



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم: ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire des microorganismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Étude des caractéristiques physico-chimiques et enzymatiques de quelques bactéries halophiles.

Présenté par : SABA Samah

Le : 19 /06/2024

BOUBRAL Aya

Jury d'évaluation :

Présidente : ALMI Hiba (MCB - U Constantine 1, Frères Mentouri).

Encadrante : MERIANE Ilhem (MAA - U Constantine 1, Frères Mentouri).

Examinatrice : DERABLI Bisma (MAB - U Constantine 1, Frères Mentouri).

Année universitaire

2023 - 2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions «**Allah**», le Tout-Puissant, pour nous avoir accordées le courage, la force, la patience et la santé, et pour nous avoir aidées à surmonter toutes les difficultés rencontrées lors de la réalisation de ce modeste travail.

Tout d'abord, nous tenons à exprimer nos plus sincères remerciements et notre reconnaissance à notre superviseure, **M^{me} MERIANE ILHEM**, pour son aide précieuse tout au long de ce travail et pour son encouragement constant. Un grand merci pour votre patience et vos conseils précieux que vous nous avez prodigués lors de la préparation de ce mémoire. C'est vraiment un grand honneur de travailler sous votre direction. Toutes les paroles ne suffisent pas pour vous remercier, merci du fond du cœur.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude aux membres du jury : **M^{me} ALMI Hiba** et **DERABLI Besma**. Nous vous remercions pour d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements et notre profonde appréciation aux ingénieurs du Laboratoire 8, 9 du Laboratoire de Microbiologie RDC et du Laboratoire 14 ainsi qu'à **Mr CHEBBAL Ibrahim** l'ingénieur de labo, pour leur assistance généreuse, leur générosité et leur dévouement dans leur travail, ainsi que pour leur contribution à la bonne marche de ce travail.

Nous adressons également nos remerciements particuliers à tout le personnel administratif de la Faculté des Sciences de la Vie, en particulier ceux du Département de Microbiologie. Merci du fond du cœur, chers enseignants.

Nous aimerions également profiter de cette occasion pour exprimer notre gratitude particulière à nos parents pour leur confiance en nous, leur encouragement constant et leur soutien psychologique. Merci beaucoup pour tout, sans vous, nous n'aurions pas pu aller aussi loin.

On n'oublie nos chères amies, la liste est longue mais l'essentiel pour nous est de remercier toutes les personnes qui ont consacré une partie de leur temps pour nous.

Enfin, nous exprimons notre gratitude immense à tous ceux qui ont contribué à accomplir ce travail, que ce soit de près ou de loin, directement ou indirectement.

Dédicace

D'être toujours auprès de moi.

Je dédie ce mémoire aux êtres

Allah tout puissant merci

les plus chers à mon cœur A' ma chère mère

Rabia

Qui m'a soutenue durant toutes ma vie, qui m'a aidée durant mes années d'études, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit.

Je souhaite prouver mon grand remerciement qui ne sera jamais suffisant à elle que j'espère la rendre fière par ce travail.

A' mon très cher père Massoud

Qui était mon exemple de père par son soutien, ses encouragements et aides de mes premiers par d'études jusqu'à ce jour.

A' mes chers frères qui ont toujours été là pour moi : «Abdellatif», «Youssef», «Wassim», «Hadjer» et «Sara».

*À toute ma famille ainsi mes amies en particulier
Bouthaina, Nihad, Aya et Sana.*

À mon binôme, à qui je dis bon courage et bonne continuation et à tous ceux qui m'ont aidés de près ou de loin.

Samah

Dédicace

*C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail :
À mes chers parents, «Aïssa» et «Imene» pour leur
tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes
études. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,
l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu
pour eux. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et
nuit pour mon éducation et mon bien-être.*

*Une dédicace spéciale pour mes sœurs d'amour, «Malak» et
«Rahma», et pour mes frères, «Housseem», «Saïfe» «Louay» et
«Sadjed», ainsi qu'à toute ma famille.*

*À la personne qui m'a toujours aidée et encouragée, qui était
toujours à mes côtés, et qui m'a accompagné durant mon
chemin d'études, source d'espoir et de motivation, chef du
service des sciences exactes Mr Hadjez Hakim.*

À mon binôme «Samah».

À mes chères amies, en particulier «Khawla».

*À tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin dans la
réalisation de ce travail, merci d'être là pour m'encourager
et pour me soutenir. Je vous souhaite que du bonheur.*

Aya

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 2

Partie I : Revue bibliographique

1. Définitions 2

2. Habitat 2

2.1. Environnements thalassohalins 3

2.2. Environnements athalassohalins 3

3. Classification des bactéries halophiles..... 4

3.1 Phylum Proteobacteria (Pseudomonadota) 5

3.2 Phylum Firmicutes 11

3.3 Phylum Actinobacteria..... 11

3.4 Phylum Spirochètes 11

3.5. Phylum Thermotogae 12

3.6. Phylum Tenericutes 12

4. Caractéristiques physico-chimique de croissance optimale des bactéries halophiles 12

5. Mécanismes d'adaptation des micro-organismes halophiles au stress salin 13

5.1 Stratégie de « high salt-in » 14

5.2 Stratégie de «low salt-in» 15

6. Applications industrielles des bactéries halophiles..... 15

Partie II :Matériel et méthodes

1. Provenance des bactéries étudiées 17

2. Mise en culture des bactéries halophiles..... 17

2.1 Revivification des bactéries halophiles..... 17

2.2 Repiquage et purification des bactéries halophiles 17

3. Étude des caractéristiques physico-chimiques des bactéries halophiles 18

3.1 Ensemencement à différents températures.....	18
3.2 Ensemencement à différents pH	18
3.3 Ensemencement à différentes concentrations de NaCl	19
4. Étude de caractères enzymatiques des bactéries halophiles: recherche de la L-arginase et la L-méthionase.....	19

Partie III :Résultats et discussion

1. Revivification des bactéries halophiles	21
2. Repiquage et purification des bactéries halophiles.....	221
3. Étude des caractéristiques physico-chimiques des bactéries halophiles.....	221
3.1. Étude de l'effet de différents caractères physico-chimiques sur la croissance de la totalité des bactéries halophiles	221
3.1.1 Effet de la température sur la croissance des bactéries halophiles.....	21
3.1.2 Effet du pH sur la croissance des bactéries halophiles.....	22
3.1.3 Effet du sel sur la croissance des bactéries halophiles.....	23
3.2 Étude de l'effet des paramètres physico-chimiques sur la croissance de chaque souche.....	25
3.2.1 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°3.....	25
3.2.2 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°7.....	26
3.2.3 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°12.....	28
3.2.4 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°19.....	30
3.2.5 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°20.....	27
4. Étude de caractères enzymatiques des bactéries halophiles	34
Conclusion et perspectives.....	37
Références bibliographiques	38

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

Tableau 1	Classification des micro-organismes halophiles selon la plage de salinité.	P 5
Tableau 2	Exemples de bactéries halophiles appartenant au phylum Proteobacteria (Pseudomonadota).	P 7
Tableau 3	Propriétés physico-chimiques de la croissance optimale des bactéries halophiles.	P 13
Tableau 4	Exemples d'enzymes produites par des bactéries halophiles.	P 16
Tableau 5	Effet de la température sur la croissance des bactéries halophiles après 10 jours d'incubation.	P 22
Tableau 6	Effet du paramètre pH sur la croissance des bactéries halophiles après 10 jours d'incubation.	P 23
Tableau 7	Effet du sel sur la croissance des bactéries halophiles après 10 jours d'incubation.	P 24
Tableau 8	Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°3 après 10 jours d'incubation.	P 25
Tableau 9	Résultats de l'effet de la température, du pH et du NaCl sur la croissance de la souche n°7 après 10 jours d'incubation.	P 27
Tableau 10	Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°12 après 10 jours d'incubation.	P 29
Tableau 11	Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°19 après 10 jours d'incubation.	P 30
Tableau 12	Résultats de l'effet de la température, du pH et du NaCl sur la croissance de la souche n°20 après 10 jours d'incubation.	P 32
Tableau 13	Résultat de la production de la L-méthionase et la L-arginase après 10 jours d'incubation.	P 34

Liste des figures

Figure 1	Photos des environnements thalassohalins : le Grand Lac Salé de l'Utah (A) et des environnements athalassohalins : la Mer Morte (B) et Lac de Soude (C).	P 4
Figure 2	Photographies des milieux de culture utilisés pour la revivification des bactéries halophiles.	P 17
Figure 3	Photographies de tubes contenant les milieux de culture liquides utilisés pour l'étude du pH.	P 19
Figure 4	Photographie des milieux de culture utilisés dans les tests enzymatiques de bactéries halophiles.	P 20
Figure 5	Photographies des colonies des souches 3,7 et 19 après repiquage.	P 21
Figure 6	Histogramme représentant le résultat de l'effet de la température sur la croissance des bactéries halophiles.	P 22
Figure 7	Histogramme représentant le résultat de l'effet du pH sur la croissance des bactéries halophiles.	P 23
Figure 8	Histogramme représentant de l'effet du sel (NaCl) sur la croissance des bactéries halophiles.	P 24
Figure 9	Photographies représentant les résultats de l'effet de la température, du pH et du NaCl sur la croissance de la souche n°3 après 10 jours d'incubation.	P 26
Figure 10	Photographies représentant les résultats de l'effet de la température, du pH et du NaCl sur la croissance de la souche n°7 après des 10 jours d'incubation.	P 28
Figure 11	Photographies représentant les résultats de l'effet de du pH et du NaCl sur la croissance de la souche n°12 après des 10 jours d'incubation.	P 30
Figure 12	Photographies représentant les résultats de l'effet de la température, du pH et du NaCl sur la croissance de la souche n°19 après 10 jours d'incubation.	P 31
Figure 13	Photographies représentant les résultats de l'effet de la température 40 et du pH 8 et 9 sur la croissance de la souche n°19 après 10 jours d'incubation.	P 33
Figure 14	Production de la L-méthionase et la L-arginase par les bactéries halophiles.	P 34
Figure 15	Photographies représentant la production de la L-méthionase et la L-arginase par les souches S3, S7 et S20.	P 35

Introduction

Sur Terre, chaque organisme vivant est caractérisé par des limites physiques et chimiques (valeurs minimale et maximale des paramètres) qui lui assurent son cycle vital. Certaines de ces limites atteignent des valeurs extrêmes au-delà des quelles aucune vie ne serait possible, mais c'est à proximité de ces limites que vivent les organismes appelés extrêmophiles (thermophiles, psychrophiles, acidophiles, alcaliphiles, halophiles, barophiles et radorésistantes) (**Damiano, 2022**). Ces dernières ont été les premiers représentants de la vie sur Terre et ont contribué à la formation des structures géologiques tout au long de l'évolution et de la formation de tous les écosystèmes connus aujourd'hui (**Pikuta et al., 2007**).

Les bactéries halophiles sont considérées comme importants micro-organismes extrêmophiles. Elles peuvent vivre dans des milieux salins ou hypersalins et utilisent diverses stratégies d'adaptation afin de survivre dans ces environnements extrêmes. Elles sont classées en trois catégories selon leur tolérance au sel : les légèrement halophiles, avec un optimum de croissance entre 2 et 5% de NaCl, les modérément halophiles, avec un optimum entre 5 et 20% de NaCl et les halophiles extrêmes, avec un optimum entre 20 et 30% de NaCl (**Grégoire et al., 2009 ; Gupta et al., 2014 ; Dumorné, 2018**).

Ces bactéries halophiles suscitent une grande attention en raison de leur potentiel d'utilisation en biotechnologie. Les enzymes produites par ces halophiles suscitent de plus en plus d'intérêt car elles devraient avoir des activités optimales en présence de sels et de tensioactifs (**Gupta et al., 2014**). Selon **Dumorné (2018)**, les enzymes synthétisées par les bactéries halophiles présentent de nombreuses possibilités d'exploitation dans les domaines de la biotechnologie et de l'industrie, comme l'industrie alimentaire (protéase, amylase..etc.), l'industrie du textile (lipase), l'industrie pharmaceutique (déshydrogénase)..etc.

Notre travail s'est concentré sur l'étude des bactéries halophiles. Il est réparti comme suit ;

- Une première partie (bibliographie) qui se concentre sur les micro-organismes halophiles et halotolérants.
- Une seconde partie qui représente le travail pratique qui concerne l'étude de l'effet des paramètres physico-chimiques (température, pH et NaCl) sur la croissance des bactéries d'halophiles étudiées ainsi que leurs aptitudes enzymatiques (capacité de production de l'arginase et la méthionase).

Les résultats obtenus sont comparés et discutés dans la troisième partie.

Enfin, la dernière partie concernera la conclusion finale et soulignera les perspectives de ce travail.

Partie I : Revue bibliographique

1. Définitions

Le mot halophile est dérivé d'un mot grec «hal» qui signifie «mer ou sel» et «philos» qui signifie «aimer». Le terme «**halophile**» est utilisé pour désigner tous les organismes qui ont besoin d'une certaine concentration de sel pour leur croissance, y compris des concentrations allant jusqu'à 35 g/L, comme celles présentes dans l'eau de mer (**DasSarma et DasSarma, 2017 ; Gocheva et al., 2021**).

Le terme halotolérant désigne tous les organismes qui peuvent croître en présence ou en absence des conditions hautement salines (**Lach et al., 2021**).

Les bactéries halophiles sont des organismes unicellulaires ayant différentes formes telles que des cocci, des bâtonnets, des formes triangulaires et même des forme carrées (**Mukhtar et al., 2020 ; Rathakrishnan et Gopalan, 2021**). En règle générale, elles ne peuvent se développer qu'en présence de sel, généralement sous forme de chlorure de sodium (NaCl) (**Gregoire et al., 2009**), quant aux bactéries halotolérantes, elles ne nécessitent pas de sel pour la croissance mais peuvent tolérer sa présence dans le milieu même à des concentrations élevées, dépassant 2,5 M de NaCl (**Daoud et Ben Ali, 2020**).

Les bactéries halophiles et halotolérantes peuvent s'adapter à différentes concentrations de sel, qu'elles soient saisonnières, annuelles ou irrégulières dans leur milieu naturel (**Lach et al., 2021**).

2. Habitat

Les halophiles sont un groupe hétérogène d'organismes extrémophiles qui peuvent survivre et même prospérer dans des milieux très salins, qui sont défavorables à la survie de la plupart des formes de vie que nous connaissons. Les micro-organismes qui dominent les niches hypersalins sont généralement des archées et des bactéries extrêmes et modérément halophiles (**Ruginescu et al., 2020**).

