction, le premier chapitre est consacré au monde des extrémophilie qui tendra à expliquer la notion d'extrémophilie, la découverte des extrémophiles ainsi que leurs différents habitats, en insistant sur les connaissances que nous avons d'un point de vue microbiologique dans ce domaine.

Le second chapitre portera sur les propriétés des extrémophiles dont lequel nous abordons les différentes stratégies adaptatives et enfin le troisième est dernier chapitre dont lequel nous décrivons les intérêts biotechnologiques des extrémophiles et leurs applications dans les différents domaines industriels.

Chapitre 01

Le monde des extrémophiles.

1 Le monde des extrémophiles

Les environnements normaux, sont ceux dont les facteurs physico-chimiques les plus importants se situeraient approximativement à des valeurs de température de 4 à 50 C°, de pH supérieur à 5 et inférieur à 9, de salinité entre celle de l'eau douce et celle de l'eau de mer (3,5%, p/v) et de pression inférieure à 20 MPa. Loin de ces valeurs, le stress environnemental augmente et la diversité des espèces diminue [8]. Un environnement est considéré extrême si ses facteurs physiques ou chimiques sont situés en dehors de la gamme des environnements qualifiés de normaux [9].

Le terme **extrémophiles**, a été évoqué pour la première fois, en 1974, par Mac Elory, dans un journal intitulé « *Some comments on the evolution of extremophiles* », il a été interprété de plusieurs façons pour enfin être associé aux microorganismes qui peuplent des niches écologiques extrêmes caractérisées par des conditions défavorables pour le développement d'une vie [10].

L'extrémophilie est la capacité de certains microorganismes à se développer dans des conditions physiques et chimiques défavorables pour la plupart des organismes vivants [11]. Le concept d'extrémophilie, à la différence de celui de résistance aux conditions extrêmes, implique que l'ensemble de la machinerie cellulaire soit adapté aux conditions extrêmes et que les cellules fonctionnent de manière optimale dans ces conditions [12].

2 La découverte des extrémophiles

Les premiers organismes extrémophiles connus sont des halophiles (qui aiment le sel), découverts dans des environnements que beaucoup croyaient dépourvu de vie, comme la Mer Morte. En fait, cette mer, qui est plutôt un lac salé, était appelée morte par les anciens, car dépourvue de poissons. Mais de nombreuses bactéries, algues, crustacés... vivent dans ses eaux saturées en sel.

Cependant, les chercheurs ne se sont vraiment intéressés aux extrémophiles que lors de l'identification, dans les années 1970, du troisième domaine du vivant, celui des archées (*Archaea*), auxquels ils appartiennent très souvent. En effet, les travaux réalisés par Carl Woese et Georges Fox [13,14].

En 1969 au États-Unis, le microbiologiste Thomas Brock [15] isole pour la première fois un “microbe” thermophile, *Thermus aquaticus*, à partir des sources d'eau chaude et acide du Parc national de Yellowstone (ci-dessous).

Ce groupe de procaryotes atypiques dévoile ses capacités à vivre dans les conditions extrêmes. Ils sont en effet présents dans les marais salants [16], les zones arides et acides [17] ou encore dans les lacs gelés de l'Antarctique [18]. On le trouve aussi dans les environnements thermophiles et hyper thermophiles regroupant des espèces physiologiquement diverses telles que les *Methano-archaea* productrices de méthane [19], [20] les chimio-organotrophes et les espèces sulfito-réductrices, c'est également le cas des espèces du genre *Archaeoglobus* [21].

La découverte de ce nouveau champ du vivant a alors déclenché une « chasse aux extrémophiles au sein des milieux extrêmes. Elle a abouti à la découverte d'une diversité inouïe, complètement inattendue. On découvre alors que beaucoup de ces microbes, s'ils ressemblent morphologiquement à des bactéries telles qu'on les définissait à l'époque, n'en sont pas. Vis-à-vis de leur génome, de leur métabolisme..., beaucoup de ces organismes sont très éloignés des bactéries classiques. A cause de leur métabolisme singulier, supposé à l'époque être très primitif, sur la base des anciens modèles de la composition de l'atmosphère terrestre d'il y a 3 à 4 milliards d'années et possiblement présente là où vivaient les premières formes de vie, Fox et Woese baptisèrent ce groupe *Archaeobacteria* et proposèrent que le monde vivant se divise en trois super-règnes : les *Eubacteria*, les *Eucarya* et les *Archaeobacteria*. Des deux micro-organismes étudiés par Thomas Brock (*Thermus aquaticus* et *Sulfolobus acidocaldarius*), le premier s'est avéré être une bactérie, et l'autre une archée.

Cette découverte des extrémophiles a ainsi conduit à une méthodologie et conceptuelle en microbiologie moléculaire en proposant une phylogénie du vivant. Celle-ci est fondée sur le séquençage de l'ARN ribosomique. Certains de ces gènes (ARNr 16S et 18S) ont été retenus comme marqueurs taxonomiques standards.

