

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

## République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de MICROBIOLOGIE

كلية علوم الطبيعة والحياة  
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 : Écologie microbienne

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Les microorganismes halophiles et leurs potentiels  
biotechnologiques.**

---

Présenté par : Kifouche Assia

Le 29/06/2022

Bensaci Rania

Bouderbala Imene

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme HACHEMI zoubaida (MAA Constantine 3).

Examineur 1 : Mme BOUZERAIB Latifa (MAA-UFM Constantine1).

Examineur 2 : Mme RIAH Nassira (MCA-UFM Constantine).

Année universitaire 2021 - 2022

## ***Remerciements***

*Nous remercions ALLAH le tout-puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce présent travail.*

*C'est avec un grand sentiment d'accomplissement que nous concluons cette étape très importante de notre vie, et qui n'a été possible que grâce à la contribution et au soutien de plusieurs personnes, auquel on tient à exprimer notre profonde gratitude.*

*Nous remercions profondément et sincèrement notre encadreur Madame Hachemi zoubaida pour son professionnalisme, ses précieux conseils et pour son aide ; pour les efforts fournis durant de cette période d'études afin de nous apporter aide, conseils et orientation, ainsi que tous les professeurs de la promotion Master1 et Master2 écologie microbienne qui étaient à la hauteur de cette lourde responsabilité, merci du fond du cœur.*

*Nous remercions également Mme Riah Nacira et Mme Bouzeraib Latifa d'avoir accepté d'examiner notre travail et pour l'honneur qu'elles nous font de siéger au jury de notre mémoire.*

*Nous adressons également un immense merci à toute la famille du département de microbiologie en particulier madame Abdelaziz wided et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à nos formations enseignantes, collaborateurs ou simples agents.*

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



## **DÉDICACES**

*Après des années de lutte, me voici aujourd'hui au coin de mon rêve. Je serai couronné de ma réussite, qui a porté ses fruits après les difficultés.*

*Je dédie ce travail à l'Ames de mes chères grandes parent « ABDELLAH » et « MARIEM » que dieu lui accueille dans son vaste paradis.*

*À Mon père « MOUNIR », mon premier modèle dans la vie. Ma fierté et mon honneur. A celle qui m'a appris les premières lettres, A celle qui m'a appris que le monde est un combat et son arme est la connaissance.*

*De plus , je remercie chaleureusement de tout mon cœur ,et je dédie le fruit de mon travail a la personne la plus chère à mon cœur ,celle qui à illuminé ma vie par ses bons conseils ; elle qui à été un océan pur d'amour et de sourires encourageants constamment ,elle qu'Allah à couronné de prestige et de dignité, et qui m'a toujours motivée dans la poursuite de me études : Ma Mère « Amel » .*

*A mes chers frères qui sont là mes cotes pour me soutenir « LAMIS », « BOUTHEINA » et « ACHRAF ».*

*À mon binôme, ASSIA, et IMENE et à tous mes amies en particulier : «MAROUA, NIHED, NADA, MARIA, SARA ». Merci d'être toujours là pour moi que Dieu vous garde.*

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

**RANIA**





## **DÉDICACES**

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

*A L'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon grand-père Rabah.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, ma grand-mère Aldjia qui j'adore.*

*A mes chers parents, Ali et Ouarda pour leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*Un spécial dédicace pour mes sœurs d'amour « Rawdhat El Djénna » et « Assia » et pour mon frère « Djaafer » merci d'être là pour m'encourager et pour me soutenir je vous souhaite que du bonheur.*

*A la personne qui m'a toujours aidé et encouragé, qui était toujours à mes coté ; et qui m'a accompagnaient durant mon chemin d'études ; source d'espoir et de motivation «Oussama ».*

*A mon binôme Rania et Imene et à toute leur famille.*

**ASSIA**



## **DÉDICACES**

*À l'aide d'Allah le tout Puissant qui m'a guidée et qui m'a tracée le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail.*

*À la mémoire de ceux qui m'ont donnée naissance et m'ont offert tous ce qu'ils ont d'amour et de tendresse.*

*À ceux que j'aime fortement à mes parents je prie Allah de les accueille dans Son vaste paradis.*

*Ma grande gratitude s'adresse à mes adorables chères sœurs : ma joie et ma vie, qu'Allah réalise tout ce qu'elles espèrent et souhaitent dans leur vie.*

*À mes frères et mes petits adorables nièces et neveux, je dédie ce travail.*

*Une dédicace spéciale à notre encadrante Mme. Hachemi zoubaida pour sa patience et ses conseils. À elle je m'exprime mon profond respect.*

*Mes vifs remerciements vont à mon binôme : Rania et Assai pour leur gentillesse et leur contribution à elles, je souhaite une longue vie pleine de joie et de réussite.*

*À mes deux amies biens aimées avec qui j'ai passé les plus beaux jours À : Chaima et Hiba je réclame le succès et la bonté.*

*À tous ceux que j'aime et qui m'aiment, je dis : ♥Merci ♥*

**IMENE**



## **Résumé**

Les microorganismes halophiles vivent en présence de sel à forte concentration, leur résistance à ces conditions leur confère des caractéristiques étonnantes, ce qui révèle un véritable atout biotechnologique.

Cette étude est une synthèse bibliographique sur ces microorganismes, leurs différents habitats, leurs diversités phylogénétiques et les différentes stratégies adaptatives qui ont développées pour s'adapter aux stress physicochimiques auxquels ils sont confrontés dont le mécanisme type KCL ou halobacterial et l'osmorégulation.

Plusieurs molécules produites par ces organismes et leurs activités enzymatiques, ont trouvées des applications nouvelles en biotechnologie. Les plus connues et les plus variées sont utilisées en plusieurs domaines : médical, pharmaceutique, alimentaire, agronomique et industriel.

Leur utilisation a ouvert la voie vers une biotechnologie future.

**Mots clés** : Environnements salins, Halophiles, utilisations biotechnologiques.

**Abstract:**

Halophilic microorganisms live in the presence of high concentration salt. Their resistance to these is a real biotechnological asset.

This study is a bibliographic synthesis on these microorganisms, their different habitats, their phylogenetic diversities and the various adaptive strategies that have been developed to adapt to the physicochemical stresses they are confronted with, including the mechanism type KCl or Halobacterial and osmoregulation.

Several molecules produced by these organisms and their enzymatic activities, have found new applications in biotechnology. The best known and most varied are used in several fields: medical, pharmaceutical, food, agronomic and industrial .

Their use has paved the way for future biotechnology.

**Keywords :** Saline environments, Halophiles, Biotechnology use

## ملخص

تعيش الكائنات الحية الدقيقة الهالوفيلية في وجود ملح عالي التركيز. مقاومتهم لهذه هذا هو أصلا لتكنولوجيا الحيوية الحقيقي.

هذه الدراسة عبارة عن تركيب بيليوغرافي حول هذه الكائنات الحية الدقيقة وموائل المختلف وتنوعها الوراثي واستراتيجيات التكيف المختلفة التي تم تطويرها للتكيف معا لضغوط الفيزيائية الكيميائية التي تواجهها، بما في ذلك نوعا لألية KCl أو Halobacterial والتنظيم التناسلي.

وجدت العديد من الجزيئات التي تنتجها هذه الكائنات الحية وأنشطتها الإنزيمية التطبيقات الجديدة في مجال التكنولوجيا الأحيائية. وتستخدم أشهرها وأكثرها تنوعا في عدة مجالات: الطبية والصيدلانية والغذائية والزراعية والصناعية.

لقد مهد استخدامها الطريق للتكنولوجيا الحيوية المستقبلية.

**الكلمات الرئيسية:** البيئات المالحة، الهالوفيلات، استخدام التكنولوجيا الحيوية



## Table des matières

- **Remerciements.**
- **Dédicaces.**
- **Dédicaces.**
- **Dédicaces.**
- **Listes des figures.**
- **Liste des tableaux.**
- **Résumé.**

Introduction.....1

❖ **Synthèse bibliographiques :**

➤ **Chapitre01 : *Les extrémophiles.***

1 Définition.....	4
2. Classification et habitat .....	4
2.1. Microorganismes psychrophiles.....	5
2.2. Microorganismes thermophiles et hyper thermophiles.....	6
2.3. Microorganismes halophiles.....	6
2.4. Microorganismes piézophiles.....	7
2.5. Microorganismes acidophiles.....	8
2.6. Microorganismes alcaliphiles.....	8
2.7. Microorganismes xérophiles.....	9
2.8. Microorganismes radio-résistants.....	10
3. Applications biotechnologiques.....	13

➤ **Chapitre 02 : *Les halophiles.***

Généralités.....	15
1. Origine des environnements hyper salins.....	15
2. Physicochimie des environnements hyper salins.....	16
2.1. Température.....	16
2.2. Oxygène.....	16

2.3. pH. ....	17
3. Diversité des microorganismes halophiles.....	17
4. Habitat.....	18
5. Biologie des microorganismes halophiles.....	20
5.1. Caractéristique.....	22
5.2. Facteur affectant la croissance des halophile.....	22
5.3. Stratégies adaptatives.....	22
5.3.1. Le mécanisme de type KCL ou halophiles.....	23
5.3.2. L'osmorégulation.....	23