Selon **Javid et al. (2020)**, ces micro-organismes peuvent exister presque dans tous les environnements marins ou terrestres, anaérobies ou aérobies, polaires et tropicales, ou acides aux environnements alcalins.

Les environnements salins et hypersalins sont considérés comme les habitats principaux des halophiles (**Daoud et Ben Ali, 2020**).

Les environnements hypersalins sont classés en deux catégories, selon leur origine, en fonction de la teneur en sel, des ions dominants et des conditions de pH : la thalassohalins (origine océanique) et l'athalassohalins (origine continentale) (**Daoud et Ben Ali, 2020 ; Mukhtar et al., 2020 ; Verma et al., 2020**).

2.1. Environnements thalassohalins : ce sont des milieux d'origine marine qui contiennent des concentrations de sel similaires à celles trouvées dans l'eau de mer (**Akpolat et al., 2021**). Ces milieux sont généralement issus de l'évaporation de l'eau de mer. Ils contiennent des ions Na^+ et Cl^- prédominants (**Mukhtar et al., 2020**) et d'autres ions importants (Mg^{2+} , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+} , Br^- , HCO_3^- ..etc) (**Ventosa et Arahah, 2009**) et un pH quasi de neutre à légèrement alcalin (**Mukhtar et al., 2020**).

Parmi les exemples courants de ce type d'environnement le Grand Lac salé de l'Utah ou des sols salins (**figure 1**) (**Ventosa et Arahah, 2009**).

2.2. Environnements athalassohalins : qui ont pour origine la dissolution des sels liés aux roches et aux couches géologiques, causée par l'eau de pluie ou le ruissellement (**Daoud et Ben Ali, 2020**). Ainsi, ils proviennent de sources épicontinentales qui ne sont pas directement liées à une source marine, car les proportions de sels sont très différentes de celles de l'eau marine (**Akpolat et al., 2021 ; Lach et al., 2021**).

La saumure de la mer morte présente une concentration plus élevée d'ions Mg^{2+} et Ca^{2+} , avec un pH relativement bas (environ 0,6), ce qui explique la composition ionique différente de celle de l'eau de mer. En outre, l'athalassohalin alcaline est présente dans de nombreuses régions géographiques, telles que l'Inde, la Chine, la Californie, l'Afrique de l'Est, l'Égypte, le Nevada et d'autres encore. Ces solutions salines de lacs de soude sont principalement composées d'ions monovalents et présentent un pH élevé ($\geq 10-11$), tandis que la solubilité des cations divalents est inférieure à la limite de détection (**Verma et al., 2020**).

Les exemples des environnements athalassohalins les plus étudiés sont la Mer Morte et certains lacs alcalins (les lacs de soude) (**figure 1**) (**Ventose et Arahah, 2009**).

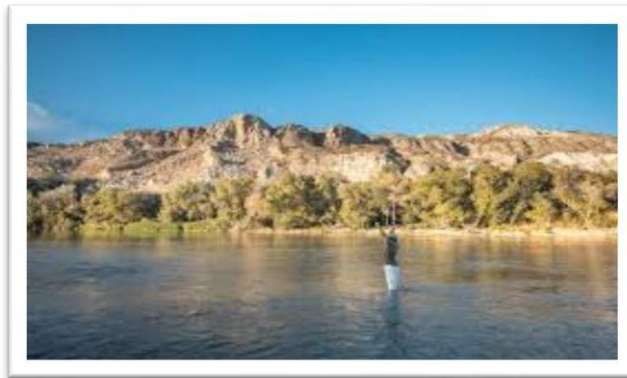
Les halophiles vivent aussi dans des milieux salés comme les lacs, les côtes salines, les sols, les marais, les bassins anoxiques hypersalins profonds, les aliments salés, les roches salées, les glandes salines et les cavités nasales de certains animaux, ainsi que les surfaces archéologiques (**Ruginescu et al., 2020**).



A



B



C

Figure 1 : photos des environnements thalassohalins : (A) le Grand Lac Salé de l'Utah et des environnements athalassohalins : (B) la Mer Morte et (C) Lac soude.

A: <https://rove.me/fr/to/utah/great-salt-lake>.

B: <https://odyseedelaterre.fr/flottaison-mer-morte/>.

C: <https://fr.freepik.com/photos/lac-soude>.

3. Classification des bactéries halophiles

Les bactéries halophiles se divisent en plusieurs catégories en fonction de leur tolérance au sel (Aissaoui, 2013). D'après Hozzein. (2015), la classification la plus largement utilisée par la plupart des scientifiques a été proposée par Kushner et Kamekura (1988). Cette classification est basée sur la croissance optimale des micro-organismes en fonction de la concentration en NaCl (tableau 1).

Tableau 1 : Classification des organismes-micro halophiles selon la plage de salinité
(Verma *et al.*, 2020).

Classe de procaryotes en ce qui concerne la salinité	Plage de salinité	Exemples
Non halophiles	<0,2 M	Bactéries des eaux douces (telles que <i>Pseudomonas aeruginosa</i>).
Halotolérants	Capable de tolérer le sel > 2,5 M : extrêmement halotolérant	<i>Staphylococcus</i> sp.
Légèrement halophiles	0,2 - 0,5 M	Bactéries marines (<i>Vibrio alginolyticus</i>).
Halophiles modérés/ limite extrême halophile	0,5 - 2,5M/ 1,5 - 4,0M	<i>Salinivibrio costicola</i> <i>Halomonas elongata</i> <i>Tamilnaduibacter salinus</i> <i>Halorhodospira halophila</i>
Extrêmement halophiles	2,5 - 5,2M	<i>Halobacterium salinarum</i> <i>Halomarina oriensis</i> <i>Salinibacter ruber</i>

Plus de 150 espèces ont été identifiées dans 70 genres de bactéries halophiles, ce qui en fait une grande variété (Mohammadipanah *et al.*, 2015). Il y a des espèces halophiles aérobies, anaérobies, hétérotrophes, phototrophes et chimioautotrophes (Hozzein, 2015). Elles sont présentes dans les trois domaines de la vie : *Eucarya*, *Archaea* et *Bacteria*, avec une représentation plus phylogénétique dans le groupe de *Bacteria* (Daoud et Ben Ali, 2020). Depuis 2018, toutes les espèces halophiles ont été regroupées dans une nouvelle base de données en ligne appelée **HaloDom**, dans laquelle il y a plus de 1000 espèces halophiles réparties en 50,1% de bactéries, 27,9% d'eucaryotes et 21,9% d'archées (Daoud et Ben Ali, 2020).

Il existe de nombreux organismes halophiles dans le domaine *Bacteria*, répartis dans diverses taxons bactériennes bien connues au sein des phyla suivants : *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes*, *Thermotogae*, *Cyanobacteria* et *Tenericutes* (De la Haba *et al.*, 2011 ; Hozzein, 2015).

3.1 Phylum Proteobacteria (Pseudomonadota)

Le phylum Proteobacteria a été proposé par Garrity *et al.* (2005) sur la base d'une analyse phylogénétique de séquence d'ARN16s. Il existe cinq classes distinctes de bactéries à

Gram négatif dans ce phylum : **Alphaproteobacteria**, **Betaproteobacteria**, **Gammaproteobacteria**, **Deltaproteobacteria** (ou **Deltabacteria**) et **Epsilonproteobacteria** (**Tableau 2**). Le phylum Proteobacteria est récemment nommé Pseudomonadota par **Garrity et al. (2021)**.

Les Protéobactéries sont des bactéries omniprésentes et hétérogènes, possédant des propriétés physiologiques variées. Elles peuvent être isolées de différents milieux, tels que les environnements marins, hypersalins, alcalins et acides. Sauf la classe des Betaproteobacteria, toutes les autres classes incluent des bactéries halophiles (**De la Haba et al., 2011**).

Tableau 2 : Exemples de bactéries halophiles appartenant au phylum Proteobacteria (Pseudomonadota) (De la Haba *et al.*, 2011)

Domaine	Phylum	Classes	Ordres	Familles	Genres	Espèces
Bacteria	Proteobacteria (Pseudomonadota)	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Roseobacteraceae	<i>Rhodovulum</i>	<i>R. adriaticum</i>
					<i>Antarctobacter</i>	<i>A. heliothermus</i>
				Rhodobacteraceae	<i>Citreimonas</i>	<i>C. salinaria</i>
					<i>Jannaschia</i>	<i>J. seosinensis</i>
				Hyphomonadacea	<i>Maribaculum</i>	<i>M. marinum</i>
				Rhodobacteraceae	<i>Maribius</i>	<i>M. pelagius</i> et <i>M. salinus</i>
				Maricaulaceae	<i>Maricaulis</i>	<i>M. parjimensis</i> et <i>M. virginensis</i>
				Rhodobacteraceae	<i>Marivita</i>	<i>M. cryptomonadis</i> et <i>M. litorea</i>
					<i>Methylarcula</i>	<i>M. marina</i> et <i>M. terricola</i>
				Roseobacteraceae	<i>Oceanibulbus</i>	<i>O. indolifex</i>
				Rhodobacteraceae	<i>Oceanicola</i>	<i>O. marinus</i>
					<i>Palleronia</i>	<i>P. marisminoris</i>
					<i>Paracoccus</i>	<i>P. halophilus</i> , <i>P. homiensis</i> et <i>P. saliphilus</i>
				Roseobacteraceae	<i>Ponticoccus</i>	<i>P. litoralis</i>
				Rhodobacteraceae	<i>Rhodotalassium</i>	<i>R. salexigens</i>
<i>Roseinatronobacter</i>	<i>R. monicus</i>					
Roseobacteraceae	<i>Roseisalinus</i>	<i>R. antarcticus</i>				

Tableau 2 : Exemples de bactéries halophiles appartenant au phylum Proteobacteria (Pseudomonadota) (suite) (De la Haba *et al.*, 2011) .

Domaine	Phylum	Classes	Ordres	Familles	Genres	Espèces
Bacteria	Proteobacteria (Pseudomonadota)	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Roseobacteraceae	<i>Roseovarius</i>	<i>R. pacificus et R. tolerans</i>
					<i>Salinhabitans</i>	<i>S. flavidus</i>
					<i>Salipiger</i>	<i>S. mucosus</i>
					<i>Sediminimonas</i>	<i>S. qiaohouensis</i>
					<i>Shimia</i>	<i>S. marina</i>
					<i>Sulfitobacter</i>	<i>S. brevis et S. litoralis</i>
					<i>Tropicibacter</i>	<i>T. naphthalenivorans</i>
			Caulobacterales	Maricaulaceae	<i>Woodsholea</i>	<i>W.maritima</i>
				Roseobacteraceae	<i>Yangia</i>	<i>Y. pacifica</i>
			Rhizobiales	Rhodomicrobiaceae	<i>Dichotomicrobium</i>	<i>D. thermohalophilum</i>
				Rodobiaceae	<i>Rhodobium</i>	<i>R. gokarnense et R. orientalis</i>
			Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Fodinicurvata</i>	<i>F. fenggangensis et F.sediminis</i>
		<i>Marispirillum</i>			<i>M. indicum</i>	
		Rhodovibrionaceae		<i>Rhodovibrio</i>	<i>R. salinarum et R. sodomensis</i>	
		Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	<i>Aidingimonas</i>	<i>A. halophila</i>
					<i>Carnimonas</i>	<i>C. nigrificans</i>
					<i>Chromohalobacter</i>	<i>C. beijerinckii, C. canadensis, C. israelensis, C. japonicus, C.marismortui, C.nigrandesensis, C.salexigens, C. sarecensis</i>
					<i>Cobetia</i>	<i>C. marina</i>
<i>Halomonas</i>	<i>H. alimentaria, H. alkaliphila, H. almeriensis, H. andesensis, H. anticariensis, H. aquamarina, H. arcis, H. axialensis,</i>					

Tableau 2 : Exemples de bactéries halophiles appartenant au phylum Proteobacteria (Pseudomonadota) (suite) (De la Haba *et al.*, 2011)

Domaine	Phylum	Classes	Ordres	Familles	Genres	Espèces
Bacteria	Proteobacteria (Pseudomonadota)	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	<i>Halomonas</i>	<i>H.campisalis</i> , <i>H.caseinilytica</i> , <i>H. cerina</i> , <i>H. cupida</i> , <i>H.daqingensis</i> , <i>H.denitrificans</i> , <i>H.desiderata</i> , <i>H. elongata</i> , <i>H. eurihalina</i> , <i>H.fontilapidosi</i> <i>H.gomseomensis</i> , <i>H.gudaonensis</i> , <i>H. halmophila</i> , <i>H.halocynthiae</i> , <i>H.halodenitrificans</i> , <i>H.halodurans</i> , <i>H. halophila</i> , <i>H.hamiltonii</i> , <i>H.hydrothermalis</i> , <i>H.ilicicola</i> , <i>H. janggokensis</i> , <i>H. johnsoniae</i> , <i>H. kenyensis</i> , <i>H. korlensis</i> , <i>H. koreensis</i> , <i>H. kribbensis</i> , <i>H. lutea</i> , <i>H. magadiensis</i> , <i>H. maura</i> , <i>H. meridiana</i> , <i>H.mongoliensis</i> , <i>H. muralis</i> , <i>H. neptunia</i> , <i>H.nitroreducens</i> , <i>H.organivorans</i> , <i>H. pacifica</i> , <i>H. pantelleriensis</i> , <i>H. sabkhae</i> , <i>H. saccharevitans</i> , <i>H. salifodinae</i> , <i>H. salina</i> , <i>H. shengliensis</i> , <i>H.subglaciescola</i> , <i>H. stevensii</i> , <i>H. subterranea</i> , <i>H. sulfidaeris</i> , <i>H. taeanensis</i> , <i>H.variabilis</i> , <i>H. ventosae</i> , <i>H.venusta</i> , <i>H. xinjiangensis</i> , <i>H. zhanjiangensis</i>

Tableau 2 : Exemples de bactéries halophiles appartenant au phylum Proteobacteria (Pseudomonadota) (suite) (De la Haba *et al.*, 2011).