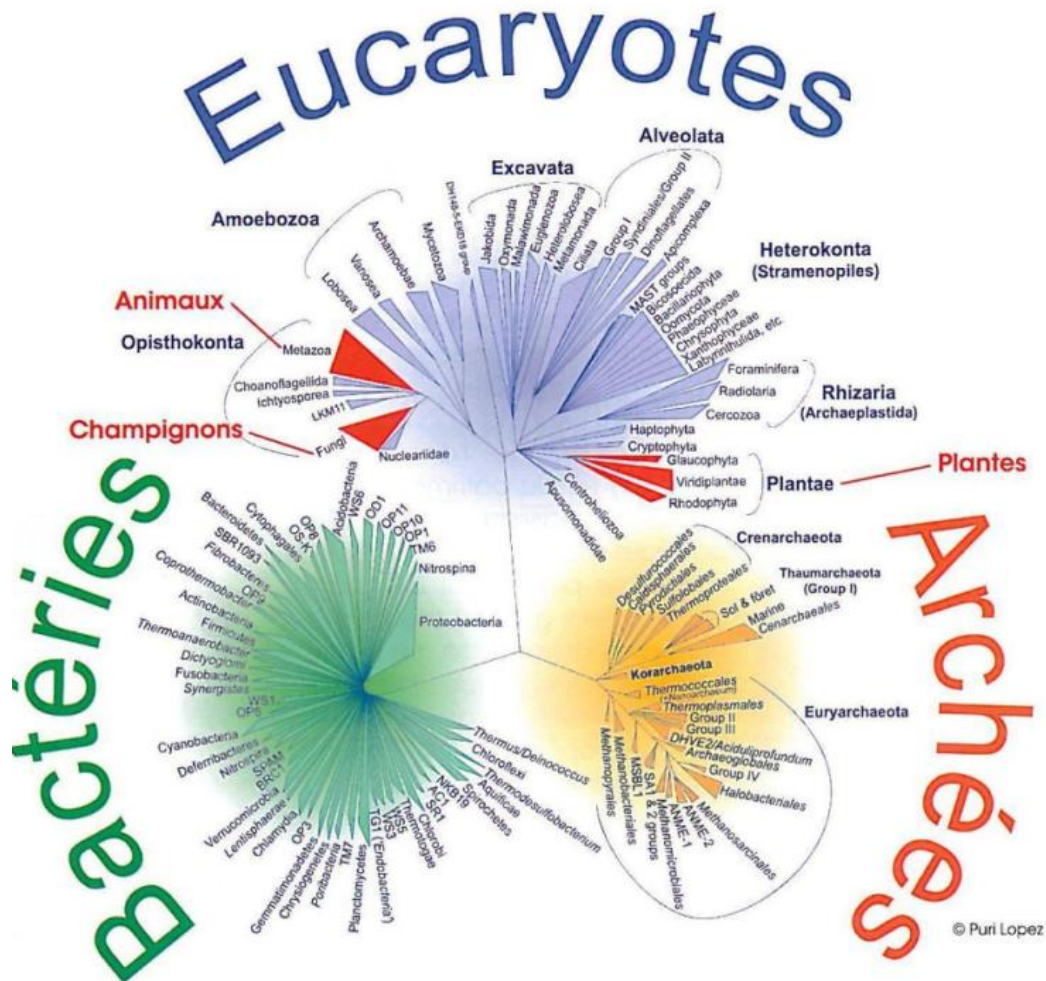


Figure 1 : Représentation de la diversité des trois domaines du vivant. Modifié d'après López-García et Moreira 2008. Les triangles en vert représentent les phylums, division ou groupes où au moins un des membres est cultivé et décrit ; les triangles en rouge représentent les divisions candidates où aucune espèce n'est cultivée.

3 Les extrêmophiles dans leurs différents milieux

Différents milieux extrêmes existent, ces habitats naturels peuvent être reconnus quand un de ces facteurs physiques (pression, température...), ou chimiques (acidité, salinité ...) se trouve dans l'extrême de la gamme.

3.1 Les micro-organismes halophiles

Les halophiles sont des micro-organismes qui ne peuvent croître qu'en présence de sel généralement sous forme de chlorure de sodium (NaCl). Les halophiles sont classées en trois catégories : les légèrement halophiles (optimum de croissance entre 2 et 5 % de NaCl) ; les modérées halophiles (optimum de croissance entre 5 et 20 % de NaCl) ; et les halophiles extrêmes (optimum de croissance entre 20 et 30 % de NaCl). La majorité de ces micro-organismes habitent le milieu marin où la concentration est voisine de 3,5 % en sel. Il existe cependant des habitats plus spécifiques et plus localisés tels que les marais salants ou les lacs salés colonisés par les micro-organismes hyperhalophiles (figure 2).



Figure 2 : Le Great Salt Lake, dans l'Utah, aux États-Unis (dépôts de sel).

La composition physico-chimique de ces lacs varie avec la topographie environnante et la géologie. Il en existe deux types, ceux formés par évaporation totale principalement d'eau de mer, et ceux formés par évaporation d'eaux résultant du lessivage des roches par la pluie. Dans ce dernier cas, la composition physico-chimique de l'eau est influencée par les couches géologiques traversées par ces eaux. On trouve par exemple les lacs sulfatés et les lacs alcalins

(pH compris entre 9 et 12) contenant majoritairement du carbonate et une absence totale de Ca^{2+} et Mg^{2+} car ils précipitent dans de telles conditions de pH. Les micro-organismes halophiles appartiennent aux trois domaines du vivant (*Bacteria*, *Archaea*, *Eucarya*) [22].

Les bactéries halophiles (modérées et extrêmes) anaérobies appartiennent à l'ordre des *Halana-erobiales* [23] qui comprend deux familles : les *Halana-erobiacea* et les *Halobacteroidaceae* dont les espèces fermentent les hydrates de carbone à l'exception d'une bactérie homo-acétogène qui réduit le CO_2 en acétate et croît sur bétaine et triméthylamine, *Acetohalobium arabaticum*. La plupart de ces espèces sont des modérées halophiles avec un optimum de croissance entre 3 et 25 % de NaCl. On retrouve également dans le domaine des *Bacteria*, des micro-organismes sulfato-réducteurs modérés halophiles pouvant croître jusqu'en présence de 24% de NaCl. Ils appartiennent en particulier au genre *Desulfohalobium* et oxydent incomplètement leurs substrats. Chez les *Archaea*, les *Methano-archaea* anaérobies sont spécialisées dans l'utilisation de composés méthylés. En ce qui concerne les aérobies hyperhalophiles, ils appartiennent à la famille des *Halo-bacteriaceae*. Ils nécessitent un minimum de 10 % de NaCl pour croître et sont hétérotrophes. Certains de ces micro-organismes peuvent avoir un métabolisme fermentaire. Enfin, des organismes eucaryotes peuvent s'adapter ou sur vivre dans ces écosystèmes hypersalés, il s'agit d'algues, de diatomées, de protozoaires ou même de champignons.

3.2 Les micro-organismes thermophiles

Les procaryotes thermophiles et hyperthermophiles vivent à des températures optimales de croissance de l'ordre de 60°C et 80°C , respectivement. Ces micro-organismes sont retrouvés dans des habitats géothermiques naturels largement répandus sur notre planète et souvent associés à des zones tectoniques actives. Ces écosystèmes peuvent avoir une origine, géothermique terrestre, (1) la nature de l'eau va dépendre des roches traversées et elle est généralement associée à une activité volcanique ; la température de l'eau *in situ* sera fonction de la profondeur d'origine pour atteindre des températures inférieures à 100°C et des pH acides ou basiques à la surface de la terre, C'est le cas des sources chaudes localisées en Islande, aux Açores ou encore dans le Parc national de Yellowstone (Figure3) (2) hydrothermale océanique profonde : le fluide hydrothermal jaillit au niveau du plancher océanique au travers de fumeurs noirs où le liquide sort à des températures variant de 20 à 400°C selon la localisation ; (3) pétrolière : certains de ces gisements pétroliers sous-marins et continentaux sont situés entre 1,5 et 4 km de profondeur et présentent des températures allant de 60 à 130°C et des pH généralement neutres.



Figure 3 : Sources chaudes dans le Parc national de Yellowstone – USA.

Crédit photo : J.-L. Garcia

On retrouve dans la plupart de ces écosystèmes des gaz comme H_2 , H_2S , CO_2 , ou CH_4 qui pour certains peuvent servir de sources d'énergie (H_2 en particulier). Les micro-organismes retrouvés dans ces zones appartiennent aux domaines des Bacteria et des Archaea. Ils possèdent des caractéristiques physiologiques et métaboliques très diverses et interviennent dans la plupart des grands cycles biogéochimiques et notamment celui du soufre (oxydo-réduction des composés soufrés) et leur capacité à prospérer dans tel environnement extrêmement chauds réside dans la nature de leur enzymes (extremoenzymes), des enzymes conçues pour fonctionner à des températures extrêmement élevées. Les acides aminés de ces extremoenzymes ont des astuces spéciales pour conserver leurs structures 3D tordues et pliées à haute température, là où d'autres enzymes se déplieraient et ne fonctionneraient plus.