➤ **Chapitre 03 : Applications biotechnologiques**

1. Production d'exopolysaccharides.....	26
2. Production d'Enzymes.....	26
2.1. Amylases.....	27
2.2. Protéases.....	27
2.3. Xylanases.....	27
2.4. Cellulases.....	28
2.5. Estérases et lipases.....	28
3. Fermentation des aliments.....	28
4. Biodégradation.....	28
Autres applications potentielles.....	29
Conclusion.....	31
Références bibliographiques.....	33

## Liste des figures

Figure 1 : Lichen xanthoria élégants peut effectuer la photosynthèse jusqu'à -24°C.....	5
Figure 2 : Thermophiles peuvent être isolés de sources chaudes comme le Grand Prismatic Spring, au parc national de Yellowstone (vue aérienne).....	6
Figure 3 : Haloferax volcanii (en) vit dans la mer morte, presque huit fois plus salée que les océans (275 g/l de chlorure de sodium).....	7
Figure 4 : Trou le plus profond de notre terre.....	7
Figure 5 : Fleuve de RIO Tinto-Espagne .....	8
Figure 6 : Lac Magadi au Kenya.....	9
Figure 7 : Arbre de Josué Yucca brevifolia est une plante xérophile du désert de Mojave, aux États-Unis.....	9
Figure 8 : Échantillons de pechblende (UO <sub>2</sub> ) et de pyrrhotite (FeS).....	10
Figure 9 : Représentation de la diversité des trois domaines du vivant.....	18
Figure 10 : Situation géographique des Chotts et Sebkhah en Algérie.....	20
Figure 11 : Différentes formes des halophiles (bactéries et archaea).....	21

## **Liste des tableaux**

Tableau 1 : Classification des organismes extrémophiles en fonction de leurs paramètres physico-chimiques de croissance et exemples de leurs applications biotechnologiques....11-12

Tableau 02 : Solutés compatibles accumulés par les microorganismes halophiles.....24



# **INTRODUCTION**



## Introduction

---

Les microorganismes extrémophiles, sont capables de se développer dans des environnements extrêmes, caractérisés par des paramètres physiques et chimiques hors normes. Ces microorganismes appartiennent au trois domaines de la vie : **Eucaryota, Bacteria** et **Archaea (Verma et al. 2020)**. Vivant dans ces milieux extrêmes ont au cours de leur évolution développé des stratégies adaptatives très variées. Ils comprennent de nombreux groupes d'organismes tels que les thermophiles, les psychrophiles, les basophiles et les halophiles (**Daoud et BenAli., 2020**).

Les microorganismes halophiles constituent un groupe important d'extrémophiles en termes de distribution et de caractéristiques. En fait, ils sont répandus dans de nombreux environnements et milieux salins et hypersalins, comme les marais salés, les sebkhas et les lacs salés, où la salinité dépasse 3,5% du sel total et peut atteindre la saturation (35%), conditions qui sont insupportables par les autres microorganismes conventionnels.

Les micro-organismes halophiles représentent une source potentielle de molécules nouvelles, des substances osmotiquement actives (solutés compatibles), protéines, enzymes extracellulaires, des lipides spéciaux et des exo polysaccharides, dans ce concept ils constituent de véritables candidats pour de nombreuses applications biotechnologiques et industrielles dans plusieurs domaines : médical, pharmaceutique, alimentaire, agronomique et industriel. Certaines de ces applications datent de plusieurs siècles et existaient bien avant que les aspects microbiologiques et que des processus ne soient compris (**Oren, 2002**).


Notre présent travail est une revue bibliographique dont l'objectif est d'avoir une idée générale sur les microorganismes halophiles et les potentialités industrielles et biotechnologiques de leurs biomolécules.

Dont-il est structuré en trois parties,

La première, représente des généralités sur les microorganismes extrémophiles et leurs différents habitats.

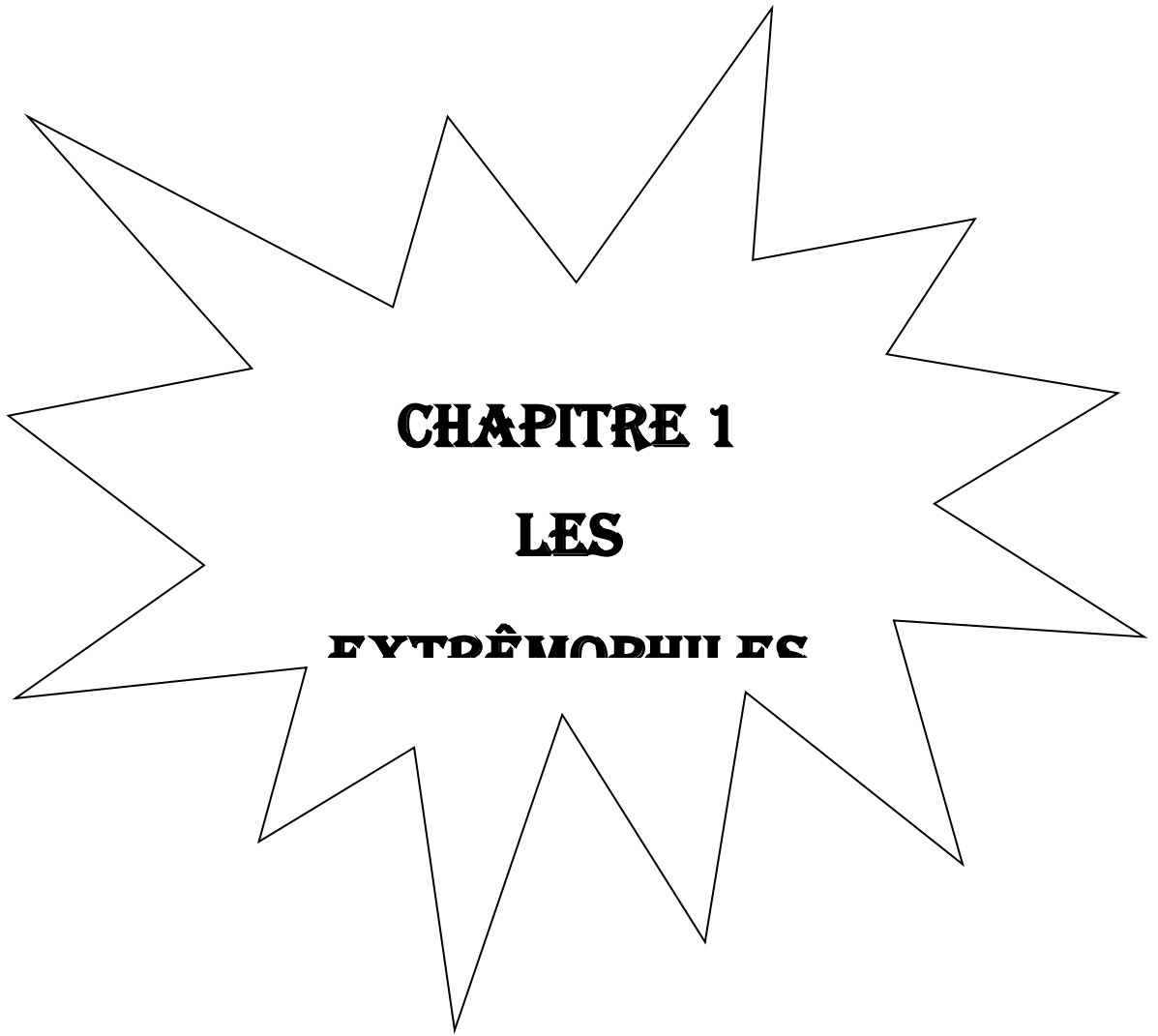
La seconde partie traite les microorganismes halophiles, les environnements salins et hypersalins, leur diversité phylogénétique, et leur adaptation osmotique aux fortes salinités.

La troisième résume les potentialités biotechnologiques des microorganismes halophiles et de leurs biomolécules.



**SYNTHÈSE  
BIBLIOGRAPHIQUE**





# **CHAPITRE 1**

## **LES**

### **ΕΥΤΡΕΦΙΣΜΟΙ ΕΣ**

## 1 Définition :

Le terme extrêmophile a été inventé pour la première fois, en 1974, par MacElory, et désigne tout organisme adapté pour croître de façon optimale dans des conditions extrêmes, c'est-à-dire hostiles pour la plupart des autres organismes vivants, tels que de fortes concentrations en sel, des pH acides ou alcalins, des températures élevées ou basses, une pression élevée, une faible activité d'eau, une faible concentration en nutriments, des radiations ionisantes élevées ou de hautes concentrations en métaux lourds (**Chakravorty et Patra, 2012 ; Singh et al., 2019**). Beaucoup de ces organismes sont qualifiés de polyextrémophile, ayant la capacité de s'adapter à deux ou plusieurs formes de stress environnemental en même temps (**Seckbach et Rampelotto, 2015**). Par exemple *Natrialba* est une archée polyextrémophile présentant une croissance optimale à pH 9,0 Et à une salinité de 20 % (p/v) (Bowers et Wiegel, 2011). Les extrêmophiles appartiennent aux trois domaines du vivant (Bacteria, Archaea, Eucarya). Cependant, la majorité est constituée des procaryotes dont la plus grande partie est Représentée par des archées (**Horikoshi et Bull, 2011 ; Chakravorty et al. 2012**) (**Figure 1**).

