

### III. BIOTECHNOLOGIE DES MICROORGANISMES HALOPHILES ET HALOTOLÉRANTS

les microorganismes halophiles et halotolérants disposent d'un potentiel biotechnologique très important. Ce potentiel riche est très diversifié, exploré, et exploité dans des domaines variés.

#### III. 1. Production d'enzymes

Des études récentes ont été effectuées pour étudier la diversité des microorganismes produisant des enzymes hydrolytiques. Malgré l'ampleur des investissements, peu de bactéries halophiles ont encore franchi le pas de l'exploitation industrielle, très peu d'enzymes halophiles ont trouvé des applications en biotechnologie, en comparaison avec les enzymes des autres extrêmophiles. Les bactéries halophiles sont métaboliquement actives que les Archaea, et leurs activités enzymatiques sont plus diversifiées. D'ailleurs, la plupart des enzymes haloarchaeal exigent au moins 10-15% d'NaCl pour leur stabilité, alors que les enzymes bactériennes généralement ne montrent pas de telles conditions strictes de salinité (Oren, 2010).

Beaucoup de microorganismes qui vivent dans des lacs alcalins salins produisent une variété d'enzymes qui trouvent des applications dans beaucoup de secteurs industriels. Les enzymes produites par les archaebactéries (halophiles extrêmes), caractérisées par un excès d'acides aminés acides et de charge extérieure négative présentent des avantages énormes par rapport aux autres enzymes et par conséquent ce sont des candidats majeurs dans les processus de biocatalyse industriels (Ma et al., 2010).

Boutaiba et al. (2006) ont pu mettre en évidence l'activité lipolytique d'une archaebactérie halophile extrême, *Natronococcus sp.*, qui hydrolyse l'huile d'olive, ayant un intérêt biotechnologique. Un autre exemple décrit l'activité lipasique d'une bactérie halophile modérée (*Salinivibrio*), cette lipase est active à 50°C.

Sivakumar et al. (2009) ont pu mettre en évidence la production d'une Laccase (Lacc A) par une archaebactérie *Haloferax volcanii*. L'enzyme qui couple l'oxydation des composés phénoliques et la réduction de l'oxygène moléculaire trouve une large variété d'applications.

Beaucoup de programmes d'isolements et screening d'activités enzymatiques ont été entrepris ces dernières années. Les micro-organismes extrêmophiles fournissent les industries

d'une série d'outils de biotechnologie comme les enzymes stables exceptionnelles qui restent actives dans un éventail de concentrations salines, de pH, et de température (Mariana *et al.*, 2008). Le tableau 4 ci-dessous résume une partie de tous ces programmes de recherches d'activités hydrolytiques dans différents environnements dans le monde.

La plupart des producteurs halophiles d'hydrolases ont été assignés à la famille des *Halomonadaceae*. Ses membres sécrètent des enzymes hydrolytiques extracellulaires comme les amylases, les protéases, les lipases, les DNases, les pullulanases et les xylanases (Sánchez-Porro *et al.*, 2003; Govender *et al.*, 2009; Rohban *et al.*, 2009).

### Les protéases

Les protéases des microorganismes halophiles sont largement utilisés dans les industries des détergents et des produits alimentaires. Ils sont également utilisés dans le domaine de l'agroalimentaire, et l'industrie du cuir, ainsi que dans la fabrication de produits à base de soja, et la production de l'aspartame. La production de protéases qui possèdent un potentiel industriel important a été caractérisé chez les espèces *Halobacterium spp.*, *Haloferax mediteranei*, *Natrialba asiatica*, *Natrialba magadii*, *Natronococcus occultus*, et *Natronomonas pharaonis* (Kamekura *et al.*, 1995).

### Les glycosylhydrolases

Les glycosylhydrolases sont utilisées pour des raisons multiples : la dégradation de cellulose et de l'hémicellulose, l'agar, l'agarose, lactose et amylose. Les xylanases sont des enzymes utilisées dans la fabrication de café, les aliments de bétail, et de la farine. Les xylanases peuvent également être utilisés à la place du chlore pour le blanchiment et l'élimination de la lignine résiduelle de la pâte à papier. Un exemple de la sécrétion des xylanases par la souche *Halorhabdus utahensis*, isolée du grand lac salé (Woodward et Wiseman, 1984).

### Les $\beta$ galactosidases

Les  $\beta$ -galactosidases des microorganismes halophiles ont été caractérisés pour la première fois chez *Haloferax alicantei*, l'enzyme possède une activité optimale à 4 M de NaCl. Une série de 42  $\beta$ -galactosidases ont été secrétés par des isolats de *Planococcus sp.* isolées de l'antarctique (Kamekura *et al.*, 1995).

### Les estérases et lipases

Les estérases et lipases sont largement utilisés comme biocatalyseurs en raison de leur capacité à produire des composés optiquement purs. Ces types d'enzymes sont très utiles dans fabrication des détergents et lessive, ils permettent l'élimination des taches d'huile / graisse. Une estérase à partir de *Haloarcula marismortui* a été purifiée et récemment caractérisé . Cette enzyme présente une préférence pour les acides gras à chaîne courte et des monoesters et elle est dépendante du sel (Muller-santos *et al.*, 2009).