Chez les *Bacteria*, il existe un grand nombre de bactéries thermophiles anaérobies hétérotrophes à Gram positif de l'ordre des *Clostridiales* (*Thermoanaerobacterium*, *Carboxydibrachium*, etc.), mais également des espèces aérobies appartenant au phylum des *Deinococcus-Thermustelles* que les espèces des genres *Thermus*, *Rhodothermus*, etc.... [24]. Chez les *Archaea*-thermophiles et hyperthermophiles, il existe deux phylums, celui des *Euryarchaeota* regroupant des hyperthermophiles (croissance possible jusqu'à $110^\circ C$ pour certains) producteurs de méthane ou *Methano-archaea*, le plus souvent chimiolitho-autotrophes et des chimio-organotrophes.

3.3 Les micro-organismes psychrophiles

Les bactéries psychrophiles sont des bactéries adaptées au froid pouvant vivre dans des environnements variés : régions arctiques, glaciers pour les températures négatives, et les océans profonds pour des températures légèrement positives (aux alentours de 4c°) etc.... Selon la classification la plus répandue [25], les micro-organismes psychrophiles auraient un optimum de croissance entre 15c° et 20c°, certains pouvant se développer en dessous de 0c°. Il existerait également des bactéries dites psychrotolérantes dont l'optimum serait entre 20c° et 35c°. Aux deux pôles, ce sont les *alpha*-, et *gamma*-protéobactéries mais également les cytophagas-flavobactéries qui dominent. Les archées représenteraient jusqu'à 30 % de la population totale dont une majorité de *Methanoarchaea*. Les genres bactériens les plus rencontrés sont : *Alteromonas*, *Colwellia*, *Glacieola*, *Pseudoalteromonas*, *Shewanella* et *Polaribacter*. 60 % de la surface terrestre est composée d'eaux marines à plus de 1000 mètres de profondeur ayant une température autour de 4c°. Dans ces conditions environnementales, les bactéries sont dites psychrophiles, mais peuvent être également piézophiles ; tous les genres appartiennent aux *gammas* protéobactéries avec 5 genres dominants: *Photobacterium*, *Colwellia*, *Moritella*, *Shewanella* et *Psychromonas*. La caractéristique commune à toutes ces bactéries est la capacité à produire des acides gras polyinsaturés entrant de 50 à 70 % dans la composition de la membrane cytoplasmique. Leurs protéines sont généralement plus polaires et moins hydrophobes que celles des thermophiles, ce qui leur maintient une relative souplesse et leur permet d'optimiser leur fonctionnement.

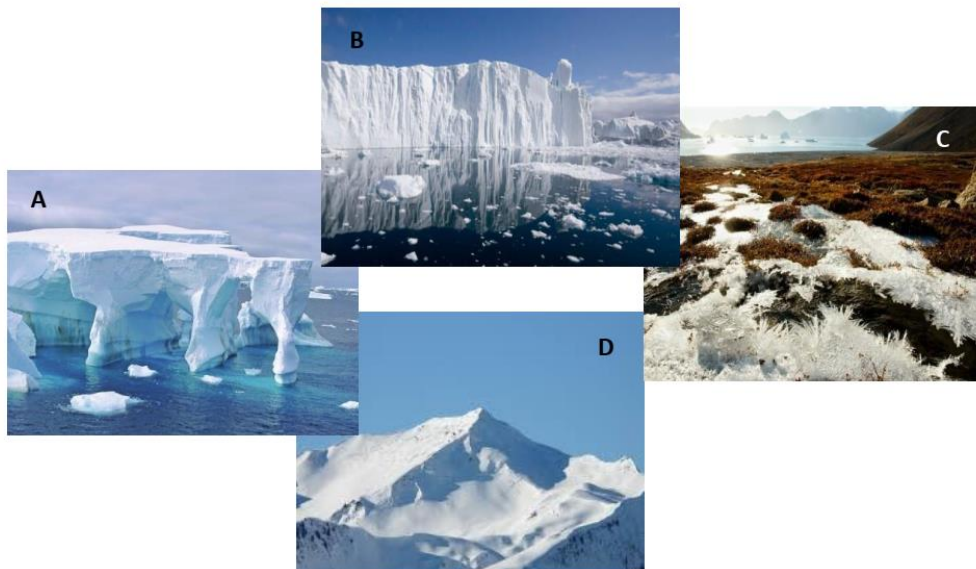


Figure 4 : Habitats naturels des microorganismes psychrophiles : (A) Glace de la mer Antarctique, (B) Glacier de l'arctique, (C) Sol gelé : permafrost, (D) Montagnes enneigées (Alpes)

3.4 Les micro-organismes acidophiles

Les environnements où sont retrouvés les micro-organismes acidophiles qui se développent de façon optimale à pH de 2,0 [26], sont très rares dans le monde, ont généralement un pH égale a 4 et souvent riches en métaux lourds (fer, arsenic, cuivre, zinc, chrome...) et métalloïdes.

La plupart de ces micro-organismes sont des chimio-lithotrophes acidophiles dont le métabolisme cellulaire est basé sur l'oxydation des composés ferreux et soufrés, appartenant aussi bien au domaine des *Bacteria* (*Acidithio-bacillusferrooxidans*, *leptospirillum*spp.etc...chez les mésophiles et *Sulfobacillus*spp chez les thermophiles) qu'à celui des *Archaea* (*Ferroplasma* et *Sulfolobus*spp; ces espèces sont essentiellement thermophiles). Les hétérotrophes strictes et facultatives colonisent également les environnements acides, elles appartiennent aux genres *Acidiphilium* et *Acidimicrobium* du domaine des *Bacteria*.

L'écosystème acide le plus étudié est le Río Tinto en Espagne avec un pH inférieur à 2, une longueur de 100 km de long, une concentration importante en métaux lourds et un surprenant niveau de diversité microbienne (**Figure5**) [27].



Figure 5 : Le fleuve de Rio Tinto-Espagne

3.5 Les micro-organismes alcaliphiles

Les alcalophiles sont des microorganismes qui se développent à des valeurs de pH égaux ou supérieures à 9,0, avec un pH optimum entre 10 et 12 [28]. Parmi les lacs de soude les plus stables et productifs se hisse le Lac Magadi au Kenya, avec des valeurs de pH supérieures à 10 atteignant parfois 12 [29].



Figure 6 : le Lac Magadi au Kenya

Des communautés microbiennes, qui prolifèrent à un pH de 12,9, ont été isolées des lacs de soude de Maqarin, en Jordanie [30].

Les alcalophiles sont souvent isolés de milieux naturels qui ont également tendance à avoir des concentrations élevées en chlorure de sodium (NaCl) ; ceux-ci sont ainsi appelés haloalcalophiles [31].