La notion d'extrêmophile est différente de celle d'extrémotolérant. En effet, les extrémotolérants exigent des conditions extrêmes pour proliférer, tandis que les extrêmophiles se contentent, de les supporter, mais vivent en général dans des conditions «normales» d'un point de vue Anthropocentrique (**Rampelotto, 2013**). À noter également que certaines espèces peuvent Survivre dans des environnements extrêmes dans un état de dormance sans être capables de croître ou de se multiplier dans ces conditions (**Horikoshi et Bull, 2011**). Physiologiquement, les extrêmophiles forment un groupe assez vaste et hétérogène incluant des espèces aérobies, anaérobies, chimioorganotrophes, chimiolithotrophes (**Durvasula et Rao, 2018**). En fonction de leurs paramètres de croissance et des conditions dans lesquelles ils existent, les extrophies peuvent être divisés en plusieurs catégories.

## 2 Classification et habitat :

Un environnement est qualifié d'extrême lorsque les paramètres physico-chimiques qu'il renferme sont le plus souvent hostiles à la vie conduisant en une spécialisation et/ou une diminution de la biodiversité existante : pH inférieur à 5 ou supérieur à 9, pression supérieure à 20 MPA, température supérieure à 50°C ou inférieure à 10°C, et des concentrations en sels supérieures à 3-4 % en NaCl jusqu'à saturation (35 % en NaCl).

Selon leurs habitats on distingue les principaux groupes d'ex-trêmophiles ,les psychrophiles, les thermophiles, les acidophiles, les alcali-philes, les halophiles ,les piézophiles et enfin les xérophiles en insistant sur les connaissances que nous avons d'un point de vue microbiologique et les possibilités d'applications industrielles en relation avec les enzymes que possèdent ces micro-organismes aussi originaux.

### 2.1 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 4°C).

Les micro-organismes psychrophiles auraient un optimum de croissance entre 15°C et 20°C.

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 1 :** Lichen Xanthoria élégants peut effectuer la photosynthèse jusqu'à -24° C.

## 2.2 Micro-organismes thermophiles et hyper-thermophiles :

Les procaryotes thermophiles et hyper-thermophiles 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. 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.



**Figure 2 :** Les thermophiles peuvent être isolés de sources chaudes comme le Grand PrismaticSpring, au parc national de Yellowstone (vue aérienne)

## 2.3 Micro-organismes halophiles :

Les bactéries halophiles sont des bactéries qui ne peuvent croître qu'en présence de sel généralement sous forme de chlorure de sodium (NaCl). Les bactéries 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).



**Figure 3** : *Haloferrax volcanii* (en) vit dans la mer morte, presque huit fois plus salée que les océans (275 g/l de chlorure de sodium).

### 2.4 Micro-organismes piézophiles :

Les bactéries piézophiles sont largement représentées sur la planète. Les bactéries piézophiles vivant dans des conditions abyssales océaniques (>5000 m) sont également des bactéries psychrophiles car la température moyenne à ces profondeurs est de l'ordre de 4°C.



**Figure 4** : Trou le plus profond de notre terre.

### 2.5 Micro-organismes acidophiles :

Les environnements où sont retrouvés les micro-organismes acidophiles ont généralement un  $\text{pH} < 4$ , et sont souvent riches en métaux lourds (fer, arsenic, cuivre, zinc, chrome...) et métalloïdes. Ils peuvent avoir pour origine des activités volcaniques où l'acidité résulte de l'activité oxydative aérobie microbienne (mésophile ou thermophile).



**Figure 5** : Fleuve de Rio Tinto-Espagne.

### 2.6. Micro-organismes alcaliphiles :

Les bactéries alcaliphiles vivent à un  $\text{pH} \geq 9$  peuvent également être halophiles et se développer jusqu'à des concentrations en sel ( $\text{NaCl}$ ) proches de la saturation (35 % de  $\text{NaCl}$ ), notamment dans les lacs et déserts sodiques ou les sources alcalines.

L'alcalinité du milieu ambiant est induite par la forte concentration en carbonate, mais la différence d'un milieu à un autre se situe au niveau de la salinité.



**Figure 6** : Lac Magadi au Kenya

### **2.7. Micro-organismes xérophiles :**

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

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.



**Figure 7** : Arbre de Josué *Yucca brevifolia* est une plante xérophile du désert de Mojave, aux États-Unis.

### 2.8. Micro-organismes radio-résistants :

La radorésistance à une exposition artificielle varie de 1 à 2000 chez les bactéries et archées présente dans les milieux naturels.

La bactérie *Desulforudisaudaxviator*, 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 ce cas, les réactifs initiaux (FeS et H<sub>2</sub>O initialement présents dans la roche), contrairement à la chimolithotrophie usuelle, ne sont pas “consommés”, car ils sont reconstitués. Dans ce cas précis, la source d’énergie de *Desulforudisaudaxviator* 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 *Desulforudisaudaxviator* profite de l’association de ces deux minéraux pour utiliser la radioactivité comme source d’énergie pour ses synthèses.



**Figure 8 :** Échantillons de pechblende (U O<sub>2</sub>) et de pyrrhotite (FeS).



## Les Extrêmophiles

**Tableau 1 :** Classification des organismes extrêmophiles en fonction de leurs paramètres physico-chimiques de croissance et exemples de leurs applications biotechnologiques. Tableau adapté de Horikoshi et al. (2011) ; Giddings et Newman, 2015 ; Rampelotto (2016) ; Dumorne et al. (2017) et Kour et al. (2019).

Facteur environnemental	Classe	Paramètres de croissance	Exemples	Environnement/source	Applications	
					Cellules	Biomolécules
Haute température	Thermophile	60-80°C	<i>Synechococcus lividus</i>	Sources chaudes Gisements pétroliers	Bioremédiation Nanotechnologie Cellules hôtes	Thermozymes Biopolymères Substances anti microbiennes
	Hyper thermophile	>80°C	<i>Pyrolobus fumarii</i>	Monts hydro thermaux Zones volcaniques et sols chauffés		
Basse température	Psychrophile	<15°C	<i>Psychrobacter immobilis</i> <i>Chlamydomonas nivalis</i>	Régions arctiques Glaces polaires Océans profonds	Bioremédiation	Enzymes Protéines Acides gras insaturés Substances antimicrobiennes
Forte salinité	Halophile	1-5M NaCl	<i>Halobacteriales</i> <i>Dunaliella salina</i>	Lacs salés Marais salants Produits salés	Bioremédiation Nanotechnologie Production de sels	Enzymes Solutés compatibles Glycérol β-carotène
pH acide	Acidophile	pH < 3	<i>Picrophilus oshimae</i> <i>Stygiolobus azoricus</i>	Geysers Lacs sulfuriques	Bioremédiation Bioconservation Production d'énergie	Enzymes stables à pH acide Molécules anticancéreuses
pH alcalin	Alcalophile	pH > 9	<i>Bacillus firmus</i> <i>Haloanaerobium alcaliphilum</i>	Lacs et déserts de soude	Bioremédiation Biolithiation	Enzymes stables à pH alcalin Substances antimicrobiennes
Haute pression	Piezophile	≥ 40 MPa	<i>Colwellia piezophila</i> <i>Photobacterium frigidophilum</i>	Océan profond Monts hydro thermaux	/	Enzymes stables à haute pression

## Les Extrêmophiles

<b>Radiations ionisantes</b>	Radio résistant	>1 kGy	<i>Deinococcusradiodurans, Thermococcus gammatolerans</i>	Sable du désert Matériel médical Sites radioactifs	Bioremédiation des déchets radioactifs Médecine régénérative Production de bioéthanol	Substances antimicrobiennes
<b>Fortes concentrations de métaux lourds</b>	Metallotolérant	>1 M	<i>Halomonas sp. GFA J-1</i>	Mines Eaux polluées par des métaux lourds	Bioremédiation	/
<b>Faible concentration en nutriments</b>	Oligotrophe	1-15mg cot/litre	<i>Sphingopyxisalaskensis</i> <i>Pelagibacterubique</i>	Gyres océaniques	/	/
<b>Dessiccation</b>	Xérophile	$A_w \leq 0,85$	<i>Artemiasalina</i> <i>Methanosarcinabarkeri</i>	Déserts Sols volcaniques	/	/

## 3 Applications biotechnologiques

Les extrêmophiles représentent une nouvelle frontière pour la biotechnologie. Ils ont suscité un intérêt particulier en raison de leurs multiples applications (**Enache et al. 2017**)

(**Tableau 1**).

On peut distinguer deux types d'applications différentes. La première repose sur l'utilisation directe des organismes. C'est le cas en particulier pour les applications liées à la Bioremédiation et à la biolixiviation (**Giovanella et al. 2020**). Le second type d'applications repose sur l'utilisation des biomolécules issues des extrêmophiles. Ces biomolécules sont adaptées pour fonctionner de manière optimale dans les conditions de croissance habituelles de ces organismes. Elles sont donc hautement stables aux conditions physico-chimiques extrêmes et offrent un large choix d'utilisations. Parmi ces biomolécules figurent les protéines, les enzymes, les lipides, les polymères, les extrêmolytes, les pigments, les biocarburants, etc. (**Raddadi et al. 2015 ; Dumorne et al. 2017 ; Schröder et al. 2020**).