### Les Nucléase H

Une des quelques enzymes halophiles appliquées dans les processus industriels est la nucléase H isolée de *Micrococcus varians* subsp. *halophilus* et utilisée dans la production commerciale de l'agent aromatisant: l'acide 5'-guanylique (5'-GMP). Cette enzyme dégrade l'ARN à 60°C et en présence de 12% (p/v) de sel (Kamekura *et al.*, 1982).

Outre la production d'enzymes hydrolytiques, Il existe aujourd'hui des applications biotechnologiques des microorganismes halophiles qui sont rapportés ci-dessous :

Les bactéries halophiles modérées accumulent de grandes quantités de molécules de bas poids moléculaire pour pouvoir lutter contre les effets de la pression osmotique. Quelques composés comme la glycine-betaine et l'ectoïne peuvent être utilisés en tant que molécules protectrices contre les stress dues à une forte salinité, dénaturation thermique, congélation ou dessiccation. On leur porte un grand intérêt notamment dans les industries pharmaceutiques mais aussi cosmétiques.

Les procédés classiques de traitement microbiologique ne fonctionnent pas pour des effluents salés mais pourraient être très performants grâce à l'utilisation de micro-organismes halophiles.

Une application spectaculaire a été envisagée pour une protéine issue de la membrane cytoplasmique de *Halobacterium halophilum* (la bacteriorhodopsine), une protéine qui joue le rôle d'une pompe à protons pour établir un gradient de part et d'autre de la membrane.

Une puce électronique composée d'une couche mince de bacteriorhodopsine serait en mesure de stocker plus d'informations qu'une puce au silicium et de traiter l'information plus rapidement (Cayol *et al.*, 2012).

La production de certains aliments fermentés en Extrême-Orient, telle que la sauce à poissons, implique l'activité d'une variété de microorganismes halophiles (Oren, 2002).

**Tableau 4.** Microorganismes potentiellement producteurs d'enzymes hydrolytiques isolés à partir de différents environnements hypersalins.

| Site d'isolement                                   | Activité hydrolytique analysée   | Activité hydrolytique la plus abondante | Affiliation des isolats   | Références                   |
|--|--|---|---|------------------------------|
| Sédiments des fonds marins. Sud d'Okinawa (Chine). | amylase<br>protease<br>lipase<br>DNase   | amylase                                 | <i>Alcanivorax</i><br><i>Bacillus</i><br><i>Cobetia</i><br><i>Halomonas</i><br><i>Methylarcula</i><br><i>Micrococcus</i><br><i>Myroides</i><br><i>Paracoccus</i><br><i>Planococcus</i><br><i>Pseudomonas</i><br><i>Psychrobacter</i><br><i>Sporosarcina</i><br><i>Sufflavibacter</i><br><i>Wangia</i> | (Dang et al., 2009)          |
| Mine de sels (Slanic prahova). Roumanie.           | amylase<br>gelatinase<br>lipase<br>protease<br>cellulase<br>xylanase                                     | lipase<br>protease                      | ND  | (Cojoc et al., 2009)         |
| Desert d'Atacama (Chilie).                         | amylase<br>protease<br>lipase<br>DNase<br>xylanase<br>pullulanase  | DNase                                   | <i>Bacillus</i><br><i>Halobacillus</i><br><i>Pseudomonas</i><br><i>Halomonas</i><br><i>Staphylococcus</i>   | (Moreno et al., 2009)        |
| Désert salin (Inde).                               | amylase  | ND                                      | <i>Bacillus</i>   | (Khunt et al., 2011)         |
| Marais salins (Espagne).                           | amylase<br>protease<br>lipase<br>DNase<br>pullulanase  | amylase                                 | <i>Salinivibrio</i><br><i>Halomonas</i><br><i>Chromohalobacter</i><br><i>Bacillus-Salibacillus</i><br><i>Salinicoccus</i><br><i>Marinococcus</i>  | (Sánchez-Porro et al., 2003) |
| Marais Salin Huelva (Espagne).                     | lipase<br>protease<br>amylase<br>nuclease  | amylase                                 | <i>Halorubrum</i><br><i>Haloarcula</i><br><i>Halobacterium</i><br><i>Salicola</i><br><i>Salinibacter</i><br><i>Pseudomonas</i>  | (Moreno et al., 2009)        |
| Lac Howz soltan (Iran)                             | lipase<br>amylase<br>protease<br>xylanase<br>DNase<br>inulinase<br>pectinase<br>cellulase<br>pulullanase | lipase                                  | <i>Salicola</i><br><i>Halovibrio</i><br><i>Halomonas</i><br><i>Oceanobacillus</i><br><i>Thalassobacillus</i><br><i>Halobacillus</i><br><i>Virgibacillus</i><br><i>Gracilibacillus</i><br><i>Salinicoccus</i><br><i>Piscibacillus</i>  | (Rohban et al., 2009)        |
| Salin Maharlu Lacs (Iran)                          | protease<br>lipase   | ND                                      | <i>Bacillus</i><br><i>Paenibacillus</i><br><i>Halobacterium</i><br><i>Aeromonas</i><br><i>Staphylococcus</i>  | (Ghasemi et al., 2011)       |