Quant aux thermo-alcalophiles, ils requièrent un pH alcalin pour leur croissance optimale et une température supérieure à 50c°. Ces sources thermales alcalines présentent de fortes concentrations en calcium avec un pH supérieur à 11, localisées en Californie, Oman, Chypre, en ex-Yougoslavie et en Jordanie. En ce qui concerne les environnements alcalins salés et fortement salés, sont des bassins fermés où la vitesse d'évaporation est élevée et permet d'atteindre une salinité de 35% en NaCl pour des pH compris entre 8 et 12. Ces lacs aux couleurs pouvant aller du vert au rouge, en passant par le rose ou l'orange selon la saison et l'ensoleillement se retrouvent sur les continents américain, australien, africain, asiatique et même en Europe.

La diversité microbienne retrouvée dans ces environnements est très variée mais les bactéries halo-alcaliphiles les plus étudiées sont les cyanobactéries filamenteuses (*Spirulina*, *Anabaenopsis* et *Arthrospira*) et les bactéries pourpres anoxygéniques (*Ectothiorhodospira* et *Halorhodospira*) [32], Mais également les bactéries fermentaires anaérobies à Gram positif.

A l'inverse les environnements alcalins faiblement salés sont plus rares. Dans des conditions alcalines, les concentrations des ions d'hydrogène sont très faibles et les cellules ont des difficultés à produire de l'énergie. Pour contourner ces problèmes, les microorganismes pompent ces ions et exportent d'autres afin de maintenir leur intérieur à proximité de la neutralité [33].

Les microorganismes présents dans ces milieux jouent un rôle important dans la reminéralisation de la matière organique au sein de l'écosystème. Ils sont les principaux contributeurs à la transformation du carbone organique, du soufre et des composés azotés. Ils ont aussi un rôle important dans les cycles des éléments nutritifs [34].

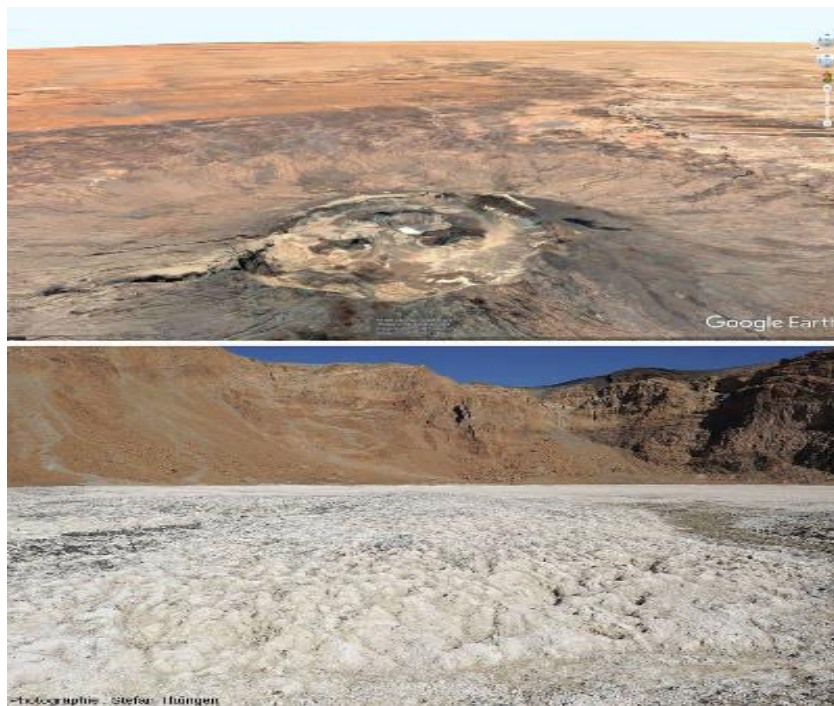


Figure 7 : Cratère de l'EmiKoussi dans le massif du Tibesti (Tchad)

3.6 Les micro-organismes piézophiles

Le terme piézophile (en Grec piezo = pression et philo = aimer) a été introduit officiellement en 1995 pour décrire les microorganismes barophiles [35]. Les premières tentatives pour isoler les micro-organismes adaptés à croître sous des pressions élevées, remontent à 1957 [36]. Ce n'est qu'en 1979, que les premières bactéries barophiles ont été définies comme celles ayant une croissance optimale à des pressions supérieures à 40 MPa (méga-pascal) [37].

Les bactéries piézophiles vivant dans des conditions abyssales océaniques (>5000 m de profondeur) sont également des bactéries psychrophiles car la température moyenne à ces profondeurs est de l'ordre de 4°C. On parle donc de bactéries piézopsychrophiles.

La première bactérie piézopsychrophile isolée est la souche CNPT 3, apparentée au genre *Spirillum*, retrouvée à une profondeur de 5600 mètres. Elle se développe de manière optimale entre 2 et 4°C pour une pression de 50 MP. Une deuxième souche, la souche MT 41 collectée à 10476 mètres de profondeur, pousse de manière optimale à 2°C et à 69 MP [35].

Les sources hydrothermales océaniques profondes constituent également un habitat idéal pour les bactéries piézophiles. Situées sur les dorsales océaniques, leur profondeur varie de 800 à 4000 mètres et la gamme de température s'étend de 2°C à 350°C. On peut donc y retrouver des thermopiézophiles [38].

Outre le milieu aquatique marin, il est possible de retrouver de tels micro-organismes dans les aquifères profonds, la croûte terrestre ou les réservoirs pétroliers.

Parmi les représentants des piézophiles, on cite les genres : *Shewanella*, *Colwellia*, *Moritella*, *Methanococcus*, *Pyrococcus* et *Thermus* [39].

D'autres microorganismes colonisent des milieux extrêmes, comme ceux capables de vivre en présence de fortes concentrations d'ions métalliques (métallophiles), à des niveaux élevés de rayonnement (radiophiles) ou en absence d'oxygène (anaérobies strictes) [40].

3.7 Les micro-organismes radio-résistants

Dans les milieux naturels, il existe des sites à relativement forte radioactivité, là où la teneur en uranium est élevée. La radiorésistance à une exposition artificielle varie de 1 à 2000 chez les bactéries et archées classiques [41].

Le champion de la résistance est la bactérie *Deinococcus-radiodurans* qui résiste à 3000 fois la dose létale pour un humain. Cette bactérie possède plusieurs mécanismes « réparateurs d'ADN » qui intéressent les biologistes cellulaires et les spécialistes du nucléaire.

La bactérie *Desulfo-rudisaudaxviator*, est une bactérie sulfato-réductrice classique qui vit normalement entre -1500 et -3000 m de profondeur dans le sous-sol. Mais on a également trouvé cette bactérie dans une mine d'uranium Sud-africaine, où elle constitue des biofilms sur des associations de cristaux pechblend-pyrrhotite (FeS). Cette bactérie est alors capable d'effectuer une réaction exothermique classique

dans le domaine des chimiolithotrophes et d'en utiliser l'énergie pour faire ses synthèses de matière organique à partir du CO₂ et de l'H₂O ambiants:



Dans ce cas, les réactifs initiaux (FeS et H₂O initialement présents dans la roche), contrairement à la chimiolithotrophie usuelle, ne sont pas consommés, car ils sont reconstitués. Dans ce cas précis, la source d'énergie de *Desulforudisaxviator* à la base de son autotrophie vis-à-vis du carbone, ce n'est pas la lumière, ni la consommation d'un couple oxydant-réducteur, mais la radioactivité.