**CHAPITRE 2**  
**LES HALOPHILES**

## Généralités

Les microbes sont présents partout dans la nature, mais des micro-organismes halophiles ou aimants le sel n'existent que dans des environnements hyper salins. Ces milieux sont omniprésents et se propagent principalement en raison de l'irrigation, des précipitations et de la sur-utilisation de l'eau douce. Pour une croissance optimale, l'exigence de concentration des halophiles en sel est variable (**Oren 2002**). On se basant sur cette concentration, plusieurs classifications ont été proposées, mais la classification la plus adoptée a été proposée par Kushner et Kamekura (1998), de la manière suivante :

- Halophiles faibles : ils tolèrent une salinité de 3 %, comme la plupart des organismes marins.
- Halophiles modérés : tolèrent une salinité de 3 à 15%.
- Halophiles extrêmes : tolèrent jusqu'à 25% de salinité.

Les non-halophiles sont ceux qui croissent à moins de 1 % de concentration de NaCl. Peu de membres non halophiles capables de tolérer les concentrations élevées de NaCl sont connus sous le nom de microbes halotolérants.

### 1 Origine des environnements hyper salins :

Le sol et l'eau sont deux types d'environnements biologiquement importants où le facteur sel agit sur les populations microbiennes. Les sols contenant des quantités supérieures à 2g/l de sels sont considérés comme salins (**Kaurichev, 1983**). Ces sols salins se caractérisent par un profil simple constitué de matières organiques et minérales incrusté de dépôts de sel précipité comme c'est le cas des Sebkhass, qui sont des dépressions salines spécifiques des zones chaudes et arides (**Grant, 1989 ; Larsen, 1986**). En ce qui concerne les eaux salées l'origine des sels est, le plus souvent, l'eau de mer. On y trouve principalement 12 ions différents : Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Sr<sup>2+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>, et B<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>-</sup>. Les ions les plus représentés sont le chlore et le sulfate avec respectivement 55,04% et 7,68%, le sodium et le magnésium avec respectivement 30,61% et 3,69% (**Oren, 1993**). L'origine des sels, leur type et leur proportion ont été pris en considération pour classer les milieux hyper salés en deux catégories :

- **Milieux Thalasso halins:** Ce sont des milieux hyper salés qui ont pour origine les eaux de mer (du grec thalasso, la mer). Ces environnements aquatiques ont une

composition en NaCl prédominante. La quantité des différents sels inorganiques est approximativement égale à celle de l'eau de la mer (**Ventozaet al., 1998**).

- **Milieus a thalasso halins:** L'eau de mer complètement évaporée est à l'origine des formations de dépôts de sels qui constituent à travers le temps des évaporites, considérés comme des environnements fossiles hyper salés. Présents sur tous les continents, leur dissolution par l'eau crée de nouveaux milieux comme la Mer Morte, le Lac Rosé au Sénégal et certaines sebkhas (**Rodriguez-valera, 1993**). Les proportions des différents sels de ces eaux sont nettement différentes de celle de l'eau de mer. Leur composition ionique est influencée par celle des roches où l'ion magnésium prédomine (**Ventozaetal., 2008**).

## 2 Physico-chimie des environnements hyper salins :

Les écosystèmes hyper salés (marais, lacs et continentaux hyper salés) montrent une assez large variabilité en leur pH, leur composition chimique et la concentration en sels. Dans la plupart de ces écosystèmes, ce sont les ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> qui prédominent en solution comme l'ont montré des études sur le Grand Lac Salé (**Coton et al. 2004**).

### 2.1 Température :

Les lacs salés sont le plus souvent, trouvés dans les régions arides tropicales, mais il existe dans des régions tempérées et même polaires. La température des lacs continentaux peut énormément varier durant l'année ; ainsi la température de la région du Grand Lac Salé varie de 30°C en hiver à +48°C en été. (**Post, 1981**).

### 2.2 Oxygène :

Les systèmes hyper salés sont des environnements anoxiques en dehors de la surface des eaux, car les températures élevées et les fortes salinités limitent la solubilisation de l'oxygène et engendrent des zones favorables à la prolifération d'une flore anaérobie. Paradoxalement l'aérobiose est assez largement représentée à la surface de ces environnements. L'agitation des eaux de surfaces par le vent permet l'aération et donc la disponibilité de l'oxygène pour les microorganismes aérobies (**Litchfield et al. 1998**). Les cyanobactéries présents dans les lacs, par photosynthèse, produisent l'oxygène est le transféré à la population aérobie environnante.

### 2.3 pH :

Plusieurs lacs sont alcalins (pH entre 9 et 10); d'autres qui contiennent des concentrations en sels des totaux de plus de 330g/l ont des pH proches de la neutralité. Grant et Ross, proposèrent en 1986 une hypothèse qui permet d'expliquer les valeurs de pH observés dans ces milieux :

La précipitation du calcium sous forme de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) et celle du magnésium sous la forme de sépiolite ( $\text{MgSi}_3\text{O}_8\text{nH}_2\text{O}$ ) influencent le pH final du milieu car la formation de la sépiolite génère des ions  $\text{H}^+$  et la précipitation du carbonate supprime l'alcalinité (DasSarma et Arora, 2002)

### 3 Diversité des microorganismes halophiles :

Les micro-organismes halophiles représentent un groupe hétérogène de microorganismes qui se retrouve dans les trois domaines : Bacteria, Archaea et Eucarya, (Figure 10) pouvant croître dans une large gamme de salinité difficile à déterminer, car elle est très variable et dépend des conditions de croissance (Température, pH et nutriments) (Oren, 2002). Le domaine de Bacteria regroupe la plus grande diversité des halophiles, la plupart étant halophiles modérées plutôt qu'extrêmes. Ces microorganismes aérobies, hétérotrophes, forment un groupe phylogénétique très hétérogène. Ils sont inclus dans 5 phyla: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* et *Bacteroidetes*.

Tandis que le domaine des Archaea regroupe trois familles : *Halobacteriaceae*, *Methanospirillaceae* et *Methanosarcinaceae*. Les deux dernières familles contiennent également des membres non-halophiles (Yachai, 2009). Pour le domaine des eucarya avec quelques exceptions notables, forme un groupe négligé, les principaux ou uniques acteurs dans beaucoup d'environnements hyper salins (Oren, 2008), les algues vertes unicellulaires du genre *Dunaliella*, elles sont d'avantage halotolérantes que strictement halophiles et tolèrent une large gamme de salinité. On rencontre également dans ce groupe un crustacé du genre *Artemia* (*Artemiasalina*, *Artemiafranciscana*) (Oren, 2002) et des moisissures, contiennent un certain nombre de représentants halophiles faibles et modérés tels que *Cladosporium*, *Aspergillus* et *Penicillium* spp. (Gunde-Cimerman et al., 2000; 2005; Kis-Papo et al., 2003). Enfin, parmi les eucaryotes, des levures osmotolérantes (*Rhodotorulamucilaginosa* et *Pichiaguilliermondii*) isolées de bassins d'évaporation d'effluents pharmaceutiques croissent à 15% de sel et même au-delà. Des levures noires *Hortaea werneckii*, *Phaeotheca triangularis* et *Aureobasidium pullulans* (Zalaret al. 1999;

Gunde Cimermanet *al.*, 2000). Des protozoaires flagellés ont été observés dans des étangs artificiels (Cho, 2005) nécessitent une salinité plus élevée > 12% de NaCl.

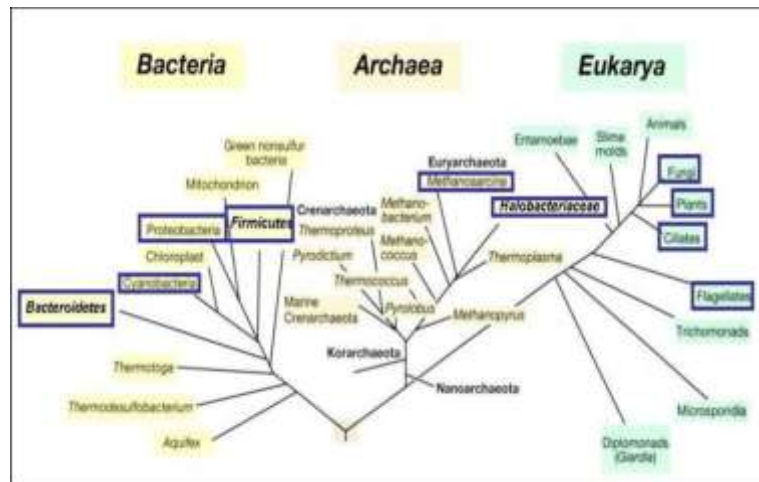


Figure 9 : Représentation de la diversité des trois domaines du vivant

## 4 Habitat :

Les bactéries halophiles et les haloarchées vivent toujours dans des écosystèmes à forte salinité, elles peuplent de façon quasi-exclusive les marais salants, les lacs salés et les mines de sel où la salinité est bien supérieure à celle des océans (3,5 % de NaCl).

La majorité de ces zones se trouvent dans des endroits secs et chauds. Ces types d'environnements ont une distribution mondiale large et comprennent des systèmes aquatiques, en particulier des lacs salés et des sols salins. Elles peuvent aussi vivre sur les dépôts de sel et les produits alimentaires fermentés au sel tels que les sauces de poisson, les peaux d'animaux, etc. Plusieurs espèces d'halophiles ont été isolées de divers aliments fermentés à haute teneur en sel traditionnellement utilisés.