Domain	Phylum	Classes	Ordre	familles	Genres	Espèces
Bacteria	Proteobacteria (Pseudomonadota)	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	<i>Kushneria</i>	<i>K.aurantia</i> , <i>K.avicenniae</i> , <i>K.indalinina</i> , <i>K. marisflavi</i>
					<i>Modicisalibacter</i>	<i>M. tunisiensis</i>
					<i>Salinicola</i>	<i>S. halophilus</i> , <i>S. salaria</i> , <i>S. socius</i>
		Deltaproteobacteria	Desulfobacterale	Desulfobacteraceae	<i>Desulfocella</i>	<i>Desulfocella halophila</i>
					<i>Desulfohalobium</i>	<i>D. retbaense</i> et <i>D. utahense</i>
					<i>Desulfonatronospira</i>	<i>D. delicata</i> et <i>D. thiodismutans</i>
					<i>Desulfovermiculus</i>	<i>D. halophilus</i>
					<i>Desulfovibrio</i>	<i>D.bastinii</i> , <i>D.gabonensis</i> , <i>D. gracilis</i> , <i>D.halophilus</i> , <i>D. marinus</i> , <i>D.salexigens</i> , <i>D.vietnamensis</i> et <i>D. alkaliphilus</i>
		Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Arcobacteraceae	<i>Arcobacter</i>	<i>A. halophilus</i>
				Helicobacteraceae	<i>Sulfurimonas</i>	<i>S. autotrophica</i>
<i>Sulfurovum</i>	<i>S. lithotrophicum</i>					

3.2 Phylum Firmicutes

Les Firmicutes constituent un phylum bactérien très diversifié composé de trois classes : *Bacilli*, *Clostridia* et *Mollicutes*. Toutefois, la famille *Mollicutes* a récemment été écartée de ce phylum et a été intégrée au phylum « *Tenericutes* ». En revanche, deux nouvelles classes, à savoir « *Erysipelotrichi* » et *Thermolithobacteria*, ont été ajoutées aux Firmicutes. La morphologie et la physiologie des membres du phylum Firmicutes sont très variées, ce qui leur permet de vivre dans une grande diversité d'environnements, tels que des habitats hypersalins (De la Haba *et al.*, 2011).

La classe *Bacilli* comprend l'ordre *Bacillales* et trois familles : *Bacillaceae* qui contient les genres : *Bacillus*, *Alkalibacillus*, *Halobacillus*, *Lentibacillus* et *Virgibacillus*. La famille *Planococcaceae* qui contient les genres *Planococcus*, *Filibacter*, *Kurthia*, *Planomicrobium* et *Sporosarcina*, ainsi que trois genres transférés des *Bacillaceae* : *Marinibacillus*, *Ureibacillus* et *Jeotgalibacillus*. La famille, *Staphylococcaceae*, regroupe un seul genre *Salinicoccus* qui comprend des espèces halophiles (De la Haba *et al.*, 2011). En ce qui concerne la classe *Clostridia*, on retrouve l'ordre des *Halanaerobiales* ainsi que deux familles : *Halanaerobiaceae*, qui regroupe trois genres : *Halanaerobium*, *Halocella* et *Halothermothrix* et *Halobacteroidaceae*. Cette classe comprend une grande diversité d'espèces halophiles provenant de divers milieux salins et hypersalins (De la Haba *et al.*, 2011).

3.3 Phylum Actinobacteria

Le phylum Actinobacteria est composé de 5 classes, 19 ordres, 50 familles et 221 genres, selon la dernière édition du *Bergey's Manual of systematic Bacteriology* (Hozzein, 2015). Jusqu'à présent, 219 genres ont été répertoriés dans 48 familles dans la classe des *Actinobacteria*. Cette classe est divisée en quatre sous-classes : *Acidimicrobiales*, *Actinobacteriales*, *Coriobacteriales* et *Rubrobacteriales*, avec seulement les *Actinobacteriales* qui incluent des bactéries halophiles. Trois ordres sont présents dans la sous-classe *Actinobacteriales* : *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales* et *Nitriliruptorales*. Seuls les *Actinomycetales* comprennent des bactéries halophiles (De la Haba *et al.*, 2011). L'ordre des *Actinomycetales* comprend les sous-ordres suivants de bactéries halophiles : *Actinopolysporineae*, *Corynebacterineae*, *Glycomycineae*, *Micrococcineae*, *Pseudonocardineae* et *Streptoporangineae* (De la Haba *et al.*, 2011).

3.4 Phylum Spirochètes

Les Spirochètes sont composés de quatre espèces modérément halophiles, toutes du genre *Spirochaeta* (Akmoussi-Toumi, 2020). Ce genre comprend un ensemble de bactéries

saccharolytiques libres, en forme d'hélice, relativement fréquentes dans les sédiments, les boues d'eau douce ou marines et les tapis microbiens. Les espèces halophiles modérées comprennent *Spirochaeta halophila*, les espèces haloalcaliphiles : *Spirochaeta africana* et *Spirochaeta alkalica*. *S. asiatica* est une espèce strictement anaérobie, tandis que les trois autres espèces sont aérobies facultatives. Ce sont des chimioorganotrophes ayant un métabolisme aérobie facultatif (De la Haba *et al.*, 2011).

3.5. Phylum Thermotogae

Le phylum Thermotogae est constitué d'une seule classe : Thermotogae (Lanzilli *et al.*, 2020), qui n'a qu'un seul ordre, les Thermotogales. Les membres de cet ordre sont des bactéries anaérobies en forme de bâtonnets avec des cellules entourées de gaines, retrouvées dans des réservoirs de pétrole profonds et chauds situés dans les écosystèmes marins ou continentaux. L'ordre des Thermotogales est constitué d'une famille unique des Thermotogaceae, dont il existe plusieurs genres. On retrouve dans certains de ces genres des espèces marines ou légèrement halophiles telles que *Kosmotoga*, *Marinitoga*, *Thermosipho* ou *Thermotoga*, mais seul le genre *Petrotoga* comprend une espèce modérément halophile (De la Haba *et al.*, 2011).

3.6. Phylum Tenericutes

Ce phylum inclut la classe des Mollicutes, qui faisait précédemment partie du phylum Firmicutes. On n'a récemment décrit qu'une seule espèce modérément halophile associée aux Mollicutes et intégrée au nouvel ordre des Haloplasmatales dans la famille des Haloplasmataceae, en tant que nouvelle espèce appelée *Haloplasma contractile*. Cette bactérie est de type Gram négatif, non sporulée, avec des cellules pléomorphes, habituellement formées d'un corps coccoïde central avec une ou deux protubérances en forme de tentacules. Elle est strictement anaérobie, dénitrifiante et fermentaire. Elle se développe dans des environnements avec un pH neutre et à des températures allant de 10°C à 44 °C (avec une température optimale de 30 à 37 °C). Il s'agit d'une espèce halophile modérée car sa croissance dépend d'un intervalle de NaCl entre 1,5 et 18 avec une croissance optimale à 8% de NaCl (De la Haba *et al.*, 2011).

4. Caractéristiques physico-chimique de croissance optimale des bactéries halophiles

Les halophiles sont des organismes dont la croissance optimale dépasse une concentration de 3 %. Lorsque la croissance optimale se produit entre 3 % et 15 % de sel, ils sont considérés

comme des halophiles modérés. Lorsqu'elle se produit au-delà de 15 % de sel et jusqu'à la saturation halite (34%), ils sont considérés comme des halophiles extrêmes (**Ventosa et Arahah, 2011**).

Les bactéries halophiles sont généralement halophiles modérées plutôt que halophiles extrêmes. La température et la quantité de nutriments sont des facteurs essentiels pour évaluer leurs besoins en sel (**Mohammadipanah et al., 2015**). Les besoins en sel et leur tolérance peuvent différer selon les conditions de croissance, comme la composition du milieu et la température (**Hozzein, 2015**), car de nombreuses espèces véritables halophiles peuvent se comporter comme des halotolérants dans des milieux complexes (**Mohammadipanah et al., 2015**). Ainsi, il est nécessaire de spécifier la température de croissance dans la définition de la plage de sel pour la croissance. *Marinococcus halophilus*, par exemple, se développe à des concentrations faibles à partir de 0,01 M de NaCl à 20 °C, mais il est nécessaire d'avoir au moins 0,5 M à 25°C pour une croissance optimale (**Hozzein, 2015**). Les caractéristiques physico-chimiques de croissance optimale des bactéries halophiles sont mentionnées dans le tableau 3. Certaines bactéries halophiles nécessitent généralement entre 3 et 4 semaines pour atteindre leur croissance optimale mais elles n'ont pas toutes besoin de la même plage de concentration de sel pour leur croissance, Quelques-unes de ces bactéries se développent mieux dans seulement une concentration de 0,2 à 0,5 M de sel, comme la majorité des bactéries marines. Cependant, il existe également des bactéries halophiles qui nécessitent 1M de sel au minimum pour leur croissance et peuvent proliférer dans différentes concentrations de sel alors que d'autres exigent au moins 2,5 M de sel pour une croissance optimale et le maintien de la stabilité structurale, comme pour le genre *Halobacterium* (**Daoud et Ben Ali, 2020 ; Verma et al., 2020 ; Dutta et Bandopahyay, 2022**).

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques de la croissance optimale des bactéries halophiles.

Propriétés physico-chimiques	Conditions optimale de la croissance des bactéries halophiles	Références
Temperature	Les espèces les plus connues d'halophiles se développent entre 25 et 45 °C, mais certaines peuvent tolérer des températures plus basses. Cependant, la température idéale pour favoriser la croissance des bactéries halophiles est comprise entre 28 et 37 °C.	Oren, 2016 Rajendran, 2015
pH	Elles développent mieux dans une gamme de pH 7.0 à 8.0	Rajendran, 2015
NaCl	5 à 20% de NaCl	Javid et al., 2020

5. Mécanismes d'adaptation des micro-organismes halophiles au stress salin

Les micro-organismes halophiles et halotolérants sont capables de s'adapter à une large gamme de concentrations de sel (**Lach et al., 2021**). Dans un environnement très salin, l'eau contenue dans une cellule se déplace vers l'extérieur, ce qui entraîne une diminution du volume cellulaire, lorsqu'il est trop élevé, peut entraîner la dormance ou la mort de la cellule. D'autre part, lorsque la cellule se trouve dans un environnement à faible osmolarité, le flux d'eau se déplacera en sens inverse, ce qui entraînera une turgescence de la cellule et même sa rupture si la limite d'élasticité de son enveloppe est dépassée. D'où il est essentiel que la cellule ajuste constamment sa pression osmotique intra-cytoplasmique en fonction de celle de son environnement. On appelle osmorégulation tous les mécanismes qui permettent aux cellules de réguler cette pression osmotique interne (**Daoud et Ben Ali, 2020**).

Deux stratégies d'adaptation différentes sont utilisées par les micro-organismes halophiles et halotolérants pour s'adapter à des conditions de salinité aussi difficiles. La première stratégie, appelée «**high salt-in**» qui consiste à accumuler des concentrations molaires de K^+ et Cl^- , tandis que la deuxième stratégie d'adaptation est appelée «**low salt-in**» et utilise les osmolytes organiques qui sont soit synthétisés à l'intérieur de la cellule ou accumuler à partir du milieu externe (**Verma et al., 2020**).

5.1 Stratégie de « high salt-in »

Cette stratégie est spécifiquement employée par les bactéries halophiles anaérobies de l'ordre *Haloanaerobiales* et les archées halophiles aérobies de l'ordre *Halobacteriales* (**Mukhtar et al., 2020**), où les ions sont transportés à travers la membrane grâce à des pompes à ions. Le processus est connu sous le nom de stratégie «salt-in», qui consiste à accumuler des ions inorganiques à des concentrations élevées dans le cytoplasme, en utilisant des antiporteurs, des pompes, la production d'ATP, le transport vers l'intérieur et d'autres systèmes présents dans la membrane cellulaire. Généralement, le potassium (K^+) est le principal cation intracellulaire plutôt que le sodium (Na^+) tandis que le chlore (Cl^-) est le principal anion. Il est important de souligner que les membranes de tous les micro-organismes halophiles contiennent des antiporteurs Na^+/H^+ très actifs qui en plus de maintenir de faibles concentrations intracellulaires de Na^+ , jouent un rôle essentiel dans la régulation du pH intracellulaire (**Daoud et Ben Ali., 2020**). Le KCl est couramment employé chez les membres de la famille des *Halobacteriaceae* afin de maintenir un équilibre osmotique (**Mukhtar et al., 2020**).

5.2 Stratégie de «low salt-in»

La plupart des bactéries halophiles et halotolérantes ont adopté cette stratégie afin de s'adapter à la pression osmotique externe en maintenant une concentration de sel beaucoup faible que celle du milieu extérieur (Verma *et al.*, 2020). La synthèse de composés organiques de faible poids moléculaire est un processus essentiel résister et s'adapter à des conditions de salinité élevées. Ces composés renferment diverses catégories de molécules, telles que des sucres, des acides aminés, des polyols et leurs dérivés. Ce processus d'adaptation osmotique nécessite une grande quantité d'énergie par rapport à la stratégie du «salt-in» (Mohammadipanah *et al.*, 2015).

6. Applications industrielles des bactéries halophiles

Les bactéries halophiles ont un large éventail d'applications industrielles en raison de leur capacité à prospérer dans des environnements à forte teneur en sel (Oren, 2010).

- **Bio-remédiation** : les bactéries halophiles peuvent dégrader des composés aromatiques et d'autres polluants présents dans les eaux usées industrielles salines, ce qui les rend utiles pour traiter les flux de processus contaminé (Mainka *et al.*, 2021).
- **Production d'enzymes**: les micro-organismes halophiles produisent des enzymes qui présentent des possibilités d'utilisation dans divers domaines industriels tels que la transformation des aliments, la bio-remédiation environnementale, la biosynthèse des aliments fermentés, l'industrie pharmaceutiques, les industries du textiles et du cuir et sont aussi utilisées dans la fabrication d'acides gras polyinsaturés, d'aliments pour animaux, de produits chimiques, de papier et de pâte à papier, de détergents, de préparations de sauce de poisson et de sauce soja, d'eaux usées salines et de traitement des déchets provenant des champs pétrolifères où la lipase, la protéase et l'amylase constituent un excellent choix dans les processus industriels en raison de leur stabilité et de leur polyvalence (Tableau 4) (Boum'handi, 2021).
- **Production de bioplastiques** : certaines bactéries halophiles peuvent produire des polyhydroxyalcanoates (PHA) biodégradables, qui peuvent être utilisés pour fabriquer des bioplastiques. Cela constitue une alternative durable aux plastiques à base de pétrole. Parmi les différentes classes de PHA : le poly-3-hydroxy-butyrate (PHB), le poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) (PHBV), le poly-hydroxy-valérate (PHV) (Dutta et Bandopadhyay, 2022).

- **Production de biocarburants** : les archées et les bactéries halophiles ont été explorées pour leur potentiel à produire des biocarburants comme l'hydrogène et le méthane à partir d'eaux usées salines et d'autres matières premières (**Dutta et Bandopadhyay, 2022**).
- **Récupération des métaux** : Certains halophiles peuvent accumuler et précipiter des métaux lourds, permettant leur valorisation à partir des effluents industriels (**Dutta et Bandopadhyay, 2022**).
- **Applications pharmaceutiques** : les micro-organismes halophiles et leurs biomolécules ont des utilisations potentielles dans l'administration de médicaments, d'agents antimicrobiens et dans le traitement des maladies neurodégénératives (**Dutta et Bandopadhyay, 2022**).