La bactérie *Desulfo-rudisaxviator* profite de l'association de ces deux minéraux pour utiliser la radioactivité comme source d'énergie pour ses synthèses.



Figure 8 : Échantillons de pechblende (UO₂) et de pyrrhotite (FeS).

3.8 Les micro-organismes xérophiles

Ces micro-organismes vivent dans les milieux arides très pauvres en eau supportent les forts dessèchements. Capables de résister à la dessiccation, ayant besoin de peu d'eau pour survivre. On les retrouve dans le désert, connus sous le nom de vernis (ou patine) du désert.

Ils se présentent sous la forme de fins biofilms riches en oxydes de fer et de manganèse associés à des argiles d'altération résultant de l'action biologique d'organismes xérophiles. Ces derniers peuvent vivre dans des roches, ce qui leur permet de se protéger, à la fois de la perte d'eau et des fortes radiations solaires.

De telles structures peuvent renseigner sur d'éventuelles traces de vie passées ou actuelles, l'ADN pouvant être piégé dans le vernis. Elles pourraient être présentes sur d'autres planètes (Mars) [40].



Figure 9 : Blocs de dolérite recouverts par la patine du désert (biofilms) dans le désert de Namibie.

Tableau I. 1 : Microorganismes extrémophiles et leurs environnements (Adapté de Horikoshi and Bull (2011)).

Microorganismes extrémophiles	Environnement favorable à la croissance
Acidophile	pH optimum de croissance < 3
Alcaliphile	pH optimum de croissance > 10
Halophile	Nécessite au moins 1M de sel pour la croissance
Hyperthermophile	Croissance optimale à des températures > 80 °C
Thermophile	Croissance à des températures entre 60 °C et 85 °C
Eurypsychrophile (psychrotolérant)	Croissance à des températures > 25 °C, mais également < 15 °C
Stenopsychrophile (psychrophile)	Croissance à des températures entre 10 °C et 20 °C
Piezophile	Croissance sous haute pression → 400 atm (40 MPa)
Endolithique	Croissance à l'intérieur des roches
Hipolithe	Croissance sur les roches et les déserts froids
Oligotrophe	Capable de croître dans des environnements faibles en nutriments
Radiorésistant	Tolérance à de fortes doses de radiations
Metallotolérant	Tolérance aux fortes concentrations de métaux lourds
Toxitolérant	Tolérance aux fortes concentrations d'agents toxiques (solvants organiques)
Xerophile	Croissance en présence d'une faible disponibilité d'eau, résistance à la dessiccation

Chapitre 02

Propriétés des extrémophiles

1 Propriétés des extrêmophiles

Les extrêmophiles montrent une extraordinaire capacité d'adaptation aux conditions physicochimiques brutales régnant dans certains environnements dits extrêmes tant en termes de température, de salinité, de pH que de pression hydrostatique.

Répondant dans ces niches écologiques extrêmement hostiles, ces micro-organismes vivent en utilisant leur polyvalence adaptative dans différentes situations de stress.

Ils ont développé plusieurs stratégies. Ils présentent de ce fait un répertoire de voies métaboliques et de biomolécules originales leur permettant non seulement de survivre dans ces conditions, mais aussi de se développer souvent de manière optimale.

Les cellules sont capables de contrôler jusqu'à un certain point les conditions intracellulaires pour certains paramètres comme l'osmolarité.

De ce fait, le pH intracellulaire de souches alcaliphiles sera inférieur à celui du milieu extérieur et inversement pour les espèces acidophiles.

En revanche, pour certains paramètres, comme la température, la pression, les conditions du milieu extérieur s'imposent aux cellules dans leur globalité, membranes, milieu intérieur et totalité des constituants cellulaires. Ces constituants cellulaires devront être non seulement stables dans ces conditions, mais surtout, fonctionnels.

La stabilité de chacune des biomolécules prise isolément et testée dans les conditions du milieu extérieur n'est toutefois pas toujours requise, du fait que le milieu intérieur peut bénéficier de l'effet de certains solutés organiques ou d'une protection au sein de complexes macromoléculaires.

Nous n'illustrerons ici que certaines propriétés, et plus particulièrement la thermostabilité des protéines et l'osmoadaptation.

1.1 Stabilité des constituants cellulaires

L'une des premières questions qui se pose pour les hyperthermophiles est celle de la stabilité de leur matériel génétique. Comment est préservée l'intégralité du message génétique stockée dans le chromosome et comment peuvent opérer la transcription et la traduction au-dessus de 100-110°C ? A ces températures, *in vitro*, l'ARN est dégradé et l'ADN linéaire et circulaire est dénaturé (séparation des deux brins de la double hélice) puis dégradé.

Les acides nucléiques des hyperthermophiles sont formés à partir des mêmes nucléotides et possèdent une structure identique à celle des mésophiles. Il a été démontré que des histones archéennes ou des histones « like » augmentent la température de dénaturation de l'ADN, mais ne préviennent pas la thermodégradation.

La stabilité des acides nucléiques à haute température chez les hyperthermophiles résulte sans doute d'une interaction avec des protéines de liaisons non spécifiques qui restent à découvrir. Il a également été démontré que la thermodégradation de l'ADN est réduite en présence de concentrations physiologiques de sels monovalents (50 à 500 mM de KCl ou NaCl) ou divalents (1 à 25 mM MgCl₂).

Les protéines et tout particulièrement les enzymes des hyperthermophiles doivent être thermostables et fonctionner dans les conditions de température rencontrées dans les sources thermales ou hydrothermales.

Quant à la thermostabilité d'une enzyme est corrélée à la température de croissance de l'organisme source.

De plus, les travaux de protéomique comparée ont permis d'établir que la thermostabilité d'une protéine est liée à une augmentation du nombre de résidus Glu (E) et Lys (K) combinée à une réduction de résidus Gln (Q) et His (H). Un rapport $(E + K)/(Q + H)$ supérieur 4,5 signerait la présence d'un hyperthermophile.

Le nombre de résidus chargés aurait un impact sur la solubilité tandis que leur position serait importante pour la stabilité. Pour clore cette liste, il semble que l'importance des ponts disulfures dans la stabilisation des protéines thermostables d'archées ait été sous-estimée [41]. Chaque protéine est le résultat d'une évolution propre qui optimise son repliement et les interactions externes avec les solvants par différents mécanismes [42].

Ces stratégies ne sont nécessairement utilisées toutes simultanément pour conférer à une protéine une thermostabilité accrue. Elles semblent correspondre à une « boîte à outils » dans laquelle l'évolution a puisé au fil du temps pour répondre au besoin des extrémophiles.

1.2 Osmoadaptation

Tous les procaryotes ont dû développer des stratégies adaptatives leur permettant d'ajuster les concentrations des solutés intracellulaires aux concentrations externes.