Certains membres des haloarchaea peuvent même survivre dans des cristaux de sel (Oren 2010).

Voici quelques exemples d'endroits où vivent ces microorganismes :

### ➤ Lacs salés ou marais salés dans le monde

-Le Grand Lac Salé dans l'Utah aux États-Unis qui a une salinité de 22%

-Le Salar d'Atacama au Chili qui a une salinité de 15-30%:



### ●Mers :

-La Mer morte avec des quantités élevées de magnésium et une salinité de 25-30%.

### ●Sols salés :

-Comme celui d'Alicante en Espagne avec une salinité de 2,4 à 12,7%.

●**Habitats froids et salins** : tels que les lacs hypersalins de l'Antarctique avec 28 % de salinité.

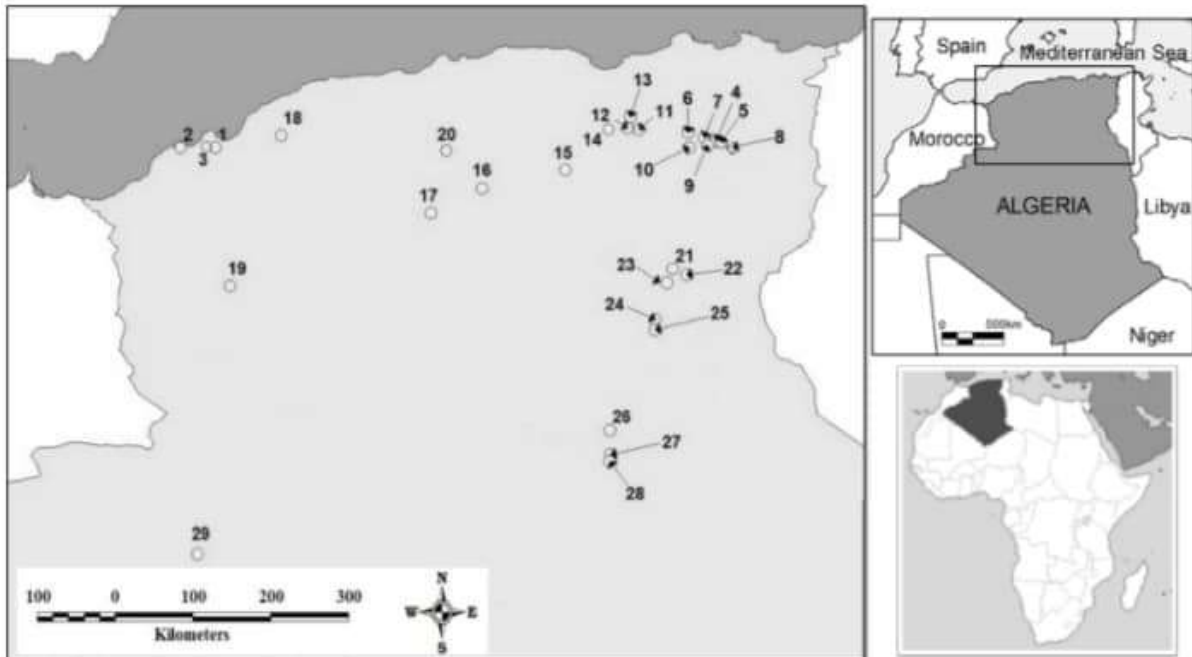
●**Habitats salins et alcalins** : comme le lac Venere en Italie avec une salinité de 9 à 17%.

●**Aliments très salés** : comme la sauce soja dont la salinité est de 6,5 à 10 % ou la morue dont la salinité est de 19%.

### ➤ Les lacs salés en Algérie

L'Algérie recèle un grand nombre d'écosystème aquatique de type zone humides naturelles de la région méditerranéenne. Ces zones sont représentées sous forme de marais d'eaux douce sou marines, les oueds, les barrages et les retenues dont plus de 50% de ces sites sont des lacs salés couvrant environ une superficie de deux millions d'hectares (**Samraoui2008;Benhadjet al., 2018**).La majorité de ces plans d'eau sont composées d'immenses lacs salés continentaux, limitent généralement dans les zones arides à semi-arides. Ces lacs s'étalent de la côte nord algérienne jusqu'au Sahara en traversant les Hauts Plateaux, formés des Chotts et Sebkhass (**Menasriaet al. 2018**).Le Chott est défini comme une zone salée entourant la sebkhass (**Romanescu et al. 2013**). Le mot 'sebkhass', est issu de l'arabe, désigne des dépressions fermées en forme de cuvette, périodiquement à inondation temporaire, sans végétation dans lesquelles se produit une accumulation de sel. L'Algérie compte un nombre important de Chotts et Sebkhass, et leurs répartitions géographiques est très étendue (**Figure 11**). On trouve le complexe des Chotts de Oum El Bouaghi dans l'Est des hauts plateaux, le Chott Hodna, le Zahres Chergui et Gherbi au centre et Chott Chergui, sebkhass de Naâma à l'Ouest ; la sebkhass d'Oranetlessalines d'Arzew dans les plaines littorales. Au Sahara, au nord-est du Sahara le Chott Melghir et le Chott Merouane. Vers le Sud, dans la région d'Ouargla, sont les Chotts d'Ain Beida, Oum Raneb, Sidi Amrane et Safioune, la Sebkhass El Melah (Ghardaïa). Ces

zones consistent en un éco-complexe dont son fonctionnement écologique est important du point de vue écologique et socio-économique.

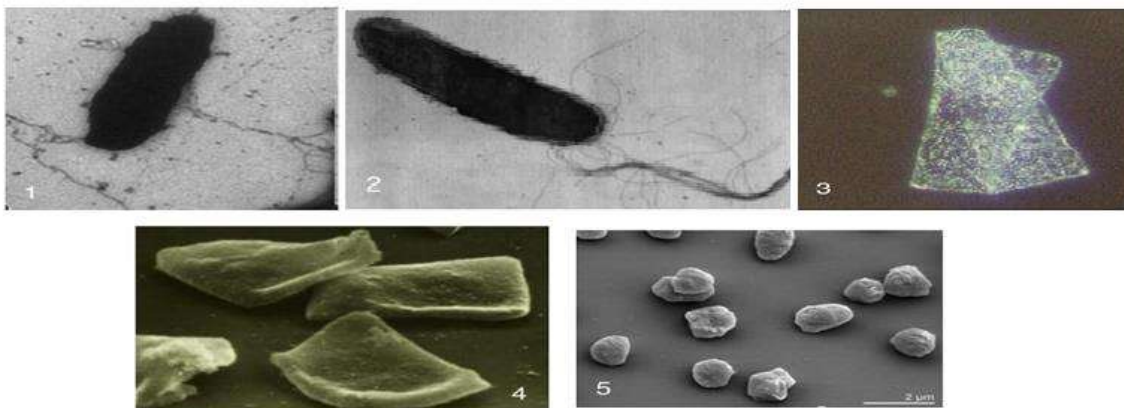


**Figure 10 :** Situation géographique des Chotts et Sebkhia en Algérie.

## 5 Biologie des microorganismes halophiles :

### 5.1 Caractéristiques :

Les membres des halophiles présentent une grande diversité morphologique dépendant directement de la disponibilité nutritionnelle, du niveau de salinité et de la force ionique. Leur cellules varient en taille (0,8 à 13  $\mu\text{m}$ ) et en forme, déterminée par les propriétés de la paroi cellulaire et la membrane plasmique ces microorganismes peuvent être : des bâtonnets, des cocci, des cellules pléomorphiques, ainsi que des cellules triangulaires et en carrés (**Oberwinkler, 2011**), (**Figure11** ).



**Figure 11 :** Différentes formes des halophiles (bactéries et archaea) (**Oberwinkler, 2011**)

## Les Halophiles

La plupart des membres seraient des aérobies stricts, mais peu sont également capables de survivre dans des conditions anaérobies en utilisant du nitrate, de l'arginine, du diméthylsulfoxyde (DMSO), présents dans leur environnement (**Enache et al. 2007 ; Bonete et al. 2015**).

Les halophiles sont généralement Gram négatives à l'exception de certaines espèces.

La plus part des halophiles sont colorées en rouge ou en orange. Cette couleur est due à l'incorporation de caroténoïdes dans leurs membranes cellulaires. Ces molécules (anti-oxydante) sont des biomolécules protéiques hydrophobes qui agissent comme protecteur contre les dommages causés par les rayons ultraviolets (**Rodrigo Baños et al. 2015**). Elles sont divisées en carotène et xanthophylles.

Les **carotènes** sont composés principalement d'unités d'hydrogène et de carbone et sont également appelés hydrocarbures caroténoïdes, tandis que les **xanthophylles** sont composés d'oxygène en plus d'unités de carbone et d'hydrogène et sont appelés caroténoïdes oxygénés. Le niveau de salinité dans un environnement hyper salin affecte la production de pigment, une salinité plus faible, augmente la pigmentation, tandis qu'une salinité plus élevée (> 25 % de NaCl) réduit la pigmentation à l'incolore en raison d'une production moindre de pigments caroténoïdes (**Oren 2006**).

Certaines espèces ont aussi une couleur pourpre, dans ces cas elles incorporent dans leur membrane cellulaire des pigments rétinien tels que la bactériorhodopsine, l'halorhodopsine et les rhodopsines sensorielles I et II.