Tableau 4 : Exemples d'enzymes produites par des micro-organismes halophiles (Dutta et Bandopadhyay, 2022).

Enzymes	Bactéries halophiles productrices d'enzymes
Amylase	<i>Haloarcula</i> sp, <i>Bacillus</i> sp.
Protéase	<i>Halococcus agarilyticus</i> , <i>Halobacterium</i> sp, <i>Haloferax mediteranei</i> , <i>Natrial bamagadii</i> , <i>Natronomonas pharaonic</i> , <i>Pseudoalteromonas</i> sp.
Lipase	<i>Haloferax mediterranei</i> , <i>Marinobacter</i> sp, <i>Chromohalobacter canadensis</i> , <i>Streptomyces</i> sp.
Estérase	<i>Hararcula marismortui</i> , <i>Halomonas gudaonensis</i> , <i>Salinicoccus roseus</i>
Uréase	<i>Haloarcula</i> sp, <i>Salicola</i> sp, <i>Idiomarina</i> sp, <i>Halomonas meridiana</i> ,
Xylanase	<i>Halorubrum saccharovororum</i> , <i>Gracilibacillus</i> sp, <i>Flammeovirga pacifica</i> ,
Chitinase	<i>Halobacterium salinarum</i>
ADNase	<i>Bacillus stratosphericus</i> , <i>Pseudomonas halophila</i> , <i>Thalassobacillus devorans</i>

Partie II :
Matériel et méthodes

1. Provenance des bactéries étudiées

Les bactéries halophiles étudiées, au nombre de cinq, ont été fournies par notre encadrante M^{me} MERIANE Ilhem, portant chacune les nomenclatures suivantes : S3, S7, S12, S19 et S20.

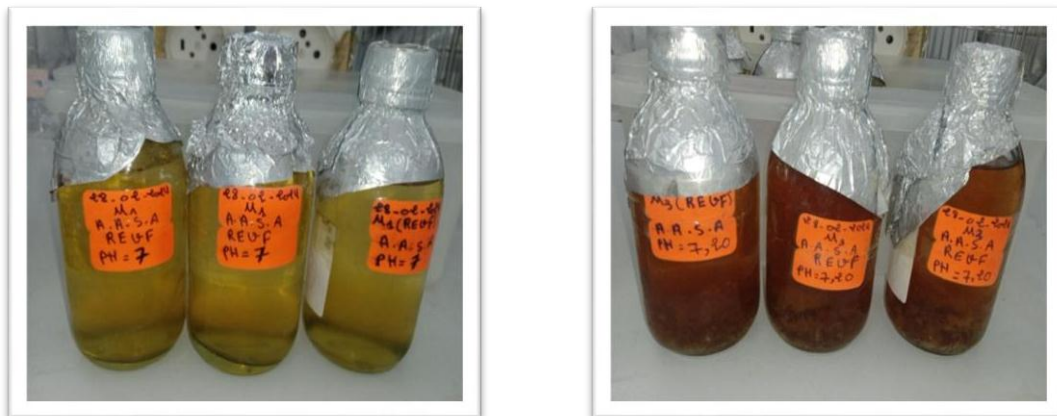
2. Mise en culture des bactéries halophiles

2.1 Revivification des bactéries halophiles

Les tubes Eppendorff contenant les souches bactériennes ont été homogénéisés avec l'agitateur vortex. Le prélèvement a été effectué à l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée à la flamme du bec Bessens et refroidie. L'ensemencement a été réalisé par la méthode des stries serrées sur les milieux M1 pour les souches S12, S19 et S20 et M3 pour les souches S3 et S7 préalablement préparés et autoclavés (**annexe n°2**) (Kumar *et al.*, 2012 ; Schneegurt, 2012 ; Sanogo, 2023) (**figure 2**) et coulés dans des boîtes de Pétri.

Les boîtes ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 3 à 4 semaines (Verma *et al.*, 2020).

Les cultures ont été surveillées régulièrement pour détecter la croissance des colonies des bactéries halophiles et les repiquer.



(A) (B)
Figure 2 : Photographies des milieux de culture utilisés pour la revivification des bactéries halophiles. (A : milieu M1, B : milieu M3)

2.2 Repiquage et purification des bactéries halophiles

Dans des conditions stériles et à l'aide d'une anse de platine, une colonie bien isolée a été prélevée et ensemencée en stries serrées sur une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu de culture : M1 ou M3. Toutes les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures à 7 jours. Après croissance, la pureté des colonies a été vérifiée en étudiant la forme, le contour, l'aspect, la consistance, la surface et la couleur de chaque colonie. Un examen microscopique a été également effectué

3. Étude des caractéristiques physico-chimiques des bactéries halophiles

3.1 Ensemencement à différents températures

Les souches de bactéries halophiles ont étéensemencées sur des boites de Pétri contenant les milieux M1 (pour S12, S19 et S20) et M3 (pour S3 et S7) puis incubées à différentes températures : 4°C, 10°C, 20°C, 37°C, 40°C, 50°C et 60°C.

La lecture a été effectuée après 24 heures, 48h et poursuivie jusqu'au 10^{ème} jour d'incubation. Des témoins négatifs ont été préparés et incubés dans des mêmes conditions.

Un résultat positif indique une croissance bactérienne. Ce résultat positif a été interprété comme suit :

- + : présence de quelques colonies.
- ++ : croissance faible.
- +++ : croissance modérée.
- ++++ : très bonne croissance (envahissement de la boîte).

3.2 Ensemencement à différents pH

Les souches de bactéries halophiles ont étéensemencées sur les milieux M1 et M3 dont le pH a été préalablement ajusté à différentes valeurs. Ces milieux ont été de deux types : liquides (pH 5 et pH 6) et solides (pH 7, pH 8, pH 9 et pH 10) (**figure 3**).

Des témoins négatifs ont été préparés et incubés dans des mêmes conditions.

La lecture a été réalisée après 24 heures, 48h, 72h et poursuivie jusqu'au 10ème jour d'incubation à 37°C.

Une croissance bactérienne indique un résultat positif et qui se traduit par la présence de colonies sur un milieu solide et de turbidité sur un milieu liquide.

Le résultat positif a été interprété comme suit :

- Pour les milieux solides :

- + : présence de quelques colonies.
- ++ : croissance faible.
- +++ : croissance modérée.
- ++++ : très bonne croissance (envahissement de la boîte).

- Pour les milieux liquides :

- + : croissance (turbidité).



Figure 3 : Photographies de tubes contenant les milieux de culture liquides utilisés pour l'étude du pH (A : milieu M1 et M3 (pH 5) B : milieu M1 et M3 (pH 6))

3.3 Ensemencement à différentes concentrations de NaCl

À l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée et refroidie, une colonie a été prélevée et ensemencée sur les milieux M1 et M3 préalablement préparés à différentes concentrations en NaCl : 0%, 0,5%, 3%, 5%, 10%, 15%, 20% et 25% . Ensuite, toutes les boîtes ont été incubées à 37°C.

L'examen s'est effectuée après 24 heures et poursuivie jusqu'au 10^{ème} jour d'incubation. Des témoins négatifs ont été préparés et incubés dans des mêmes conditions.

Un résultat positif se traduit par un développement bactérien (présence de colonies).

Ce résultat positif a été interprété comme suit :

- + : présence de quelques colonies.
- ++ : croissance faible.
- +++ : croissance modérée.
- ++++ : très bonne croissance (envahissement de la boîte)

4. Étude de caractères enzymatiques des bactéries halophiles: recherche de la L-arginase et la L-méthionase

Les tests enzymatiques sont des tests visant à démontrer la production d'une enzyme Particulière par une bactérie donnée (**Sanogo, 2023**).

L'étude des enzymes L-arginase et L-méthionase a été réalisée en utilisant un milieu de base additionné de 1% de substrat: la L-arginine et la L-méthionine respectivement (**figure 4**), dont la composition est mentionnée en annexe n°3. Le rouge de phénol, un indicateur coloré

de pH a été utilisé dans les deux milieux pour la détection de la production de ces enzymes. Ensuite, les différents milieux ont étéensemencés avec une strie longitudinale de la bactérie halophile pure puis incubés à une température de 37 °C.

Des témoins négatifs ont été préparés et incubés dans des mêmes conditions.

La lecture s'est réalisée après 24h et poursuivie jusqu'au 10ème jours d'incubation.

Un résultat positif traduit par un virage de couleur d'orange vers le violet, où :

(+) : couleur observée au niveau de strie.

(++) : couleur observée au-delà de la strie.

(+++): un virage total de la couleur au niveau de toute la boîte de Pétri.

En fait, en cas de l'hydrolyse de l'arginine par l'arginase, l'urée et l'ornithine se forment.

Ensuite, la dégradation de l'urée et la libération de l'ammonique alcalinise fortement le milieu par un virage de couleur au rose fuchsia ou violet. En cas de l'hydrolyse de la L-méthionine par la L-méthioninase, la kétobutyrate, méthanéthiol et l'ammoniaque se forment. Ce dernier est le responsable de l'alcalinisation du milieu et puis après le virage de la couleur du milieu de culture de l'orange au violet (**Korram et Bansal, 2021 ; Mohamed *et al.*, 2022**).

Dans le cas d'absence du virage, le résultat est considéré comme négatif.



Figure 4 : photographie des milieux de culture utilisés dans les tests enzymatiques de bactéries halophiles. A : milieux M1 additionnés des deux substrats (L-arginine et L-méthionine), B : milieux M3 additionnés de deux substrats (L-arginine et L-méthionine).

Partie III :
Résultats et
discussion

1. Revivification des bactéries halophiles

Les colonies ont pris entre 24 heures et 10 jours pour croître sur les milieux M1 et M3, qui contiennent les besoins nutritionnels nécessaires à la croissance de ces bactéries halophiles.

2. Repiquage et purification des bactéries halophiles

Après 24h à 48h d'incubation, les colonies se sont bien développées et ont été soumises à une vérification de pureté par observation macroscopique et microscopique, puis comparées à une étude précédemment réalisée (Sanogo, 2023).

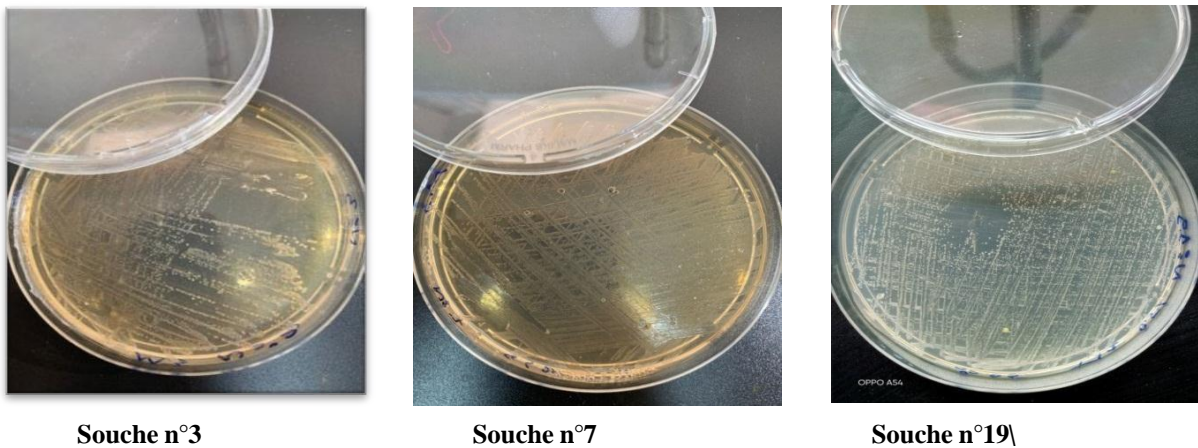


Figure 5: Photographies des colonies des souches 3,7 et 19 après repiquage.

3. Étude des caractéristiques physico-chimiques des bactéries halophiles

3.1. Étude de l'effet de différents caractères physico-chimiques sur la croissance de la totalité des bactéries halophiles

3.1.1. Effet de la température sur la croissance des bactéries halophiles

Les résultats de la croissance des cinq bactéries halophiles étudiées à différentes températures sont mentionnés dans le tableau 5 et la figure 6.

D'après ces résultats, on remarque que toutes les souches bactériennes ont pu croître à une température de 37°C et 40°C (100%). Aux températures de 4°C, 10°C et 20°C, une seule souche ont a été développée (20%). En revanche, aux températures de 50 °C et 60 °C, aucune croissance n'a été observée.

Tableau 5 : Effet de la température sur la croissance des bactéries halophiles après des 10 jours d'incubation.

Température (°C)	Souches					Pourcentage positif (%)	Pourcentage négatif (%)
	S3	S7	S12	S19	S20		
4	-	-	-	-	+	20	80
10	-	-	-	-	+	20	80
20	-	-	-	-	+	20	80
37	+	+	+	+	+	100	0
40	+	+	+	+	+	100	0
50	-	-	-	-	-	0	100
60	-	-	-	-	-	0	100

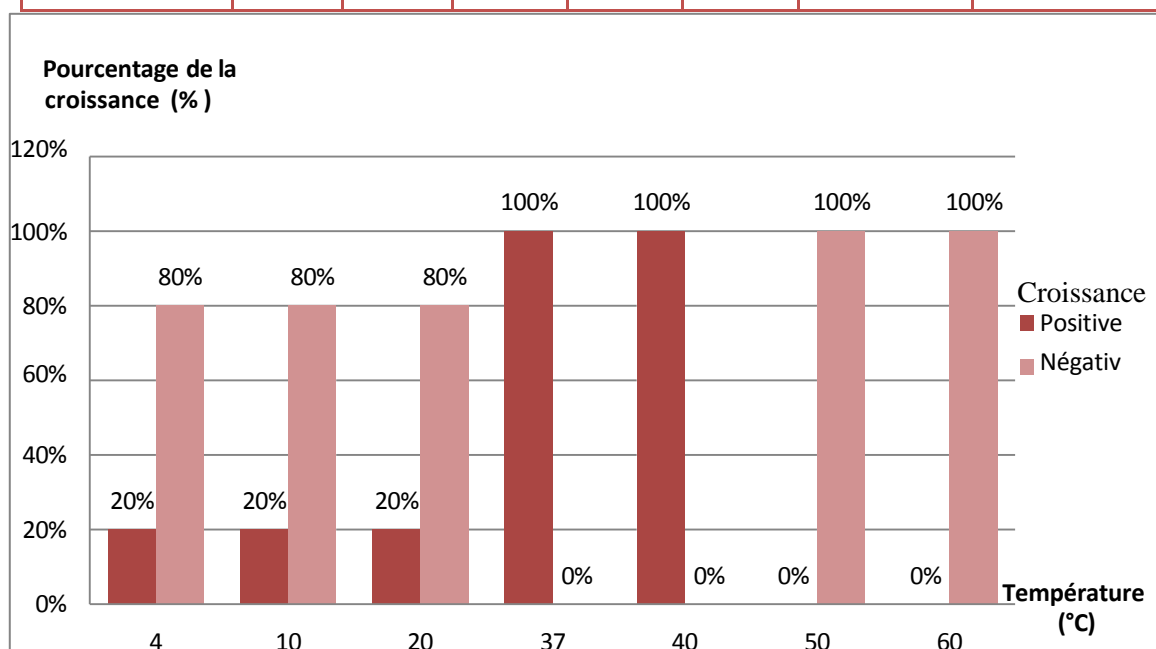


Figure 6 : Histogramme représentant le résultat de l'effet de la température sur la croissance des bactéries halophiles.