Dans le cas des halophiles, cette adaptation aux fortes concentrations du milieu extérieur implique l'accumulation de solutés intracellulaires afin de contrer la pression osmotique qui autrement conduirait à la déshydratation et à la mort.

Deux stratégies principales ont été identifiées pour équilibrer la pression osmotique extérieure : le flux de certains ions dans la cellule et l'accumulation de solutés compatibles organiques de faible poids moléculaire. La première stratégie semble être limitée à quelques genres d'archées halophiles extrêmes (*Halobacterium*, *Haloarcula*, *Haloquadratum*, *Halorhabdus*, *Natronobacterium*, et *Natronococcus*) et de bactéries halophiles extrêmes (*Salinibacter*).

Le cation majoritairement accumulé est K^+ . De nombreuses enzymes de ces espèces présentent un enrichissement en résidus acides et une activité K^+ dépendante.

La seconde stratégie n'est pas limitée aux halophiles, mais les propriétés remarquables de certains solutés organiques leur ont permis de s'adapter aux conditions changeantes.

Les solutés compatibles regroupent des molécules de structures très diverses : acides aminés, sucres (tréhalose, sucrose), phosphodiesteres, et glycérate [43] Phosphodiesteres et glycérate sont des solutés chargés, les autres sont neutres.

Parmi les acides aminés et dérivés, seuls un petit nombre a un rôle de soluté compatible : glutamine, glutamate, lysine (chez les méthanogènes), proline, glycine bétaine, ectoïne et hydroxyectoïne chez de nombreuses halophiles.

L'adaptation à la salinité par l'accumulation de solutés organiques nécessite moins d'adaptation de la machinerie enzymatique intracellulaire que la stratégie de l'accumulation des ions potassium, cependant la production des solutés est énergétiquement coûteuse [44].

1.3 Adaptation aux pH extrêmes

Le record de l'acidophilie est atteint par l'archée thermoacidophile *Picrophilus-torridus* dont l'optimum de croissance se situe à pH 0,7 et 65 c° capable de se diviser à pH 0 et dont le milieu intracellulaire est à pH 4,6.

Le séquençage du génome complet de *P. torridus* a permis de rechercher les mécanismes d'adaptation à ce pH extrême.

Elle est capable de produire des enzymes extracellulaires, dégradant les polymères, résistantes aux conditions du milieu extérieur.

Elle offre ainsi l'opportunité d'analyser les spécificités d'enzymes thermostables fonctionnelles en milieu acide.

L'une des adaptations majeures de *P. torridus* tient à la composition de sa paroi cellulaire.

Elle présente une faible perméabilité aux protons (H⁺) une grande stabilité aux acides et perd sa cohésion à pH 7 [45].

1.4 Adaptation des psychrophiles à basse température

A basse température, les bactéries font face à plusieurs contraintes comme : une diminution de la fluidité de la membrane, une diminution de la vitesse des réactions enzymatiques, une stabilisation des structures secondaires des acides nucléiques entraînant une diminution de l'efficacité de la transcription et de la traduction, un ralentissement du processus de repliement des protéines. En réponse à ces contraintes, plusieurs mécanismes sont constatés.

Pour la fluidité membranaire la synthèse des acides gras insaturés, poly-insaturés et acides gras branchés est favorisée.

Une diminution de la longueur des chaînes hydrocarbonées est également constatée. Ces changements visent à introduire une contrainte stérique et à diminuer le nombre d'interactions au sein de la membrane, augmentant la fluidité de celle-ci [25].

Quant à L'adaptation des enzymes est expliquée par la relation « activité-stabilité-flexibilité ». Celle-ci suggère que les enzymes psychrophiles augmentent leur flexibilité globale ou celui de leur site actif afin de compenser la rigidification induite par le froid. De ce fait, elles perdent de leur stabilité mais gagnent en activité [25].

Chapitre 03

Applications biotechnologiques.

Les micro-organismes extrêmophiles et leurs applications

Les micro-organismes en général sont d'abondantes sources d'enzymes uniques pouvant être utilisées en particulier en biotechnologie.

Pour faire face à la demande croissante des industriels notamment dans le domaine des biocatalyses et en se basant sur le modèle de la synthèse organique traditionnelle pour aboutir à une chimie verte plus respectueuse de l'environnement, de nombreux efforts ont été fournis pour la recherche d'enzymes d'intérêt. Ceci est particulièrement vrai pour les enzymes provenant de microorganismes extrêmophiles (extrémozymes).

En effet, leur robustesse, leur capacité à réaliser des réactions chimiques dans des conditions extrêmes et parfois le caractère unique des réactions chimiques qu'elles réalisent les rendent très intéressantes pour de multiples applications.

Ainsi les biotechnologies utilisent des extrémozymes pour la production de biocarburants ou de molécules pharmaceutiques.

Les enzymes halophiles sont capables de fonctionner dans des milieux salés, dans les solvants organiques et dans une large gamme de pH. Elles sont utilisées dans les procédés agroalimentaires, dans l'industrie papetière ainsi que dans l'industrie textile.

En ce qui concerne la stabilité des enzymes actives à des températures élevées d'intérêt industriel, nous pouvons citer les protéases, les lipases et d'autres hydrolases comme les cellulases, les chitinases et les amylases, sans oublier la Taq polymérase [1].

En effet, une des bactéries thermophiles les plus connues dont les enzymes ont trouvé une application industrielle est *Thermus-aquaticus*, bactérie thermophile aérobie, isolée en 1969 dans une source chaude du parc national de Yellowstone par le microbiologiste américain Thomas Brock. La Taq polymérase est régulièrement utilisée pour la réaction d'amplification de l'ADN par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dans la plupart des laboratoires de recherche publics ou privés dans le cadre des expériences en biologie moderne. Cette enzyme est capable de supporter les nombreux cycles de montée en température atteignant 94°C [46].

Les applications d'enzymes actives à des basses températures sont également étudiées en partie pour des raisons d'économie d'énergie. L'exemple le plus connu est l'utilisation d'enzymes psychrophiles (protéases, lipases) dans les détergents ménagers.

Il est également possible d'utiliser ce type d'enzymes dans l'industrie du papier grâce à des enzymes dégradant les polymères (xylanases).

Les bactéries halophiles à hyperhalophiles ont la capacité de croître dans des conditions hypersalées grâce à une régulation osmotique intracellulaire aboutissant à l'accumulation de molécules de bas poids moléculaires leur permettant de vivre en isotonie avec le milieu naturel.

Ces molécules de bas poids moléculaires, comme la glycine-bétaine ou l'ectoïne, présentent un grand intérêt notamment dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques. Ceci est particulièrement vrai pour l'ectoïne qui est un des composants importants de certaines crèmes à vocation hydratante.

En ce qui concerne les enzymes halophiles, elles peuvent supporter des concentrations très élevées de sel (par exemple, 30 % en NaCl ou KCl) [47], [48] et sont tout à fait applicables dans des procédés industriels qui génèrent des sels (neutralisation des acides dans l'industrie).