- **La bactériorhodopsine**, est une protéine transmembranaire de 27 kDa qui capture la lumière verte (500–570 nm) et génère un gradient de protons en expulsant  $H^+$  à l'extérieur de la cellule, entraînant une énergie chimique avec la formation de molécules d'ATP. Par conséquent, les haloarchaea contenant de la bactériorhodopsine sont capables de se développer lorsque la disponibilité des nutriments est faible dans leur environnement en utilisant la lumière comme source d'énergie.
- **L'halorhodopsine**, est une protéine qui absorbe la lumière verte ou jaune et capte les ions halogénures (Cl) à l'intérieur de la cellule pour maintenir l'équilibre osmotique. La structure de l'halorhodopsine a été initialement élucidée à partir de *Halobacterium salinarum*.
- **Rhodopsines sensorielles (I et II)**

Sont les récepteurs des phototaxis, et des protéines transmembranaires. Le type I absorbe la lumière verte, tandis que le type II absorbe la lumière bleue.

### 5.2 Facteurs affectant la croissance des halophiles :

La concentration en sel, le pH et la température et sont les principaux facteurs responsables de la croissance des halophiles dans les environnements hyper salins. La concentration de sel on peut distinguer les halophiles modérés ou extrêmes, en fonction de la concentration en NaCl qui est nécessaire à leur développement : de l'ordre de 5 à 15 % pour les halophiles modérées,

Plutôt de 10 à 30 % pour les halophiles extrêmes. Leurs cellules sont irréversiblement endommagées et lysées à moins de 5 à 12 % de NaCl. En plus du NaCl, les niveaux de cations divalents tels que  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  sont également très importants, en particulier pour les archées modérément halophiles telles que les espèces Haloferax qui poussent dans ces types de lacs salins. Le PH, joue un rôle important au niveau : de la production d'énergie par la chaîne respiratoire, de la perméabilité membranaire et de l'activité métabolique. La plupart des membres halophiles isolés de différents habitats sont soit Neutrophiles, soit alcalinophiles, tandis que les haloarchées acidophiles sont plutôt limitées.

La température de croissance de la majorité des halophiles varie entre 35 et 50 C° et parfois même plus. Ces types de variations dépendent des régions saisonnières et géographiques (Oren 2006, 2014).

### 5.3 Stratégies adaptatives :

Les microorganismes vivant en milieux salins et hyper salins rencontrent différentes difficultés qui sont la déshydratation, le stress osmotique et la faible activité d'eau, pour cela ils ont développé plusieurs stratégies adaptatives. 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. De ce fait pour être capable de vivre à hautes concentration de sels et puisque toutes les membranes biologiques sont perméables à l'eau, les microorganismes halophiles et halotolérants doivent maintenir leur cytoplasme en iso-osmose avec le milieu extérieur. Pour atteindre cet équilibre osmotique deux stratégies existent, elles sont basées sur le principe de créer une haute pression osmotique dans le cytoplasme tout en gardant une faible concentration en ions sodium ( $Na^+$ ) (Oren, 2002) en l'expulsant grâce à un antiport  $Na^+ / H^+$  localisé au niveau de la membrane cytoplasmique (Oren, 2001)

### 5.3.1 Mécanisme de type KCl ou Halobacterial:

Stratégie adoptée par des groupes phylogénétiquement différents. Ce mécanisme implique le maintien d'une grande concentration ionique intracellulaire, où  $K^+$  est en concentration interne supérieure à la concentration en  $Na^+$  externe, c'est ce qu'on appelle mécanisme type KCl ou *Halobacterial* de prévention de choc osmotique, par transport d'ions à travers la membrane par des pompes ioniques. L'exclusion du Na du cytoplasme se fait grâce un antiport  $Na^+/H^+$ , localisé au niveau de la membrane cytoplasmique (**Oren, 2001**).

### 5.3.2 L'osmorégulation :

La deuxième stratégie d'haloadaptation est basée sur la biosynthèse et/ou l'accumulation de solutés organiques compatibles. Deux opérations au coût énergétique élevé pour la bactérie qui optera généralement pour le transport au lieu de la synthèse de ces composés organiques dissous les «osmolytes » s'ils sont déjà présents dans le milieu. Les cellules qui utilisent cette stratégie excluent le plus de sels possible de leur cytoplasme.

Il est important de noter que la stabilisation de la structure des protéines grâce à l'action des solutés compatibles a pour effet d'augmenter la tolérance vis-à-vis du sel mais aussi vis-à-vis d'autres facteurs de stress comme la chaleur, la congélation et la dessiccation (**Lipper et Galinski, 1992**).

Le **tableau 02** résume la diversité des solutés compatibles accumulés par des micro-organismes halophiles. La nature des solutés compatibles accumulées par une bactérie dépend du niveau de présence de ces composés (ou de leur précurseurs) dans le milieu extérieur, de l'existence de systèmes de transport (ou de synthèse) d'osmoprotectants adéquats et de l'intensité du stress osmotique auquel elle doit faire face (**Galinski, 1995;Beumeretal., 1994**).

**Tableau 02** : Solutés compatibles accumulées par les micro-organismes halophiles

<b>Microorganismes</b>	<b>Solutés accumulées</b>	<b>Références</b>
Micro algues	Sucre Glycérol Proline Manitole Glycine-betaines Dimethylsulfonio propionate	Grenway et stetter, 1979 Brown, 1976 Ahmad et Hellebust, 1984 Blunden et al., 1992
Champignons	Glycérol Arabitol Sorbitol tréhalose	Meikle et al., 1988 Larsson et al., 1990
Cyanobactéries	Sucrose / trehalose Glycosylglycerol Glycine betaine	Reed et al., 1993
Bactéries phototrophes	Sucrose – trehalose Glycines betaine hydroxycetoine	Welsh et al., 1993
Bactéries sulfacto-réductrices	Trehalose Glycine betaine	Welsh et al., 1996
Bactéries hétérotrophes	Glutamate Proline N-acetylgluminyloglutamine Amide Glycine betaine Actoine / hydroxycetoine Trehalose	Welsh et al., 2000
Actinomycètes	Actoine / hydroxycetoine Trehalose Proline, Glutamine, Alanine	Killham et Firestone, 1984
Archaeobactéries	Glycine betaine B-glutamate	Robertson et al., 1990



**CHAPITRE 3**  
**APPLICATIONS**  
**BIOTECHNOLOGIQU**

Les microorganismes halophiles constituent un outil performant pour les sciences fondamentales, du fait qu'ils représentent un modèle unique de stabilité des biomolécules dans des conditions extrêmes de l'environnement (salinité excessive, haute températures et hautes pressions).

L'utilisation de ce type de microorganismes en bioindustrie a ouvert la voie vers une biotechnologie future. Cependant, certains métabolites, tels que certaines protéines, enzymes extracellulaires, des substances osmotiquement actives (solutés compatibles), des lipides spéciaux et des exopolysaccharide représentent une source potentielle de molécules nouvelles qui ont été utilisées dans plusieurs domaines: médical, pharmaceutique, alimentaire, agronomique et industriel (**Jean Guézennec, 2014**).

Ces dernières années un intérêt croissant est porté aux microorganismes halophiles. Leur utilisation est envisagée dans différents secteurs.

### **1 Production d'exopolysaccharides :**

Les microorganismes halophiles produisent des substances polymériques extracellulaires (EPS) qui ont d'excellentes propriétés rhéologiques (pouvoir stabilisant, gélifiant, émulsifiant ou encore épaississant), et résistent à des températures, salinités, et pH extrêmes. Ces métabolites peuvent être utilisés en tant qu'agents émulsifiants et surfactants et ils ont une large application dans les industries pharmaceutiques (**Herbert, 1992**), sont également et couramment utilisés en médecine, en cosmétique et en démo/cosmétique. Au titre de ses nouvelles opportunités, on retrouve tout naturellement le microorganisme halophiles comme source d'exopolysaccharides bactériens originaux (EPS).

### **2 Production d'Enzymes :**

Les enzymes halophiles sont des extremozymes produites par les microorganismes halophiles; ils ont des caractéristiques similaires aux enzymes ordinaires mais des propriétés différentes, principalement structurelles et très utiles à la biotechnologie. Parmi ces propriétés se trouve un besoin élevé en sel pour les fonctions biologiques. Ces dernières années, différentes études se sont concentrées sur la détection des halophiles dans les milieux salins afin d'isoler et de caractériser de nouvelles activités enzymatiques. Cela a entraîné la description de plusieurs hydrolases halophiles, y compris des amylases, des protéases, xylanases, cellulases et



des lipases. De plus, la découverte d'enzymes capables de dégrader les biopolymères offre une nouvelle perspective dans le traitement des résidus des gisements de pétrole. La plupart des producteurs halophiles d'hydrolases ont été assignés à la famille des *Halomonadaceae* (Sánchez-Porro et al. 2003b).