D'après ces résultats, on remarque que toutes les souches bactériennes ont pu croître à une température de 37°C et 40°C (100%). Aux températures de 4°C, 10°C et 20°C, une seule souche ont a été développée (20%). En revanche, aux températures de 50 °C et 60 °C, aucune croissance n'a été observée.

3.1.2 Effet du pH sur la croissance des bactéries halophiles

Les résultats de la croissance des cinq bactéries halophiles étudiées à différents pH sont mentionnés dans le tableau 6 et la figure 7

Tableau 6 : Effet du paramètre pH sur la croissance des bactéries halophiles après 10 jours d'incubation.

pH	Souches					Pourcentage positif (%)	Pourcentage négatif (%)
	S3	S7	S12	S19	S20		
5	+	+	-	-	-	40	60
6	+	+	+	-	-	60	40
7	+	+	+	+	+	100	0
8	+	+	+	+	+	100	0
9	+	+	+	+	+	100	0
10	+	+	+	+	+	100	0

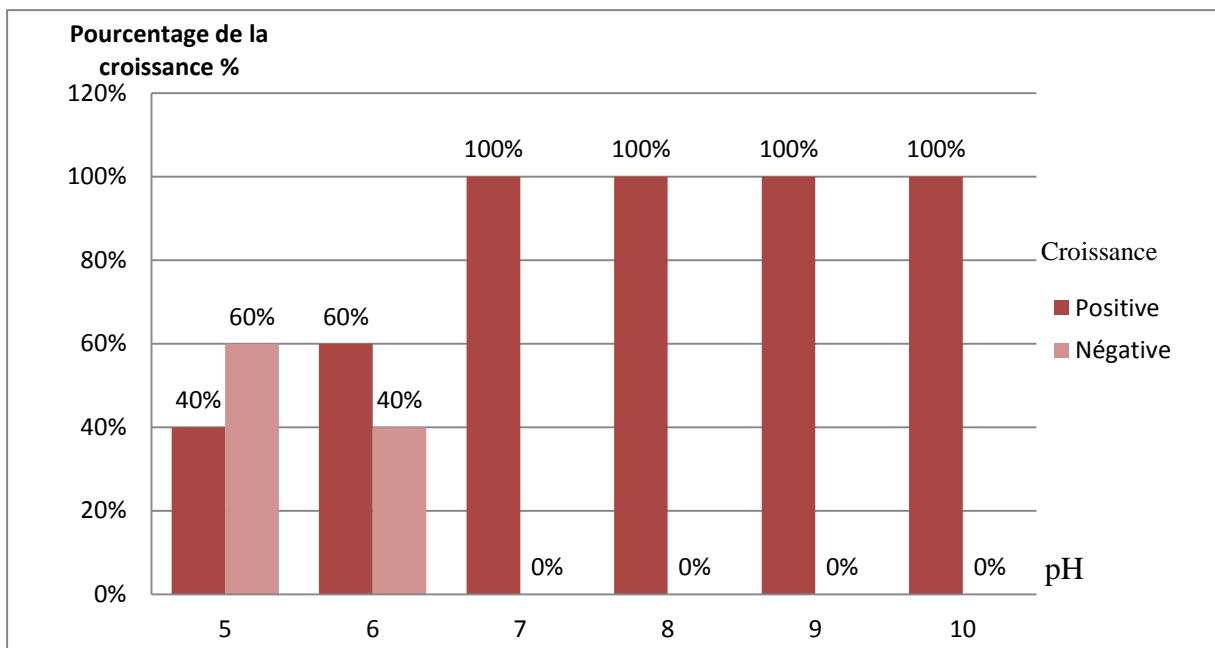


Figure 7 : Histogramme représentant le résultat de l'effet du pH sur la croissance des bactéries halophiles

Ces résultats montrent que toutes les souches ont pu croître aux pH de 7, 8,9 et 10 (100%). Aux pH acides, 60% des souches ont pu se développer à pH 6 et seulement 40% ont montré une croissance à pH 5.

3.1.3. Effet du sel sur la croissance des bactéries halophiles

Le résultat de la croissance des cinq bactéries halophiles étudiées à différentes concentrations de NaCl sont présentés dans le tableau 7 et la figure 8.

Tableau 7 : Effet du sel sur la croissance des bactéries halophiles après 10 jours d'incubation.

NaCl (%)	Souches					Pourcentage Positive (%)	Pourcentage Négative (%)
	S3	S7	S12	S19	S20		
0	+	-	-	+	-	40	60
0,5	+	+	-	+	-	60	40
3	+	+	-	+	-	60	40
5	+	+	-	+	+	80	20
10	+	+	+	+	+	100	0
15	+	+	+	+	+	100	0
20	+	+	+	-	+	80	20
25	-	-	+	-	+	40	80

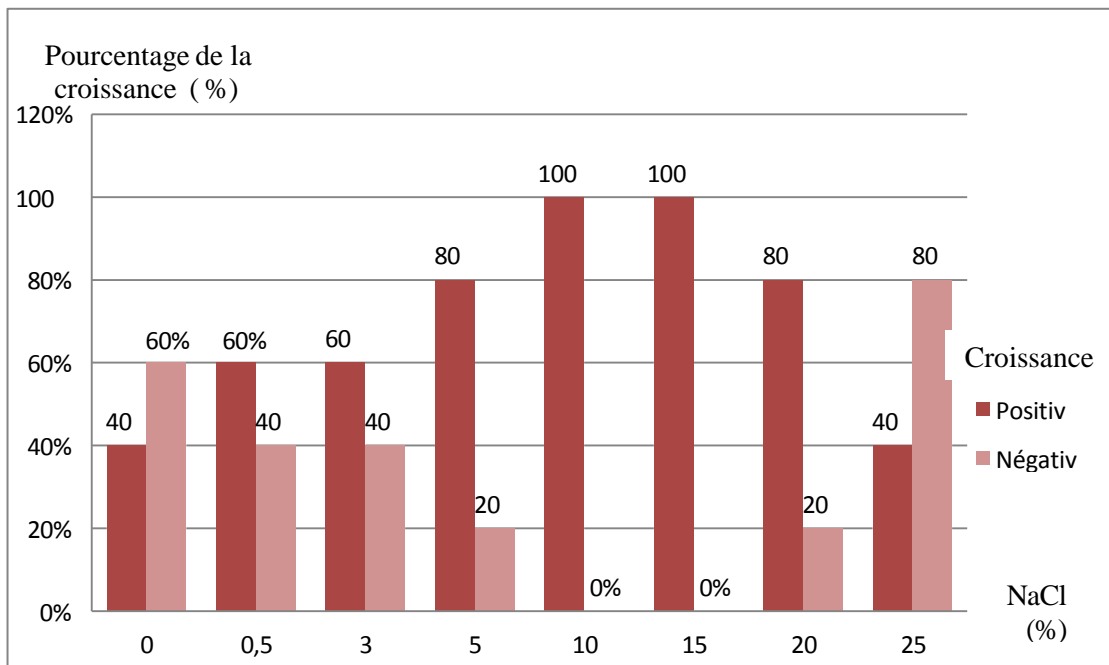


Figure 8 : Histogramme représentant de l'effet du sel (NaCl) sur la croissance des bactéries halophiles

D'après ces résultats on remarque que toutes les souches ont pu croître à une concentration de 10% et 15% de NaCl (100%); leur majorité ont démontré une croissance à 5 et 20% de NaCl (80%). 60% des souches ont pu se développer aux concentrations 0.5% et 3% de NaCl. Un faible pourcentage de croissance a été observé à 0% et 25% de NaCl.

3.2 Étude de l'effet des paramètres physico-chimiques sur la croissance de chaque souche.

3.2.1 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°3.

Le tableau n° 8 et la figure 9 indiquent les résultats de la croissance de la souche n°3 incubées à différentes températures, différent pH et différentes concentration de NaCl pendant 10 jours.

Tableau 8 : Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°3 après 10 jours.

Souche n°3										
	Période d'incubation									
	24h	48h	72h	4 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	6 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	8 ^{ème} jour	9 ^{ème} jour	10 ^{ème} jour
Température (°C)										
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
40	-	-	+	++	++	+++	++++	++++	++++	++++
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH										
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
7	+	+	++	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++
8	-	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++
9	-	+	+++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++
10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
NaCl (%)										
0	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0,5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3	-	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
5	-	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
10	-	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
15	-	-	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
20	-	-	-	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Concernant la température, la souche n°3 ne s'est développée qu'aux températures 37°C (après 24h) et 40°C (après 72 h) donc sa température optimale de croissance se situe 37°C et 40°C, ce qui nous permet de classer la bactérie comme **mésophile**.

Concernant le pH, la croissance a été faible et très lente dans les milieux acides (5 et 6). Elle a été bonne à excellent dans le milieu neutre (7) et les milieux alcalins (8 et 9). Ce qui nous permet de classer la souche comme **neutrophile et alcaliphile**.

Concernant le NaCl, la croissance de la souche a été observée dans le milieu préparé avec 0%, 0.5%, 3%, 5%, 10%, 15% et 20% de NaCl. Elle a été excellente à 0% et 0.5% de NaCl dès 24h d'incubation et bonne à 3% et jusqu'au 20% NaCl, après 48h à 4^{ème} jour d'incubation ce qui nous permet de classer la souche comme **halotolérante, légèrement halophile et modérément halophile**.

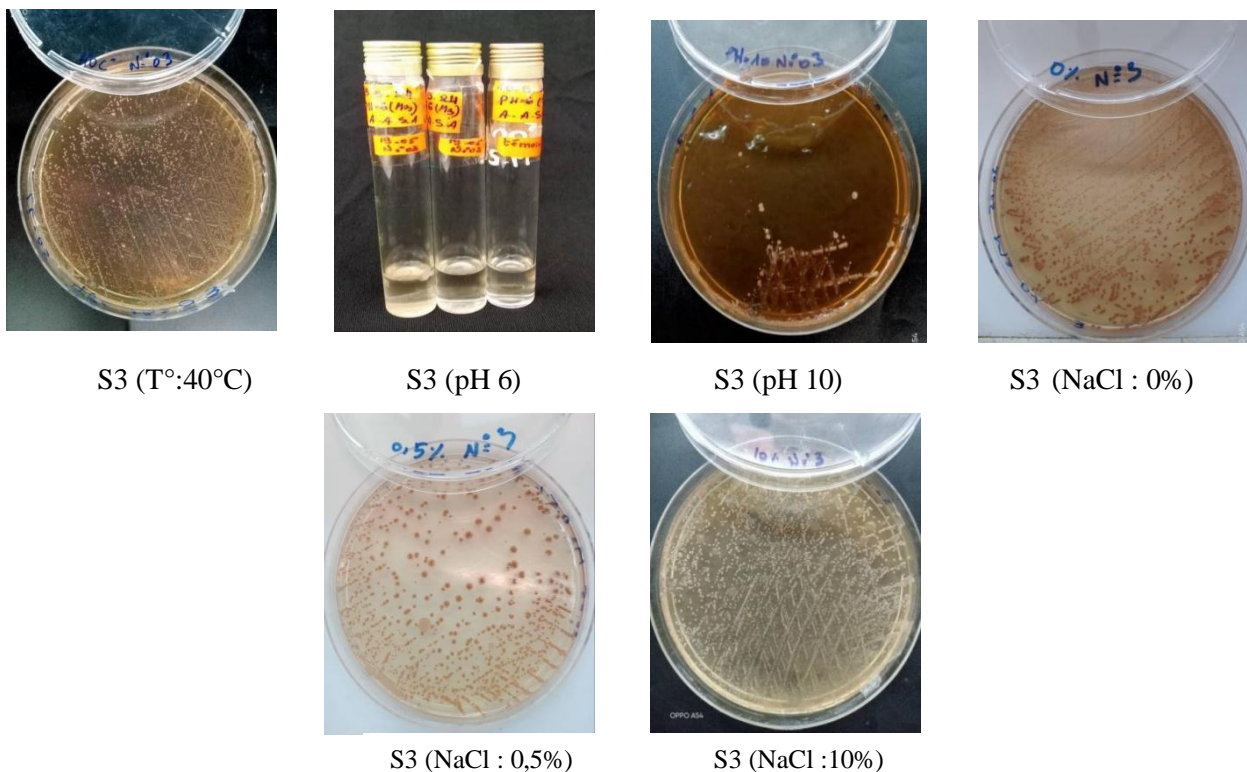


Figure 9 : Photographie représentant les résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°3 après 10 jours d'incubation.

3.2.2 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°7.

Le tableau n° 9 et la figure 10 indiquent les résultats de la croissance de la souche n°7 incubées à différentes températures, différents pH et différentes concentrations de NaCl pendant 10 jours.

Tableau 9 : Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°7 après 10 jours.

Souche n°7										
	Période d'incubation									
	24h	48h	72h	4 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	6 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	8 ^{ème} jour	9 ^{ème} jour	10 ^{ème} jour
Température (°C)										
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
40	-	-	+	+	+	+	+++	++++	++++	++++
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH										
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
8	-	-	+	++	++	+++	++++	++++	++++	++++
9	-	-	++	++	++	++	++	+++	+++	+++
10	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++
NaCl (%)										
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
5	-	-	+	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
10	-	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
15	-	-	-	-	++	+++	+++	+++	++++	++++
20	-	-	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Concernant la température, la souche n°7 ne s'est développée qu'aux températures à 37°C (après 24h) et 40°C (après 72 heures d'incubation) donc sa température optimale de croissance se situe entre 37°C à 40°C et elle considérée comme **mésophile**.

Concernant le pH, la souche n°7 a pu se développer à tous les pH testés, la croissance a été bonne et révélée dès 24h pour les pH(5 et 7), bonne après 48h pour le pH (6) et faible à

modérée après 72h pour les pH(8 et 9) ; d'où elle est considérée comme **acidophile, neutrophile et alcalitolérante**.