Certaines bactéries, comme *Halomonaseuri-halina*, produisent de grandes quantités d'un polysaccharide extracellulaire poly-anionique (EPS V2-7) aux propriétés émulsifiantes utilisé en industrie alimentaire ou pharmaceutique. Une multitude d'autres utilisations peut être envisagée en biotechnologie : élimination du sel, des composés aromatiques, organophosphorés et phénoliques, etc..... Concernant la production d'une enzyme par *Halobacterium-halophilum*, la bactériorhodopsine, son imprégnation sur des puces informatiques augmenterait les performances de ces dernières.

Des bactéries halophiles se développant à 19 % de NaCl interviennent également en industrie alimentaire, notamment dans la fermentation de la sauce soja ou dans la préparation de la sauce poisson appelée nuocmam. Dans le cadre de la biologie moderne, il est concevable de réaliser des transferts génétiques permettant de donner des capacités de résistance au sel et à la sécheresse à des céréales comme le blé, le riz ou l'orge, tenant compte de l'information génétique générée par le séquençage de génomes de bactéries halophiles.

Les bactéries acidophiles et alcaliphiles sont capables de produire des protéases, des amylases, des lipases et autres enzymes résistantes et actives à pH élevé et à des hautes concentrations chélatrices de détergents.

Dans cet esprit, des processus d'hydrolyse de polymères à pH acide ont fait intervenir des biocatalyseurs d'acidophiles.

C'est le cas de plusieurs enzymes utilisées pour l'hydrolyse de l'amidon (les amylases, pullulanases, glucoamylases et glucosidases qui doivent être actives à pH acide) [49], [50].

Enfin les protéines résistantes à la pression peuvent être utiles, en particulier pour la production alimentaire où la haute pression est appliquée pour le traitement et la stérilisation de produits alimentaires [51].

Contrairement au traitement à haute température, les hautes pressions sont spécifiques dans la mesure où : (a) elles ne provoquent pas la réaction de Maillard, (b) elles ne modifient pas les liaisons covalentes, et donc ne peuvent pas détruire les arômes naturels ou les colorants, comme c'est le cas avec la température.

Tableau I. 3: Applications des extrêmophiles en biotechnologie, médecine et industrie

Source	Biomolécule	Process
Thermophiles	ADN polymérase	Polymerase Chain Reaction (PCR) (diagnostique)
Thermophiles Psychrophiles	Protéases	Industrie alimentaire, industrie laitière
Thermophiles	α -amylase	Blanchiment de papier
Alcalophiles Psychrophiles	Protéases, amylases, cellulases, lipases	Dégradation des polymères et détergents
Alcalophiles	Antibiotiques	Traitement d'infections
Psychrophiles	Acides gras insaturés	Suppléments alimentaires
Psychrophiles	Déshydrogénases	Biosensors
Halophiles	Solutés compatibles Glycérol	Industrie pharmaceutique
Halophiles	Carotène	Additif alimentaire
Psychrophiles		Bioremédiation
Radio-résistants		Bioremédiation des déchets radioactifs

Conclusion

Conclusion

D'après notre étude bibliographique nous concluons que :

Les microorganismes extrémophiles peuvent être répertoriés en plusieurs groupes, selon leurs paramètres de croissance et les conditions dans lesquelles ils existent (hautes et basses températures, valeurs extrêmes de pH, hautes concentrations de sel, hautes pressions et radiations).

Ces microorganismes ont développé des stratégies adaptatives très variées. Ils présentent de ce fait un répertoire de voies métaboliques et de biomolécules originales leur permettant non seulement de survivre dans des conditions extrêmes, mais aussi de se développer souvent de manière optimale dans des niches écologiques extrêmes.

La caractéristique la plus importante de ces microorganismes est leur enzymes exceptionnelles, qui par leur robustesse, leur capacité à réaliser des réactions chimiques dans des conditions extrêmes et parfois le caractère unique des réactions chimiques qu'elles réalisent les rendent très intéressantes pour de multiples applications biotechnologiques qui sont couramment effectués dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques, papetières, chimiques, agricoles, textiles, alimentaires.

L'importance des extrémophiles est démontrée non seulement par ce qu'ils peuvent nous apprendre sur la recherche fondamentale sur la biodiversité, mais aussi par leur énorme potentiel en tant que sources d'enzymes et d'autres molécules ayant des applications en biotechnologie.

Leurs caractéristiques uniques en font des cibles de choix pour l'exploitation par les industries biotechnologiques dans le monde. Ainsi, les recherches axées sur ces organismes sont largement tirées par les applications biotechnologiques déjà acquises et par celles susceptibles de s'appuyer sur des biomolécules aux propriétés inédites pouvant conduire au développement de nouveaux produits.

Références bibliographiques

- [1] **Van Den Burg. B. (2003).** Extrêmophiles as a source for novel enzymes. *Curr. Opin.Microbiol*, 6, 213–218.
- [2] **Peduzzi. R., Tonolla. M., Boucher-Rodoni. R. (2006).** Milieux extrêmes: Conditions de vie en milieu alpin et milieu marin, Actes et contributions scientifiques: 9.
- [3] **Perry. J. J., Staley. T. J., Lory S. (2004).** Microbiologie « Cours et questions de révision» Ed.Dunod, pp 397- 403.
- [4] **Satyanarayana. T., Raghukumar. C., and Shivaji. S. (2005).** Extremophilicmicrobes:Diversity and perspectives: *Current science*, 89, 78-90.
- [5] **Abdoun. E. (2014).** *Science & Vie* 1161, 70-77.
- [6] **Banik. J . J., Brady. S .F. (2010).** *Current opinion in microbiology* 13, 603-609.
- [7] **Cowan. D . A., Ramond. J .B., Makhalanyane. T .P ., DeMaayer. P. (2015).** *CurrOpinMicrobiol* 25,97-102.
- [8] **Kristjansson. J. K., Hreggvidsson. G. O. (1995).** Ecology and habitats of extremophiles. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 17-25.
- [9] **Albers. S., Vossenber. J., Driessen. A., and Konings. W. (2001).** Bioenergetics and soluteuptakeunderextreme conditions. *Extremophiles*; 5: 285-294.
- [10] **Irwin. J. A., Baird. A. W. (2004).** Extremophiles and their application to veterinary medicine. *Irish Veterinary Journal*. 57 (6).
- [22] **Kamekura. M.** Halophilic adaptation of enzymes.*Extremophiles* 1998;2:289-295.
- [23] **Ollivier. B., Caumette. P., Garcia JL et Mah. R. A.** Anaerobic bacteria from hyper saline environments. *MicrobiolRev* 1994;58,1:27–38.
- [24] **Madigan. M., Martinko. J., Brock. (2007).** *Biologie des micro-organismes*. Pearson Éducation, France.