### 2.1 Amylases :

Les amylases sont parmi les enzymes les plus importantes en biotechnologie actuelle. Cette classe d'enzymes industrielles joue un rôle important dans la dégradation d'amidon. Elles ont une gamme étendue d'applications dans beaucoup de champs tels que les industries de la saccharification d'amidon, de textile, des aliments, de boulangerie, de brassage et de distillation (Gupta et al., 2003). En raison de l'importance industrielle de cette enzyme, un intérêt est porté à l'isolement de nouvelles amylases appropriées à applications industrielles nouvelles. À cet égard, des amylases halophiles ont été isolées et caractérisées de diverses archées telles que *Haloferaxvolcanii* (Kobayashi et al. 1994), *Haloferaxmediterranei* (PérezPomares, 2003), ainsi que de plusieurs bactéries halophiles modérées à savoir *Halomonasmeridiana* (Coronado et al. 2000)

### 2.2 Protéases :

Les protéases microbiennes sont l'une des classes d'enzymes les plus intensivement étudiées et largement appliquées dans les processus industriels. Elles sont généralement utilisées comme additifs dans les détergents de blanchisserie, dans la transformation des produits alimentaires, pharmaceutiques et dans les industries de tannage de cuir aussi bien que dans la gestion des déchets. Plusieurs archées halophiles extrêmes productrices de protéases ont été isolées. Ces enzymes exercent une activité optimale en présence de NaCl et restent stables sur une large gamme de pH (5 à 10). Elles ont été caractérisées d'enzymes haloalcaliphiles (Gupta et al. 2005).

### 2.3 Xylanases :

Ces enzymes sont utilisées dans l'industrie de boulangerie pour améliorer les propriétés de la pâte, dans le bio-blanchiment de papier et de pulpe et fabrication de café. Cependant, l'application efficace des xylanases dans le bio-blanchiment exige que ces enzymes soient alcaliphiles et thermotolérantes. Les bactéries halophiles sont la source la plus susceptible des enzymes avec de telles propriétés.

### 2.4 Cellulases :

Les cellulases synthétisées par les microorganismes halophiles sont principalement utilisées dans l'industrie textile pour le bio-blanchiment des tissus, aussi bien que dans la production du bioéthanol comme les enzymes qui sont employées pour hydrolyser les matériaux cellulosiques prétraités (Wang et al. 2009).

### 2.5 Estérases et lipases :

Les estérases et les lipases ont trouvé de multiples applications dans les industries médicales et agroalimentaires, dans la production de détergent et dans la synthèse d'arômes. Elles constituent l'une des cibles majeures des travaux de recherche en biocatalyse et le nombre d'articles qui leur est consacré s'accroît très rapidement. Ces travaux ont montré que les réactions catalysées par les lipases sont plus sélectives et plus efficaces que beaucoup de réactions homologues en chimie organique. Dans le monde des halophiles plusieurs études ont permis de révéler plusieurs activités lipolytiques (Kharroub K et al ; 2006).

## 3 Fermentation des aliments :

La production de certains aliments fermentés traditionnels en Extrême-Orient, tels que la sauce à poissons et la sauce de soja, implique l'activité d'une variété de microorganismes halophiles et/ou forte menthalotolérants (Oren, 2002).

## 4 Biodégradation :

Les environnements salins et hyper salins sont fréquemment contaminés par des composés organiques en raison d'activités industrielles. La contamination de ces habitats constitue un problème écologique sérieux principalement en raison de la toxicité élevée de certains composés organiques. La biodégradation est le mécanisme principal pour se débarrasser de ces contaminants. Cependant, dans les conditions salines la biodégradation par des procédés chimiques est difficile à réaliser (Oren et al. 1992). Une alternative pour surmonter ce problème, est l'utilisation des bactéries halophiles adaptées à ces conditions. Plusieurs études ont montré la dégradation bactérienne des composés aromatiques en conditions salines.

### **Autres applications potentielles**

Les microorganismes halophiles peuvent avoir de nombreuses autres utilisations potentielles en biotechnologie, ainsi que dans d'autres domaines, mais restent à exploiter, production de substances antibactériennes : bactériocines et halocines.



**CONCLUSION**

## Conclusion


---

Les microorganismes halophiles croient dans des environnements salins. Afin de survivre dans de tel milieux comme les milieux aquatiques thalassohalins et athalassohalins, mais aussi de s'y développer de manière favorable, ils adoptent des mécanismes bien définis comme la stratégie KCl ou l'accumulation de solutés compatibles.

Les propriétés et les caractéristiques singulières de ces microorganismes ont poussé les chercheurs scientifiques à s'intéresser à ce genre d'organismes, pour connaître et comprendre leur comportement dans leurs environnements extrêmes. La maîtrise et la compréhension des mécanismes métaboliques et physiologiques qui les font régir, permet un usage et des applications biotechnologiques à des fins multiples et variées.

Des espèces microbiennes halophiles représentatives sont reconnus pour fournir des molécules d'intérêt et de fortes valeurs, telles que les enzymes hydrolytiques, les exopolysaccharide. Nous concluons que les halophiles composants ont des répercussions importantes sur certains domaines allant du médical à l'agriculture aux industries alimentaires, cosmétiques, textiles et pharmaceutiques.

Ainsi l'intérêt des halophiles en bioindustrie a permis l'ouverture d'une voie vers une biotechnologie future et bientôt ces micro-organismes deviendront des hôtes très utiles pour l'humanité et ils révéleront des applications potentielles dans les années à venir.



**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

---

- Bowers, K. J. et J. Wiegel. (2011).** Temperature and pH optima of extremely halophilic archaea: a mini-review. *Extremophiles*, 15(2), 119-128. [ <https://doi.org/10.1007/s00792-0100347-y> ].
- Benhadj, S. (2018).** Isolement et Identification des Actinomycètes isolées du lac Fetzara (Recherche de molécules bioactives). Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.
- Chakravorty, D. et S. Patra (2012).** Attaining extremophiles and extremolytes: methodologies and limitations. In Om V. Singh ed. *Extremophiles: Sustainable Resources and Biotechnological Implications*. : John Wiley& Sons, Ltd, p. 29-74. [<https://doi.org/10.1002/9781118394144.ch2> ].
- Coton et al.( 2004).**Halotolerant aerobic heterotrophic bacteria from the Great Salt Plains of Oklahoma.*Microbiol Ecology*. 48:449-462.
- Cho, B.C. (2005).** Heterotrophic flagellates in hypersaline waters. In: Gunde-Cimerman, N., Oren, A., Plemenitaš A. (eds) *Adaptation to life at high salt concentrations in Archaea, Bacteria and Eukarya*. Springer, Dordrecht. Pp. 543–549.
- Coronado M.J., Vargas C., Hofemeister J., Ventosa A., Nieto J.J. (2000).**Production andbiochemical characterization of an $\alpha$ -amylase from the moderate halophile *Halomonas meridiana*. *FEMS MicrobiolLett* 183: 67-71
- Daoud L. et Ben Ali M. (2020).** Halophilic microorganisms: Interesting group of extremophiles with important applications in biotechnology and environment; in: *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*, 51-64.
- Durvasula, R. et D. S. Rao (2018).** Extremophiles: Nature’s Amazing Adapters. In *Extremophiles*. : CRC Press, p. 1-18.
- DasSarma S. et Arora P. (2002).** Halophiles; in: *encyclopedia of life sciences*, 458-466.
- Edgerton, Mary E, Brimblecombe. (1981).** Thermodynamics of halobacterial environements. *Canadian journal of Microbiology*. 27:1-9.
- Enache, M., G. Teodosiu, T. Itoh, M. Kamekura et H. Stan-Lotter (2017).** Halophilic microorganisms from man-made and natural hypersaline environments: Physiology, ecology, and 149 biotechnological potential. In *Adaption of Microbial Life to Environment al Extremes*. : Springer, p. 201-226.[[https://doi.org/10.1007/978-3-319-48327-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48327-6_8) ].

## Références bibliographiques

---

**Enache M, Cojoc R, Kamekura M (2015).** Halophilic Microorganisms and Their Biomolecules : Approaching into Frame of Bio (Nano) Technologies. Springer International Publishing. Switzerland DK , Maheshwari MS (eds.). Halophiles, Sustainable Development and Biodiversity : 1007/978-3-319-14595-2\_5.

**Giddings, L.-A. et D. J. Newman (2015).** Bioactive compounds from terrestrial Extremophiles. In L.A. Giddings et D.J. Newman eds. Bioactive Compounds from Terrestrial Extremophiles. Cham : Springer International Publishing, p. 1-75. [[https://doi.org/10.1007/978-3-31913260-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-31913260-0_1) ].

**Giovanella, P., G. a. L. Vieira, I. V. Ramos Otero, E. Pais Pellizzer, B. De Jesus Fontes et L. D. Sette (2020).** Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. Journal of Hazardous Materials, 382, 121024. [<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121024> ].

**Grant, W.D., Horikoshi, K. (1989).** Alkaliphiles. In Microbiology of Extreme Environments and its Potential for Biotechnology, (Eds. M.S. Da Costa., J.C. Duarte and R.A.D. Williams),. Elsevier-London, pp 346-366.

**Gunde-Cimerman, N., Zalar, P., de Hoog, S., Plemenitas, A. (2000).** Hypersaline waters in salterns natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS MicrobiolEcol*, 32: 235–240.

**Gunde-Cimerman, N., Frisvad, J.C., Zalar, P. and Plemenitas, A. (2005).** Halotolerant and halophilic fungi. In: Deshmukh S.K., Rai M.K. (eds), Biodiversity of Fungi–Their Role in Human Life. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi. Pp. 69–128.