Concernent le NaCl, la croissance de la souche n°7 a été bonne à excellente dans des concentrations de 3%,5%,10%,15% et 20% de NaCl. La croissance a été absente à 0%,0.5% et 25% de NaCl. Ce qui nous permet de classer la souche comme **légèrement et modérément halophile**.

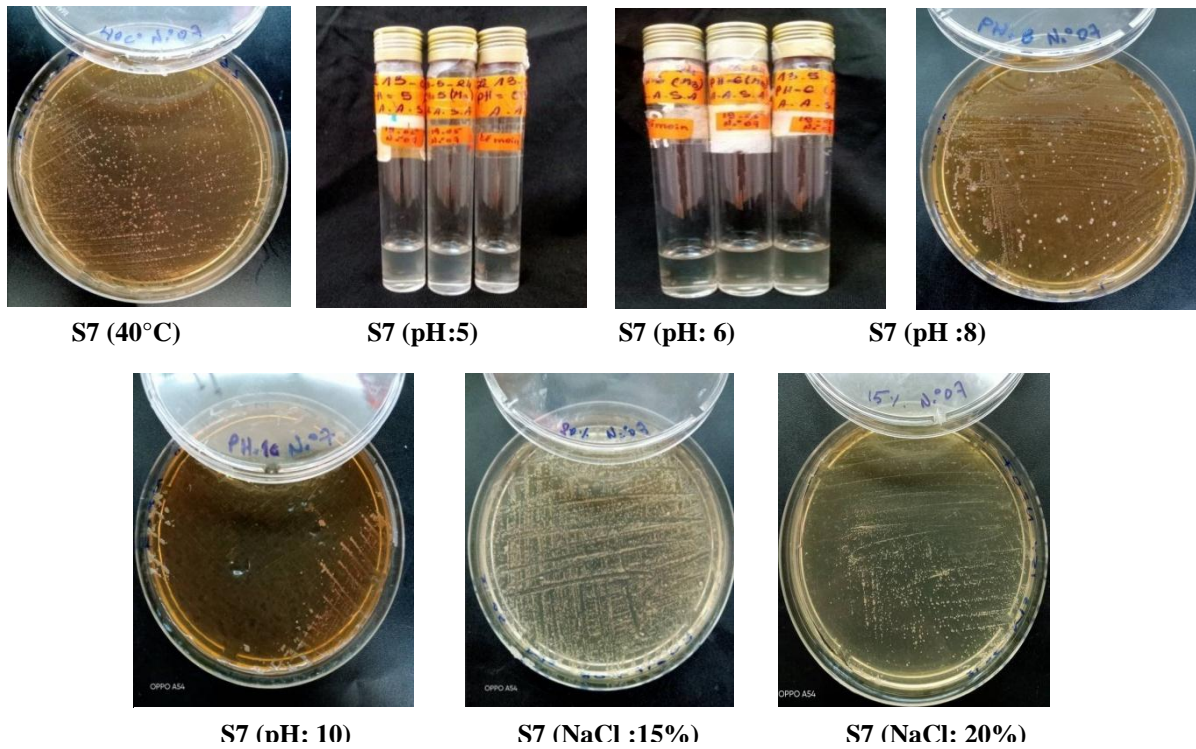


Figure 10 : Photographie représentant les résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°7 après des 10 jours d'incubation.

3.2.3 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°12.

Le tableau n°10 et la figure 11 indiquent les résultats de la croissance de la souche n° 12 incubées à différentes températures, différents pH et différentes concentrations de NaCl pendant 10 jours.

Tableau 10 : Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°12 après 10 jours.

Souche n°12										
	Période d'incubation									
	24h	48h	72h	4 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	6 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	8 ^{ème} jour	9 ^{ème} jour	10 ^{ème} jour
Température (°C)										
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
40	-	-	-	-	-	+	+	+	+	++
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH										
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
7	+	++	++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
8	-	-	-	+	++	+++	++++	++++	++++	++++
9	-	-	-	++	++	+++	++++	++++	++++	++++
10	-	-	-	+	+	++	++	+++	+++	+++
NaCl (%)										
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
20	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Concernant la température, la souche n°12 ne s'est développée qu'aux températures 37°C (après 24h) et 40°C (après le 6^{ème} jour d'incubation) donc sa température optimale de croissance se situe entre 37°C à 40°C, ce qui nous permet de classer la souche comme **mésophile**.

Concernant le pH, la croissance de la souche a été absente à pH 5 et très faible à pH 6. L'optimum de la croissance a été constaté dans l'intervalle de pH de 7 à 10, d'où la souche est considérée comme **neutrophile et alcaliphile**.

Concernant le NaCl, la souche n'a pas pu se développer aux concentrations de 0%,0.5%,3% et 5% de NaCl. Sa croissance a été constatée dans l'intervalle de 10 à 25% de NaCl d'où la souche est considérée comme **halophile modérée à extrême**.

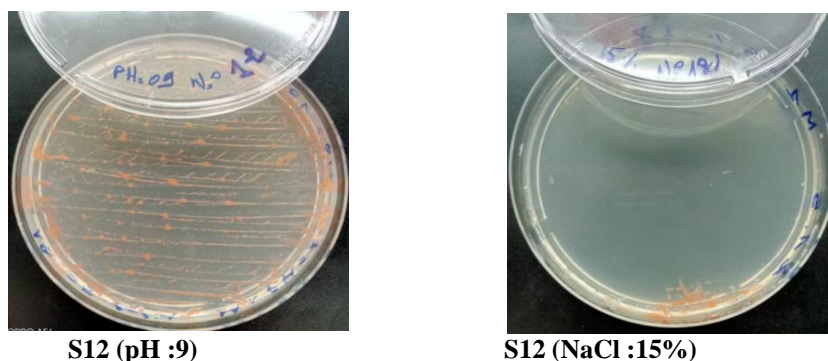


Figure 11 : Photographie représentant les résultats de l'effet d'un pH 9 et d'une concentration de 15% de NaCl sur la croissance de la souche n°12 après 10 jours d'incubation.

3.2.4 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°19.

Le tableau n°11 et la figure 12 indiquent les résultats de la croissance de la souche n°19 incubées à différentes températures, différents pH et différentes concentrations de NaCl pendant 10 jours.

Tableau 11 : Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°19 après 10 jours.

Souche n°19										
	période d'incubation									
	24h	48h	72h	4 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	6 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	8 ^{ème} jour	9 ^{ème} jour	10 ^{ème} jour
Température (°C)										
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
40	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH										
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	++++	++++
8	-	-	-	-	-	-	+	++	++	++

9	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++
10	-	+	+	++	++	++	++++	++++	++++	++++
NaCl (%)										
0	+	+	++	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++
0,5	+	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
10	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
15	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Concernant la température, la souche n° 19 ne s'est développée qu'aux températures 37°C (après 24h) et 40°C (après le 4^{ème} jour d'incubation) donc sa température optimale de croissance se situe entre 37°C à 40°C et elle est considérée comme **mésophile**.

Concernant le pH, la souche n°19 n'a montré aucune croissance aux pH acides (5 et 6). Sa croissance a été excellente aux pH de 7 et 10 et faible a montrée aux pH de 8 et 9 d'où elle est considérée comme **neutrophile et alcaliphile**.

Concernant le NaCl, la croissance de la souche n°19 a été extrêmement rapide (24h) et excellente dans des concentrations comprises entre 0% et 15% de NaCl d'où elle est considérée comme **halotolérante, halophile légère**.

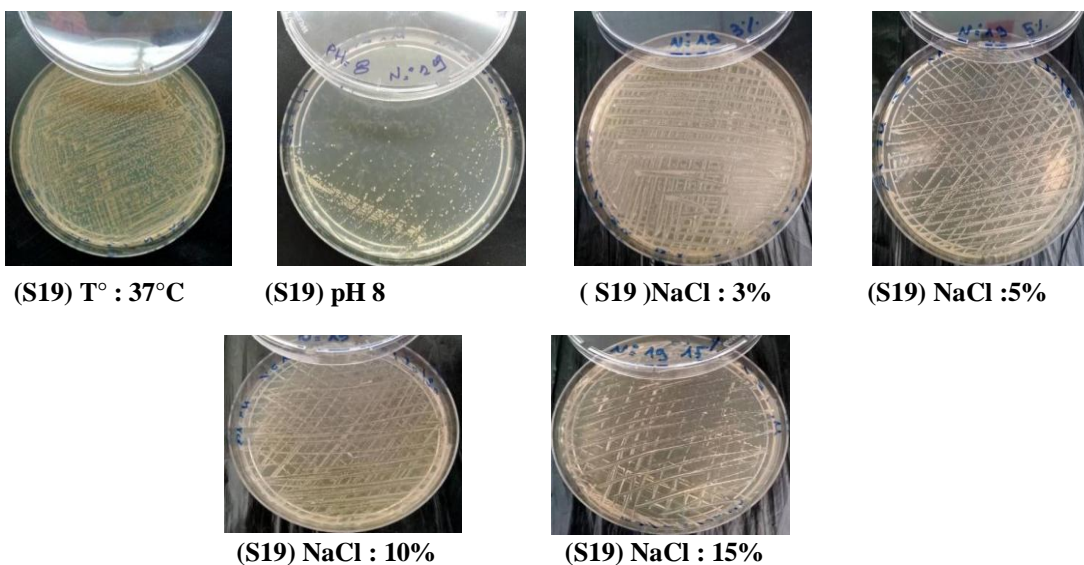


Figure 12 : Photographie représentant les résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°19 après 10 jours d'incubation.

3.2.5 Effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°20.

Le tableau n°12 et la figure n°13 indiquent les résultats de la croissance de la souche n°20 incubée à différentes températures, différents pH et différentes concentrations de NaCl pendant 10 jours.

Tableau 12 : Résultats de l'effet de la température, du pH et de NaCl sur la croissance de la souche n°20 après 10 jours.

Souche n°20										
	Période d'incubation									
	24h	48h	72h	4 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	6 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	8 ^{ème} jour	9 ^{ème} jour	10 ^{ème} jour
Température (°C)										
4	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
20	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
37	+	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
40	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH										
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	++	++	++	++	+++	+++
8	+	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
9	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
10	+	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
NaCl (%)										
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	+	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
10	-	-	+	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
15	-	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
20	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Concernant la température, la souche n°20 a montré une croissance lente et faible dans l'intervalle de 4°C à 20°C. Sa croissance a été rapide (24h) et excellente à 37°C et 40°C. Au-delà de 40°C, aucune croissance n'a été décelée d'où la souche est considérée comme psychrotolérante et mésophile.

Concernant le pH, la croissance a été bonne à excellente dans l'intervalle de pH de 7 à 10 d'où elle est considérée comme **neutrophile et alcaliphile**.

Concernant le NaCl, la souche a montré une croissance bonne à excellent dans le milieu préparé avec 5 à 15 % de NaCl, elle a été très faible à une concentration de 20% de NaCl et totalement absente à 0%, 0,5%, 3% et 25% d'où elle est considérée comme **halophile légère et modéré**.

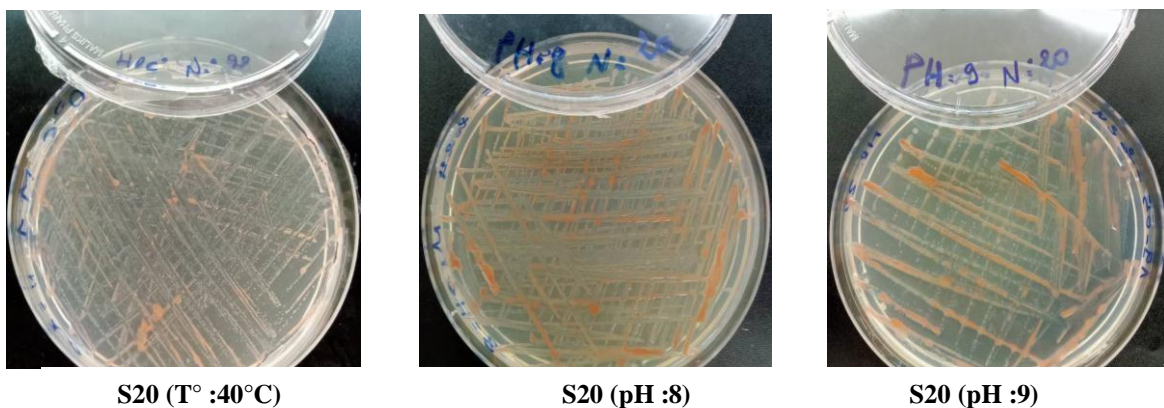


Figure 1 3 : Photographie représentant le résultats de l'effet de la température 40 et du pH 8 et 9 sur la croissance de la souche n°19 après 10 jours d'incubation

Plusieurs chercheurs ont rapporté l'aptitude des bactéries halophiles à croître dans certaines conditions physicochimiques (Javid *et al.*, 2020 ; Reang *et al.*, 2022).

Dans leur étude réalisée sur 15 souches isolées à partir des régions côtières du Saurashtra Gujart en Inde, Reang *et al.* (2022) ont testé leur capacité à se développer dans un intervalle de températures allant de 2°C jusqu'au 45°C. Cette recherche a démontré que la totalité des souches ont pu se développer aux températures 6°C et 35°C (100%), leur majorité ont été capables de croître à des températures de 18°C, 25°C et 45°C (93%). Aux températures 8°C, 4°C et 2°C le taux de la croissance a diminué progressivement pour atteindre 53% à la température 2°C.

Concernant le pH, la croissance a été excellente à pH 6 (100%) considéré comme pH optimal alors que la majorité des souches (73%) a été capable de croître à pH 8. À pH 2,4 et 10 53% des souches.

Concernent le NaCl testés, les souches ont pu tolérer les concentration suivants : 5%,

10%,15%,20% et 25%, où aux concentrations de NaCl 5%,10%,15% et 20% tous les souches (100%) ont pu développer, par contre à 25% ont montré que 66% pu développer.

Dans une autre étude effectuée sur 19 bactéries halophiles isolées à partir des sédiments marins forestiers salins en Iran, **Javid et al. (2020)** ont testé l'aptitude de ces souches à se développer à des concentrations de chlorure de sodium (NaCl) allant de 0% jusqu'à 30%. Cette recherche a démontré que la totalité des souches ont pu se développer sans présence de NaCl (100%), leur majorité ont été capables de croître à des concentrations de 5% et de 10% de NaCl (95%). À des fortes concentrations en NaCl la croissance de ces souches a diminué remarquablement pour atteindre 42% à 15% de NaCl, 21% à 20% de NaCl et finalement 5% à une concentration comprise entre 25% et 30% de NaCl.