- [25] **Damic. S., Collins.T., Marx. J.C., Feller. G., Gerday. C. (2006).** Psychrophilic micro-organisms : challenges for life. *EMBO Rep*; 7: 385-389.
- [26] **Morozkina. E .V., Slutskaya. E. S., Fedorova. T.V., Tugay. T. I., Golubeva. L. I. and Koroleva. O. V. (2010).** Extremophilic microorganisms: Biochemical adaptation and biotechnological application. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46: 1-14.
- [27] **Fardeau. M. L., Gounant. C., Dorléac. N., Cayol .J. L., and Ollivier. B. (2005).** Isolation and phylogenetical characterization of anaerobic thermophiles originating from thermal springs inFrance. In *Thermophiles 05 – From evolution to revolution*.International Conference,Griffith University, Australia;86.
- [28] **Horikoshi. K. (1999).** Alkaliphilies: Some Applications of their products for biotechnology. *Microbe and Molecule Biol Rev.*, 63, 735-750.
- [29] **Jones. B. E., Grant. W. D., Duckworth. A. W. and Owenson. G. G. (1998).** Microbial diversity of soda lakes. *Extremophiles. 2*, 191–200.
- [30] **Pedersen. K., Nilsson. E., Arlinger. J., Hallbeck. L. and O’Neill. A. (2004).** Distribution, diversity and activity of microorganisms in the hyper-alkaline spring waters of Maqarin in Jordan. *Extremophiles*; 8: 151-164.
- [31] **Gareeb. A. P. and Setati. M. E. (2009).** Assessment of alkaliphilichaloarchaeal diversity in Sua pan evaporator ponds in Botswana. *African Journal of Biotechnology*, 8: 259-267.
- [32] **Gregoire. P., Fardeau. M. L., Guasco. S., Bouanane. A., Michotey. V., Bonin. P., Dubourg. K., Cambar. J., et Olivier. B. (2009).** Les micro-organismes de l’extrême. *PressTherm Climat*,6:49-61.
- [33] **Horikoshi. K. (2006).** Alkaliphiles – Genetic properties and applications of enzymes. *Tokyo, Kodansha-Springer*, p. 258.
- [34] **Sarethy. I. P., Saxena. Y., Kapoor. A., Sharma. M., Sharma. S. K., Gupta. V., and Gupta, S. (2011).** Alkaliphilicbacteria : applications in industrial biotechnology. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 38,769–790.
- [35] **Yayanos. A. A. (1995).** Microbiology to 10,500 m in the deep sea.*Annu. Rev. Microbiol.*, 49, 777–805.

- [36] **Zobell. C. E., Morita. R. Y.** Effect of hydrostatic pressure on the succinic deshydrogenasesysteme in Echerichia coli. *J Bactériol* 1956 jun, 71(6): 668-72.
- [37] **Yayanos. A. A., Dietz. A. S. and Vanboxtel. R. (1979).** Isolation of a deep-sea barophilic bacterium and some of its growth characteristics. *Science*, 205, 808-810.
- [38] **Zeng. X, Birrien. J. L., Fouquet. Y., Cherkashov. G., Jebbar. M., Querellou. J. (2009).** *Pyrococcus*CH1, an obligate piezophilic hyperthermophile : extending the upper pressure temperature limits for life. *ISME Journal.*, 1-4.
- [39] **Abe F. et Horikoshi. K., (2001).** The biotechnological potential of piezophiles. *TRENDS in Biotechnology*, 19(3) :102–108.
- [40] **Detay. M., Thomas. P. (2018).** Les extremophiles dans leurs environnements géologiques :Un nouveau regard sur la biodiversité et la vie terrestre et extraterrestre <https://planet-terre.ens-lyon.fr/ressource/extremophiles.xml>.
- [41] **Ladenstein. R., RenEN. B. (2008).** Reconsideration of an early dogma, saying « there is no evidence for disulfide bonds in proteins from archaea ». *Extremophiles*, 12(1): 29-38.
- [42] **Jaenicker. R. (2000).** Stability and stabilization of globular proteins in solution. *J. Biotechnol.*, 79(3), p. 193-203 .
- [43] **Empadihas. N., DacostaM. S. (2008).** Osmoadaptation mechanisms in prokaryotes : distribution of compatible solutes. *Int. Microbiol.*, 11(3), p. 151-161 .
- [44] **Oren. A. (2002).** Diversity of halophilic microorganisms: Environments, phylogeny, physiology, and applications. *Journal of IndustriaMicrobiology and Biotechnology*, 28, 56– 63.
- [45] **Futterer. O. (2004).** Genome sequence of *Picrophilus torridus* and its implications for life around pH 0. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 101(24), p. 9091-9096 (2004).
- [46] **Forterre. P.** *Microbes de l'enfer.* (2007); Edited by Forterre P. Belin-Pour la science-Paris.
- [47] **Van den Burg B.(2003).** Extremophiles as a source for novel enzymes. *Current Opinion in Microbiology* 6:213-218.

- [48] **Demirjian. D. C., Moris-Varas. F., Cassidy. C. S. (2001).** Enzymes from extremophiles. *Curr Opin Chem Biol*;5:144-151.
- [49] **Bertoldo. C., Antranikian. G. (2002).** Starch-hydrolyzing enzymes from thermophilic Archaea and Bacteria. *Curr Opin Chem Biol*;6:151-160.
- [50] **Serour. E., Antranikian. G. (2002).** Novel thermo active glucoamylases from the thermoacidophilic Archaea *Thermoplasma acidophilum*, *Picrophilus torridus* and *Picrophilus oshhimae*. *Antonie Van Leeuwenhoek* ;81:73-83.
- [51] **Hayashi. R. (1996).** Use of high pressure in bioscience and biotechnology. In *High pressure Bioscience and Biotechnology*, Edited by Hayashi R, Balny C. Elsevier.:1-6

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : ECOLOGIE MICROBIENNE.

Titre : les extremophiles dans leurs environnements et leurs applications biotechnologiques

Résumé :

Cette étude est une synthèse bibliographique sur les micro-organismes qualifiés d'extrémophiles, qui pour certains, vivent en présence de sel à forte concentration (halophiles), pour d'autres à des températures froides ou chaudes (psychrophiles et thermophiles), dans des milieux très acides ou basiques (acidophiles et alcaliphiles) ou sous pression (piézophiles). Dans ces niches écologiques extrêmement hostiles où les conditions de vie non conventionnelles, ces microbes de l'extrême ont mis en place des stratégies pour s'adapter aux stress physicochimiques auxquels ils sont confrontés. Plusieurs enzymes produits par les extrémophiles (extrémolytes) et leurs activités enzymatiques, ont trouvées des applications nouvelles en biotechnologie. Les plus connues et les plus variées sont utilisées en biologie moléculaire, en chimie fine, dans l'industrie des détergents, dans l'agro-alimentaire, dans le secteur des biocarburants, etc.

Mot clés : Extrémophiles, environnements, Stratégies, adaptation, enzymes et biotechnologie

Membre du jury :

- **Président du jury :** Mme RIAH Nassira (MCA-UFM Constantine).
- **Rapporteur :** Mme BOUZERAIB Latifa (MAA-UFM Constantine1).
- **Examineurs :** Mme HACHEMI zoubaida (MAA Constantine 3).

Présentée par : BELALA seif eddine
BOUSEBA abdeldjalil
CHEROUAT billel

Année universitaire : 2020-2021