**Gupta A., Roy I., Patel R.K., Singh S.P., Khare S.K., Gupta M.N. (2005).** One step purification and characterization of an alkaline protease from haloalkaliphilic *Bacillus* sp. *JChromatogr A* 1075: 103-108.

**Horikoshi, K., G. Antranikian, A. T. Bull, F. T. Robb et K. O. Stetter (2011).** Extremophiles and book. Editioned. : Springer Science & Business Media. ISBN 4431538976. [<https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1> ].

**Horikoshi, K. et A. T. Bull (2011).** Prologue: Definition, categories, distribution, origin and evolution, pioneering studies, and emerging fields of Extremophiles. In K. Horikoshi ed. 153 Extremophiles Handbook. Tokyo : Springer Japan, p. 3-15. [[https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1_1) ].



## Références bibliographiques

---

- Kour, D., K. L. Rana, T. Kaur, B. Singh, V. S. Chauhan, A. Kumar, A. A. Rastegari, N. Yadav, A. N. Yadav et V. K. Gupta(2019).** Extremophiles for hydrolytic enzymes productions: biodiversity and potentialbiotechnological applications. *Bioprocessing for Biomolecules Production*, 321-372. [<https://doi.org/10.1002/9781119434436.ch16> ].
- Kharroub K., Lizama L., Aguilera M., Boulahrouf A., Campos V., Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sánchez M. (2008b).**Halomicrobiumkatesii sp. nov., an extremely halophilicarchaeon. *Int J Sys EvolMicrobiol* 58: 2354–2358
- Kobayashi K., Kanai H., Aono R., Horikoshi K., Kudo T. (1994).** Cloning, expression, and nucleotide sequence of the  $\alpha$ -amylase gene from the haloalkaliphilicarchaeon *Natronococcus* sp.strain Ah-36. *J Bacteriol* 176:5131–5134
- Kobayashi K., Kanai H., Aono R., Horikoshi K., Kudo T. (1994).** Cloning, expression, and nucleotide sequence of the  $\alpha$ -amylase gene from the haloalkaliphilicarchaeon *Natronococcus* sp.strain Ah-36. *J Bacteriol* 176:5131–5134
- Kiss-Pappo, T., Oren, A., Wasser, S.P., Nevo, E. (2003).**Survival of filamentous fungi in hypersaline Dead Sea water.*MicrobEcol*, 45,183-190.
- Litchfield, C. (1998).** Survival strategies for microorganisms in hypersaline environments and their relevance to life on Mars.*Meteorit planet.Sci.*,33: 813-819.
- Lippert K. et Galinski E.A. (1992).** Enzyme stabilization by ectoine-type compatible solutes: protection against heating, freezing and drying, *Applied Microbiology andBiotechnology*, 37, 61-65
- Larsen H. (1986).** Halophilic and halotolerantmicroorganismesAnoverview and historical perspective *FEMS MicrobiolLett.*31 :3-7.
- Menasria, T., Aguilera, M., Hacène, H., Benammar, L.,Ayachi, A., SiBachir, A et al.(2018).** Diversity and bioprospecting of extremely halophilearchaea isolatedfrom Algerian arid and semi-arid wetland ecosystemsfor halophilic-active hydrolyticenzymes. *Microbiological Research*, 207, 289-298.
- Oberwinkler TM( 2011).** Metabolic and Genomic Annotations in Halophilic Archaeaus Fürstentfeldbruck. Dissertation zur Erlangung des Doktorgra des der Fakultätfür Chemieund Pharmazie der Ludwig-Maximilians-Universität München. Pp : 245.
- Oren A (2006).** The Order *Halobacteriales* In: *Prokaryotes*. Springer. 3: 113-164.

## Références bibliographiques

---

**Oren A. (2002a).** Diversity of halophilic microorganisms: environments phylogeny, physiology, and applications. *J In dMicrobiol Biotechnol* 28: 56-63.

**Oren, A. (2002a).** Diversity of halophilic microorganisms: Environments, phylogeny, physiology, and applications. *Journal of Industria Microbiology and Biotechnology*, 28, 56–

**Oren, A. 2008.** Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Systems*, 4:2.63.

**Oren A. (2002b).** Halophilic microorganisms and their environments. In: Seckbach J(ed) Cellular Origin and Life in Extreme Habitats. Kluwer Academic, Dordrecht. P. 595.

**Oren, A. (1993).** Ecology of extremely halophilic microorganisms. In *The Biology of Halophilic Bacteria*, eds. Vreeland, R.H. & Hochstein, L.I. pp. 25—53. Boca Raton: CRC Press ISBN 0-84938841-4.

**Post, F.J. Oren, A. (1994).** The microbial ecology of the Great Salt Lake. In: *The ecology of the extremely halophilic archaea. FEMS Microbiology Reviews.*, 13, 415-440.

**Pérez-Pomares F., Bautista V., Ferrer J., Pire C., Marhuenda-Egea F.C., Bonete M.J.(2003).** Alpha-amylase activity from the halophilic archaeon *Haloferax mediterranei*. *Extremophiles* 7:299–306.

**Raddadi, N., A. Cherif, D. Daffonchio, M. Neifar et F. Fava.(2015).** Biotechnological applications of extremophiles, extremozymes and extremolytes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(19), 7907-7913. [<https://doi.org/10.1007/s00253-015-6874-9> ]

**Rampelotto.(2016).** P. H. *Biotechnology of extremophiles*. Edtioned. : Springer. ISBN 331913521X.

**Rampelotto(2013).** P. H. *Extremophiles and extreme environments*. *Life*, 3(3), 482-485. [<https://doi.org/10.3390/life3030482> ]

**Rodriguez-Valera, F. (1993).** Introduction to saline environments. In *The Biology of Halophilic Bacteria*. 1993. (Eds. R.H. Vreeland and L.I. Hochstein), pp 1-20. CRC Press Inc. Boca Raton.

**Romanescu, G., Stoleriu, C. C., Enea, A. (2013).** Definition of Lakes and Their Position in the Romanian Territory. In *Limnology of the Red Lake, Romania* . Springer, Dordrecht 1-34.

## Références bibliographiques

---

- Rodrigues L, Banat IM, Teixeira J, Oliveira R (2006).** Biosurfactants: Potential applications in medicine. *J. Antimicrob. Chem.* 57(2) : 609-618
- Seckbach, J. et P. Rampelotto. Polyextremophiles. In. C. Bakermans (ed) (2015).** *Microbial Evolution under Extreme Conditions.* : Walter de Gruyter GmbH & Co KG , p. 153170. [<https://doi.org/10.1515/9783110340716-010>]
- Samraoui, B., Samraoui, F. (2008).** An ornithological survey of Algerian wetlands: Important Bird Areas, Ramsar sites and threatened species. *Wildfowl*, 58:71–96.
- Sánchez-Porro C., Mellado E., Bertoldo C., Antranikian G., Ventosa A. (2003b).** Screening and characterization of the protease CP1 produced by the moderately halophilic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain CP76. *Extremophiles* 7: 221-228.
- Verma A., Kumar S. et Mehta P. (2020).** Physiological and genomic perspective of halophiles among different salt concentrations; in: *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*, 135-151.
- Ventosa A., Nieto J.J., Oren A. (1998).** Biology of aerobic moderately halophilic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 62: 504–544.
- Ventosa, A., Nieto, J. J. and Oren, A. (1998).** Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(2), 504-544.
- Ventosa et al; (2008).** Halophilic and halotolerant micro-organisms of soils. *SOILBIOL*, 13:87-115.
- Wang C-Y., Ng C-C., Tzeng W-S., Shyu Y-T. (2009).** *Marinobacter szutsaonensis* sp. nov., isolated from a solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 2605–2609.
- Zalar, P., De Hoog, G.S., Gunde-Cimerman, N. (1999).** Ecology of halotolerant *dothideaceous* black yeasts. *Studies in Mycology*, 43, 38–48.

**Année universitaire : 2021-2022**

**Présenté par :**

**Kifouche Assia**

**Bensaci Rania**

**Bouderbala Imen**

## **Les microorganismes halophiles et leurs potentiels biotechnologiques.**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie microbienne.**

### **Résumé**

Les microorganismes halophiles vivent en présence de sel à forte concentration, leur résistance à ces conditions leur confère des caractéristiques étonnantes, ce qui révèle un véritable atout biotechnologique.

Cette étude est une synthèse bibliographique sur ces microorganismes, leurs différents habitats, leurs diversités phylogénétiques et les différentes stratégies adaptatives qui ont développées pour s'adapter aux stress physicochimiques auxquels ils sont confrontés dont le mécanisme type KCL ou halobacterial et l'osmorégulation.

Plusieurs molécules produites par ces organismes et leurs activités enzymatiques, ont trouvées des applications nouvelles en biotechnologie .Les plus connues et les plus variées sont utilisées en plusieurs domaines : médical, pharmaceutique, alimentaire, agronomique et industriel.

Leur utilisation a ouvert la voie vers une biotechnologie future.

**Mots-clés :** Environnements salins, Halophiles, utilisations biotechnologiques.

**Encadreur :** Mme HACHEMI Zoubeida (MAA Constantine 3).

**Examineur 1 :** Mme BOUZERAIB Latifa (MAA-UFM Constantine1).

**Examineur 2 :** Mme RIAH Nassira (MCA-UFM Constantine).