4. Étude de caractères enzymatiques des bactéries halophiles

Les résultats de la production des enzymes : L-méthionase et L-arginase sont présentés dans la figure 13 et le tableau 13.

Tableau 13 : Résultat de la production de la L-méthionine et L-arginase après 10 jours d'incubation.

Enzyme	Souches					Pourcentage Positif (%)	Pourcentage Négatif (%)
	S3	S7	S12	S19	S20		
L-méthionase	+	+	-	-	-	40	60
L-arginase	+	+	-	-	+	60	40

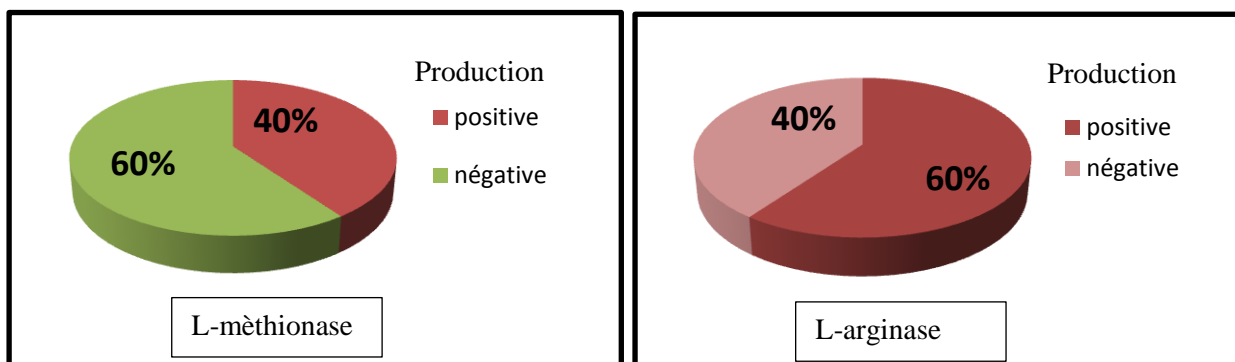


Figure 14: production de la L-méthionase et L-arginase par les bactéries halophiles

D'après la figure n°13, on remarque que 60% des souches ont pu dégrader la L-arginine et donc produire la L-arginase, 40% des souches ont pu dégrader la L-méthionine et donc produire la L-méthionase.

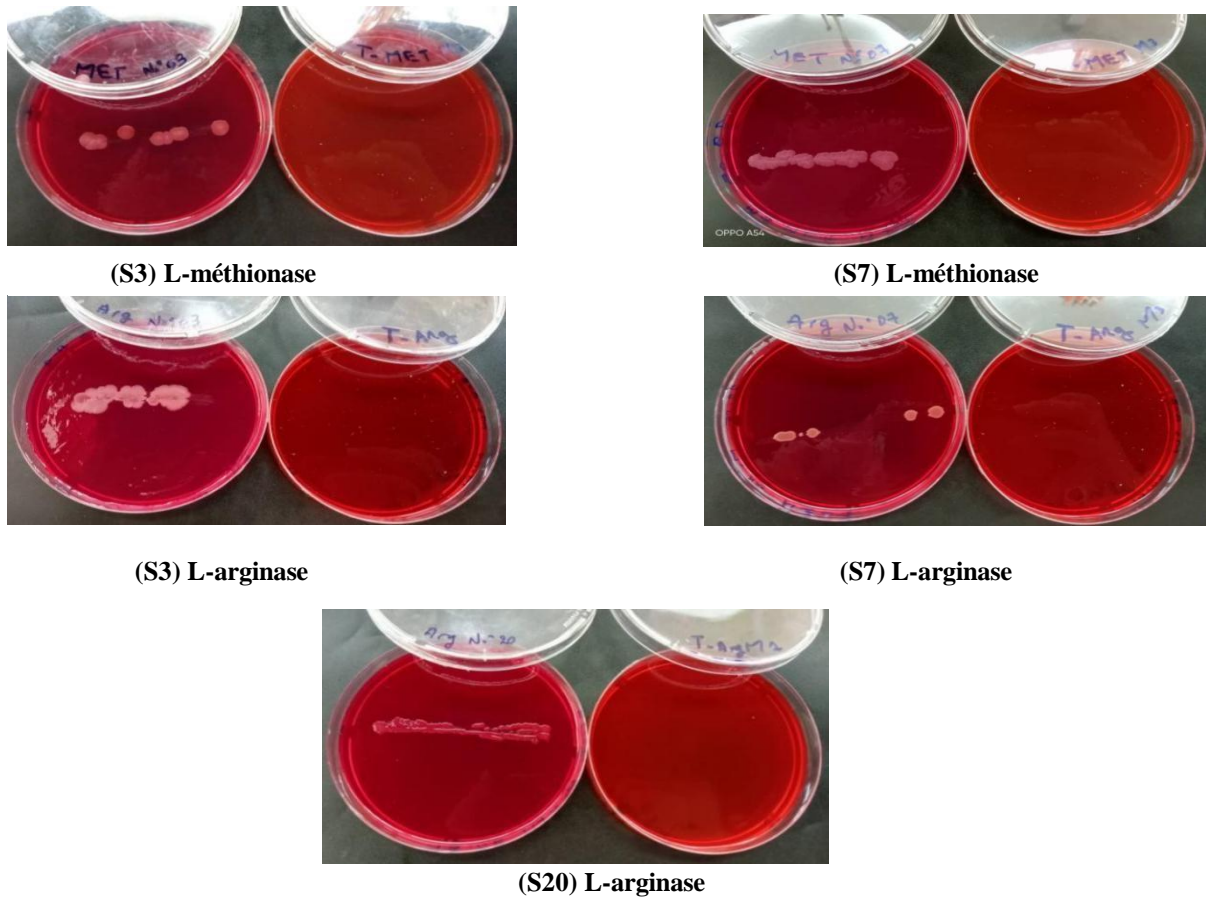


Figure 15 : Photographies représentant la production de L-méthionase et la L-arginase par les Souches S3, S7 et S20

Nombreux sont les chercheurs qui ont rapporté l'aptitude de bactéries halophiles à métaboliser plusieurs et différents composés tels les sucres, les lipides, les protéines et les acides aminés par production de divers enzymes d'importance industrielle comme l'amylase, la protéase, la lipase et glutaminase...etc. (Gupta *et al.*, 2016 ; Vigneshwari *et al.*, 2021 ; Ghosh *et al.*,2023).

Ces bactéries ont été isolées à partir de différents habitats salins tel le sol (Irshad *et al.*, 2014), les lacs (Drissi Kaitouni *et al.*, 2020), les sebkhas (Hedi *et al.*, 2014),l'environnement marin (Mohamedin *et al.*,2018 ;Vigneshwari *et al.*, 2021).

La diversité métabolique de ces bactéries est due certainement à leur génome qui contient divers facteurs de transcription qui contrôle l'expression des gènes qui leur permettent de répondre à leurs besoins (Yu *et al.*, 2024) .

La L-arginase et L-méthionase sont deux enzymes importantes en industrie alimentaire où

Elles sont très utilisées dans la production d'arôme plus particulièrement dans l'industrie laitière : la fabrication des fromages tels que le Limberger, le camembert, le fromage bleu, le cheddar, le livarot et le munster. Le méthanthiol, l'un des produits de dégradation de la L-méthionine par action de la L-méthionase peut réagir avec l'acyl-coenzymet (Acyt-CoA) et former plusieurs métabolites sulfureux comme le diméthylsulfide(DMDS) ; le diméthyltrisulfide(DMTS) et les S- méthylthioesters utilisées comme agents aromatiques (Mohamed *et al.*, 2022).

Vigneshwari *et al.* (2021), ont rapporté la production de la L-arginase à partir des genres *Marinobacter* et *idiomarina*. Yu *et al.* (2024), ont mentionné la production de la L. methionase à partir de la bactérie halophile *Halomonas elongata*.

**Conclusion
et
Perspectives**

La capacité des bactéries halophiles à se développer dans les habitats salins et hypersalins, est une propriété captivante qui fait d'eux l'objet d'intenses recherches. En fait, elles montrent une extraordinaire capacité d'adaptation aux conditions physicochimiques extrêmes régnant dans ces environnements en utilisant des mécanismes adaptatifs aux situations de stress. L'objectif de notre travail a été d'étudier l'effet de trois paramètres physico-chimiques (température, pH et NaCl) sur la croissance de quelques bactéries halophiles, ainsi que tester leur aptitude à synthétiser deux enzymes : la L-arginase et la L-méthioninase.

Les résultats rapportés dans la présente étude, ont montré que :

- Toutes les souches bactériennes ont pu croître à une température de 37°C et 40°C (100%). Aux températures de 4°C, 10°C et 20°C, une seule souche ont a été développée (20%). En revanche, aux températures de 50 °C et 60 °C, aucune croissance n'a été observée.
- Toutes les souches ont pu croître aux pH de 7, 8, 9 et 10 (100%). Aux pH acides, 60% des souches ont pu se développer à pH 6 et seulement 40% ont montré une croissance à pH 5.
- Toutes les souches ont pu croître à une concentration de 10% et 15% de NaCl (100%), et leur majorité a démontré une croissance à 5 et 20% de NaCl (80%). 60% des souches ont pu se développer aux concentrations 0.5% et 3% de NaCl. Un faible pourcentage de croissance a été observé à 0% et 25% de NaCl.
- 60% des souches ont pu dégrader la L-arginine et donc produire la L-arginase, 40% des souches ont pu dégrader la L-méthionine et donc produire la L-méthionase.

En perspective de cette étude, il est recommandé d'étudier la production des deux enzymes : la L-méthionase et la L-arginase par fermentation et puis procéder à leur purification et caractérisation en raison de leur potentiel d'application dans diverses industries.

Références bibliographiques

- Aissaoui, N. (2013).** Étude de molécule d'antibiotiques par une bactérie extrémophile issue d'une sebkha Algérienne d'EL Goléa. Mémoire de Magister: Microbiologie appliquée. Tlemcen : Universitaire de Tlemcen, 150 p
- Akmoussi-Toumi, S. (2020).** Isolement et caractérisation de microorganismes halophiles à partir d'écosystèmes aquatiques salins et recherche de lipase d'intérêt environnemental et industriel. Thèse de doctorat. Université M'hamad Bougara : Faculté des Sciences
- Akpolat, C., Fernández, A. B., Caglayan, P., Calli, B., Birbir, M. and Ventosa, A. (2021).** Prokaryotic communities in the thalassohaline Tuz Lake, deep zone, and Kayacik, Kaldirim and Yavsan Salterns (Turkey) assessed by 16srRNA amplicon sequencing. *Microorganisms*, 9(7), 1525. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071525>
- Boum'handi, N. (2021).** Halophilic bacteria : diversity and biotechnological applications. *Revue de l'entrepreneuriat et de l'innovation*, 3(10), p: 1-23
- Damiano, J.P. (2022).** Les extrémophiles: mécanismes de biodiversité et applications biotechnologiques extremophiles: biodiversity mechanisms and biotechnological applications. *IESF-Côte d'Azur*, n°3, p : 7-2
- Daoud, L., Ben Ali, M. (2020).** Halophilic microorganisms: interesting group of extremophiles with important application in biotechnology and environment, In: Physiological and biotechnological aspects of extremophiles. *Elsevier*, p:51-64. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818322-9.00005-8>
- DasSarma, Set DasSarma, P. (2017).** Halophiles. *Elsevier*, p:1-13. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000394.pub4>
- De la Haba, R.R., Snáchez-Porro, C., Marquez, M.C. and Ventosa, A. (2011).** Taxonomy of halophiles. In: Extremophiles handbook. *Springer*, p: 255-308. https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1_3.1 .
- Drissi Kaitouni, L. B., Anissi, J., Sendide, K. and El Hassouni, M. (2020).** Diversity of hydrolase-producing halophilic bacteria and evaluation of their enzymatic activities in submerged cultures. *Annals of microbiology*, 70, p: 1-15. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01570-z>
- Dumorné, K. (2018).** Biotechnological and industrial applications of enzymes produced by extremophilic bacteria. A Mini review. *Preprints*, P:1-17. <https://doi.org/10.20944/preprints201801.0198.v1> .
- Dutta, B et Bandopadhyay, R. (2022).** Biotechnological potentials of halophilic microorganisms and their impact on mankind. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1),

75. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00252-W>

Garrity, G.M., Bell, J.A. and Lilburn, T. (2005). Phylum XIV. Proteobacteria phyla.nov. class III. Gammaproteobacteria class. nov. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer. New York. p: 1-1.

Ghosh, T. (2023). Different types of enzyme production ability by halophilic bacteria isolated bay of bengal water. *European Chemical Bulletin*, 12(1), p: 2855- 2858.

Gocheva, Y., Angelova, M., Krumova, E. (2021). Potential of halotolerant and halophilic fungi as a source of new extracellular enzymes and antimicrobial compounds. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 37 (2), p: 57-68.

Grégoire, P., Fardeau, M.L., Guasco, S., Bouanane, A., Michotey, V., Bonin, P., Dubourg, K., Cambar, J and Ollivier, B. (2009). Les micro-organismes de l'extrême. *La Presse thermale et climatique*, 146, p : 49-61.

Gupta, S., Sharma, P., Dev, K., & Sourirajan, A. (2016). Halophilic bacteria of Lunsu produce an array of industrially important enzymes with salt tolerant activity. *Biochemistry research international*, 2016(1), p: 1-10. <https://doi.org/10.1155/2016/9237418> .

Gupta, G.N., Srivastava, S., Khare, S.K. and Prakash, V. (2014). Extremophiles: an overview of microorganism from extreme environment. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*.7(2), p: 371-380. <https://doi.org/10.5958/2230-732X.2014.00258.7>

Hedi, A., Essghaier, B., Cayol, J. L., Fardeau, M. L., & Sadfi, N. (2014). Prokaryotic biodiversity of halophilic microorganisms isolated from Sehline Sebkhia Salt Lake (Tunisia). *Afr. J. Microbiol. Res*, 8(4), 355-367.

Hozzein, W. N. (2015). Biodiversity of halophilic and halotolerant actinobacteria. In: Halophiles. *Biodiversity and Sustainable Exploitation*, p: 1-28. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14595-2_1 .

Irshad, A., Ahmad, I., & Kim, S. B. (2014). Culturable diversity of halophilic bacteria in foreshore soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45, 563-572. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000050> .

Javid, P., Shahabadi, H. Z., Amirkhani, H., Amrollahi, N. and Ranjbar, M. S. (2020). Isolation and identification of halophilic and halotolerant bacteria from the sediments of the Qeshm Island mangrove forest: Phylogeny of bacterial community of mangrove forest sediments. *Advances in Oceanography and Limnology*, 11(1), p: 1-10.

Korram, V. K and Bansal, S. (2021). Arginase in Bacillus circulans. *Biotechnology and Bioinformatics Department*, p :1-27

- Kumar, S., Karan, R., Kapoor, S., Singh, S. P., & Khare, S. K. (2012).** Screening and isolation of halophilic bacteria producing industrially important enzymes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 1595-1603.
- Kushner, D.J et Kamekura, M. (1988).** Physiology of halophilic eubacteria. In : Halophilic bacteria. *CRC Press, Vol. I*, p: 109-140.
- Lach, J., Jęcz, P., Strapagiel, D., Matera-Witkiewicz, A. and Stączek, P. (2021).** The methods of digging for “Gold” within the salt: characterization of halophilic prokaryotes and identification of their valuable biological products using sequencing and genome mining tools. *Genes*, 12(11), 1756 p. <https://doi.org/10.3390/genes12111756> .
- Lanzilli, M., Esercizio, N., Vastano, M., Xu, Z., Nuzzo, G., Gallo, C., Manzo, E., Fontana, A. and d’Ippolito, G. (2020).** Effect of cultivation parameters on fermentation and hydrogen production in the phylum Thermotogae. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 341p. <https://doi.org/10.3390/ijms22010341> .
- Mainka, T., Weirathmüller, D., Herwig, C. and Pflügl, S. (2021).** Potential applications of halophilic microorganisms for biological treatment of industrial process brines contaminated with aromatics. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 48(1-2), kuab015. <https://doi.org/10.1093/jimb/Kuab05>
- Mohamed, A. H., Abou Zeid, A. A., El-Sayed, A. S., & Shawadfy, A. M. E. (2022).** Short Review on Microbial Lmethioninase and it’s Applications. *Bulletin of faculty of science Zagazig University (BfSZU)*, 2022(1), pp:107-133 . <https://doi.org/10.21.608/bfszu.2022.148461.1155> .
- Mohamedin, A., Elsayed, A., Abdalla, A. M. B., & EL-Dohlab, S. M. (2018).** Characterization of some extremely halophilic bacteria isolated from salt Marshes of Gamasa, Egypt. *Journal of Plant Production*, 9(6), 521-529.
- Mohammadipanah, F., Hamedi, J. and Dehghani, M. (2015).** Halophilic bacteria: potentials and applications in biotechnology .In : Halophiles. *Biodiversity and sustainable exploitation*, p : 277-321. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14595-2_11 .
- Mukhtar, S., Malik, K.A. and Mehnaz, S. (2020).** Osmoadaptation in halophilic bacteria and archaea. *Research journal of Biotechnology* , 15(5), p : 154-161.
- Oren, A. (2010).** Industrial and environment applications of halophilic microorganisms. *Environmental technology*, 31(8-9), p:825- 834 . <https://doi.org/10.1080/09593330903370026>
- Oren, A. (2016).** Life in high-salinity environments. *Manual of environmental microbiology*, p: 4-3. <https://doi.org/10.1128/9781555818821.ch4.3.2> .
- Pikuta, E.V., Hoover, R.B. and Tang, J. (2007).** Microbial extremophiles at the limits of

- life. *Critical reviews in microbiology*, 33(3), p:183-209. <https://doi.org/10.1080/10408410701451948> .
- Rajendran, N. (2015).** Environmental diversity and biological survival ability of halophilic bacteria. In: Halophiles. *Biodiversity and sustainable exploitation*, 173-188. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14595-2_6 .
- Rathakrishnan, D et Gopalan, A. K. (2022).** Isolation and characterization of halophilic isolates from Indian salterns and their screening for production of hydrolytic enzymes. *Environmental Challenges*, 6, p: 100-426. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100426> .
- Reang, L., Bhatt, S., Tomar, R.S., Joshi, K., Padhiyar, S., Vyas, U.M. and Kheni, J.K.(2022).** Plant growth promoting characteristics of halophilic and halotolerant bacteria isolated from coastal regions of Saurashtra Gujarat. *Sci Rep.* 12(1) P: 4699. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08151-x> .
- Ruginescu, R., Gomoiu, I., Popescu, O., Cojoc,R., Neagu,S., Lucaci,I., Batrinescu Moteau, C. and Enache, M. (2020).** Bioprospecting for novel halophilic and halotolerant sources of hydrolytic enzymes in brackish, saline and hypersaline lakes of Romania. *Microorganisms*, 8(12),1903. <https://10.3390/microorganisms8121903> .
- Sango , H. (2023).** Caractérisation des bactéries halophiles isolées depuis la Sebka de Ain Yagout-Batna pour la fabrication d'une crème solaire à base d'ectoïne. Mémoire Master : Biologie moléculaire des microorganismes. Université frères Mentouri Constantine., 62p.
- Schneegurt, M. A. (2012).** Media and conditions for the growth of halophilic and halotolerant bacteria and archaea. *Advances in understanding the biology of halophilic microorganisms*, 35-58.
- Sundar, W. A., & Nellaiah, H. (1984).**A rapid method for screening of methioninase producing *Serratia marcescens* species from soil. *Biochem Biophys Acta*, 738, 49-87.
- Unissa, R., Sudhakari, M., & Reddy, A. S. K. (2015).** In vitro anticancer activity of L-arginase produced from *Idiomarina sediminum* ; H1695. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(9), 764-770.
- Ventosa, A., Arahall, D.R. (2009).** Physico-chemical characteristics of hypersaline environments and their biodiversity. *Extremophiles*, Vol.2, p: 47-262.
- Verma, A., Kumar, S. and Mehta, P. (2020).** Physiological and genomic perspective of halophiles among different salt concentrations. In: Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles. *Elsevier*, p: 137-151. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818322-9.00011-3> .
- Vigneshwari, J., Gnanasekaran, A., Dinesh kumar, K., Manikandan, P.,**

Senthilkumar, P.K., Vijayakumar, N. (2021). Review on halophilic microbes and their applications. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 10 (10), 23-36.

Yu, J., Zhang, Y., Liu, H., Liu, Y., Mohsin, A., Liu, Z., Zheng, Y., Xing, J., Han, J., Zheng, Y., Guo, M & Wang, Z. (2024). Temporal dynamics of stress response in *Halomonas elongata* to NaCl shock: physiological, metabolomic, and transcriptomic insights. *Microbial Cell Factories*, 23(1), 88.

Annexes

Annexe n°1➤ **Matériel et produits utilisés**

Matériel	Produits utilisés
Autoclave 120°C	Chlorure de sodium (NaCl)
Étuve de (37°C, 10°C, 20°C, 40°C, 50°C)	Chlorure de Calcium dihydraté (CaCl ₂ -2H ₂ O)
pH mètre	Chlorure de magnésium hexahydraté(MgCl ₂ -6H ₂ O)
Bain marie	Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)
Vortex	Sulfate de fer (FeSO ₄)
Plaque chauffante agitatrice	
Balance	
Réfrigérateur (4°C)	Phosphate de monopotassium (KH ₂ PO ₄)
Bec Bunsen	Sulfate de magnésium (Mg SO ₄)
Tubes à essai	Sulfate d'ammonium (NH ₄) ₂ SO ₄
Boîtes Pétri	Extrait de levure
Béchers	Agar
Éprouvettes graduées	Eau distillée
Flacons	Glucose
Pipettes pasteur	Chlorure d'hydrogène(HCl)
Anses de platine	Hydroxyde de sodium (NaOH)
Spatules	L-arginine
Barreaux magnétiques	L-méthionine
Hotte à flux laminaire	Peptone
	Rouge de phénol

Annexe n°2➤ **Milieux de revivification des bactéries halophiles**

Milieux M1	
NaCl	175 g
CaCl₂ 2H₂O	0,1 g
MgCl₂ 6H₂O	20 g
K₂SO₄	5 g
Extrait de levure	5 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g
pH	7

Milieu M3	
NaCl	100 g
Glucose	4 g
MgSO₄	1 mM
FeSO₄	0,0039 mM
(NH₄)₂ SO₄	15 mM
KH₂PO₄	100 mM
Eau distillée	1000 mL
Agar	20 g
pH	7,2

➤ **Solutions de NaOH et HCl.**

Les pH de ces milieux ont été ajustés grâce à une solution de **1M** de **NaOH** et de **HCl**.

1M NaOH : 10g de pastilles de NaOH dans 250 mL d'eau distillée.

1M HCl : 183,6 mL d'HCl et 16,4 mL d'eau distillée pour avoir 200 mL d'HCl .

Annexe n°3

➤ **Milieu de base utilisé pour les tests enzymatiques**

Milieux M 1	
NaCl	175 g
Peptone	5 g
Extrait de levure	3 g
Substrat (L-arginine ou L-méthionine)	10 g
Rouge de phénol	0,012%
Eau distillée	1000 mL
Agar	30 g
pH	7

Milieux M 3	
NaCl	100 g
Peptone	5 g
Extrait de levure	3 g
Substrat (L-arginine ou L-méthionine)	10 g
Rouge de phénol	0,012%
Eau distillé	1000 mL
Agar	30 g
pH	7,2

Résumés

La présente étude a été menée pour déterminer la capacité de cinq souches de bactéries halophiles à se développer dans certaines conditions physiologiques et à produire certaines enzymes.

Les résultats rapportés dans la présente étude, ont montré que toutes les souches bactériennes ont pu croître à une température de 37°C et 40°C (100%). Aux températures de 4°C, 10°C et 20°C, une seule souche ont a été développée (20%). En revanche, aux températures de 50 °C et 60 °C, aucune croissance n'a été observée.

Toutes les souches ont pu croître aux pH de 7, 8, 9 et 10 (100%). Aux pH acides, 60% des souches ont pu se développer à pH 6 et seulement 40% ont montré une croissance à pH 5.

Toutes les souches ont pu croître à une concentration de 10% et 15% de NaCl (100%), et leur majorité a démontré une croissance à 5 et 20% de NaCl (80%). 60% des souches ont pu se développer aux concentrations 0.5% et 3% de NaCl. Un faible pourcentage de croissance a été observé à 0% et 25% de NaCl.

60% des souches ont pu dégrader la L-arginine et donc produire la L-arginase, 40% des souches ont pu dégrader la L-méthionine et donc produire la L-méthioninase.

Mots clés : bactéries halophiles, température, pH, NaCl, L-arginase, L-méthioninase.

The present study was conducted to determine the ability of five halophilic bacteria strains to grow under some physiological conditions and to produce some enzymes.

The results revealed that all bacterial strains were able to grow at 37°C and 40°C (100%). At temperatures of 4°C, 10°C and 20°C, only one strain grew (20%). However, at temperatures of 50°C and 60°C, no growth was observed.

All strains were able to grow at pH 7, 8, 9 and 10 (100%). At acid pH, 60% of strains were able to grow at pH6 and only 40% showed growth at pH 5.

All strains were able to grow at 10% and 15% NaCl (100%), and the majority grew at 5 and 20% NaCl (80%). 60% of strains were able to grow at concentrations of 0.5% and 3% NaCl. A low percentage of growth was observed at 0% and 25% NaCl.

60% of strains were able to degrade L-arginine and thus produce L-arginase, 40% of strains were able to degrade L-methionine and thus produce L-methionase.

Keywords: halophilic bacteria, temperature, pH, NaCl, L-arginase, L-methioninase

لقد تمت دراستنا على ست بكتيريا محبة للملوحة و هدفت إلى تحديد قدرتها على النمو تحت شروط فيزيولوجية معينة من درجة حرارة، درجة حموضة و تراكيز ملح (كلوريد الصوديوم) و كذلك تحديد قدرتها على إنتاج بعض الإنزيمات. بينت النتائج المحصل عليها ما يلي : جميع السلالات تمكنت من النمو في النطاقين الحراري 37م° و 40م (100%) و 20% كانت قادرة على النمو عند درجات حرارة 4م°، 10م°، 20م°، ولم يلاحظ أي نمو عند درجة حرارة 50 و 60م°. جميع السلالات تمكنت من النمو عند درجات الحموضة 9، 8، 7، 10 (100%) عند درجة الحموضة العالية، أظهرت نمو عند درجة الحموضة 6 و 40% أظهرت نمو عند درجة الحموضة 5. جميع السلالات تمكنت من النمو عند تركيز 10% و 15% من كلوريد الصوديوم، وأظهرت الأغلبية نمو جيداً عند تركيز 5% و 20% من تركيز كلوريد الصوديوم (80%) 60% أظهرت نمو عند تركيز 5% و 3% من تركيز كلوريد الصوديوم وانخفض النمو بشكل ملحوظ عند تركيز 0% و 25%. 60 % من السلالات تمكنت من إنتاج الأرجيناز و 40% من إنتاج الميثوناز.

الكلمات المفتاحية:

البكتيريا المحبة للملوحة، درجة الحرارة، درجة الحموضة، درجة الملوحة، الأرجيناز، الميثوناز

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : SABA Samah
BOUBRAL Aya

Étude des caractéristiques physico-chimiques et enzymatiques de quelques bactéries halophiles.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie moléculaire des Microorganismes

Résumé

La présente étude a été menée pour déterminer la capacité de cinq souches de bactéries halophiles à se développer dans certaines conditions physiologiques et à produire certaines enzymes.

Les résultats rapportés dans la présente étude, ont montré que toutes les souches bactériennes ont pu croître à une température de 37°C et 40°C (100%). Aux températures de 4°C, 10°C et 20°C, une seule souche ont a été développée (20%). En revanche, aux températures de 50 °C et 60 °C, aucune croissance n'a été observée. Toutes les souches ont pu croître aux pH de 7, 8, 9 et 10 (100%). Aux pH acides, 60% des souches ont pu se développer à pH 6 et seulement 40% ont montré une croissance à pH 5. Toutes les souches ont pu croître à une concentration de 10% et 15% de NaCl (100%), et leur majorité a démontré une croissance à 5 et 20% de NaCl (80%). 60% des souches ont pu se développer aux concentrations 0.5% et 3% de NaCl. Un faible pourcentage de croissance a été observé à 0% et 25% de NaCl.

60% des souches ont pu dégrader la L-arginine et donc produire la L-arginase, 40% des souches ont pu dégrader la L-méthionine et donc produire la L-méthionase.

Mots-clés : bactéries halophiles, température, pH, NaCl, L-arginase, L-méthionase, paramètres physico-chimiques.

Laboratoires de recherche : Laboratoire pédagogie n°14 (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Présidente : ALMI Hiba (MCB - U Constantine 1, Frères Mentouri).

Encadrante : MERIANE Ilhem (MAA - U Constantine 1, Frères Mentouri).

Examinatrice : DERABLI Besma (MAB - U Constantine 1, Frères Mentouri).