

# TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

DEDICACES

**INTRODUCTION**..... 1

## **SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>I. ENVIRONNEMENTS HYPERSALÉS</b> .....	<b>3</b>
I.1. Généralités.....	3
I.2. Propriétés physicochimiques des environnements hypersalés.....	5
I.3. Biodiversité microbienne des environnements salés et hypersalés.....	8
I.3.1. Les organismes halophiles.....	8
I.3.2. Diversité phylogénétiques des microorganismes halophiles.....	10
I. 3. 2. A. Bactéries halophiles du domaine <i>Bacteria</i> .....	10
I. 3. 2. B. Les bactéries halophiles du domaine <i>Archaea</i> .....	11
I. 3. 2. C. Eucaryotes halophiles.....	12
I. 3. 3. Mécanismes d'adaptation osmotique des microorganismes halophiles .....	13
<b>II. TECHNIQUES D'ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ BACTÉRIENNE</b> .....	<b>18</b>
II.1. Détermination de la biodiversité bactérienne par les méthodes culturales.....	18
II.2. Détermination de la biodiversité bactérienne par les méthodes moléculaires (approche méta- génomique).....	18
II.2.1. Analyse des microorganismes de l'environnement par la technique d'électrophorèse sur gel à gradient dénaturant (DGGE).....	21
<b>III. BIOTECHNOLOGIE DES MICROORGANISMES HALOPHILES ET HALOTOLÉRANTS</b> .....	<b>24</b>
III. 1. Production d'enzymes.....	24

## **MATERIEL ET METHODES**

<b>I. DESCRIPTION GÉOCLIMATIQUE DU SITE D'ÉTUDE</b> .....	<b>28</b>
I.1. Site d'étude.....	28
I.2. Relief, hydrographie.....	28
I.3. Climat.....	29
<b>II. ÉCHANTILLONNAGE</b> .....	<b>29</b>
II. 1. Analyse physico-chimique des échantillons.....	30
II. 2. Analyse microbiologique des échantillons (dénombrement de la flore totale et flore pathogène).....	31
II. 2. 1. Dénombrement des germes totaux (ou flore totale aérobie mésophile : F. T. A. M).....	31
II. 2. 2. Colimétrie.....	31
II. 2. 3. dénombrement des Streptocoques fécaux.....	32
II. 2. 4. Recherche et dénombrement des spores des anaérobies sulfitoréducteurs.....	33
II. 2. 5. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
<b>III. ÉTUDE DE LA BIODIVERSITÉ BACTÉRIENNE PAR LES MÉTHODES CULTURALES</b> .....	<b>34</b>
III. 1. Enrichissement et isolement de la flore halophiles et halotolérantes.....	34

III. 2. Caractérisation des isolats.....	36
III. 2. 1. Étude morphologique des isolats.....	36
III.2. 2. Mise en évidence des enzymes respiratoires des isolats.....	36
III.2. 2. 1. Cytochrome-oxydase.....	36
III.2. 2. 2. Catalase.....	36
III. 3. Tolérance des souches à différentes concentrations de sels.....	36
III. 4. Étude du polymorphisme génétique et séquençages du gène codant pour la sous unité ribosomale 16S des isolats.....	37
III. 4. 1. Extraction de l'ADN génomique.....	37
III. 4. 2. Amplification du gène codant pour la sous unité 16S et les ITS (Internal Transcribed Spacer).....	37
III. 4. 3. Séquençage et analyse phylogénétique des séquences de l'ARNr 16S.....	39

#### **IV. ESSAI D'ÉTUDE DE LA BIODIVERSITÉ MICROBIENNE PAR LES TECHNIQUES MOLÉCULAIRES** .....

IV. 1. Extraction d'ADN génomique à partir des échantillons d'eaux.....	40
IV. 2. Amplification de l'ADN par la PCR « polymerase Chain Reaction » PCR-DGGE.....	42

#### **V. RECHERCHE D'ACTIVITÉS ENZYMATIQUES EXTRACELLULAIRES DES ISOLATS** .....

V. 1. Détermination de l'activité amylolytique.....	44
V. 2. Détermination de l'activité Estérases.....	44

### **RESULTATS ET DISCUSSION**

#### **I. ANALYSE DES ÉCHANTILLONS D'EAUX DU LAC SALÉ**.....

I.1. Analyse physico-chimique des échantillons.....	45
I.2. Analyse microbiologique des échantillons.....	47
I. 2. 1. Dénombrement des germes totaux (ou flore totale aérobie mésophile : F. T. A. M.....	47
I.2.2. Colimétrie.....	48
I.2.3. dénombrement des Streptocoques fécaux.....	48
I. 2. 4. Recherche et dénombrement des spores des anaérobies sulfitoréducteurs.....	49
I. 2. 5. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	49

#### **II. ÉTUDE DE LA BIODIVERSITÉ BACTÉRIENNE PAR LES MÉTHODES CULTURALES**.....

II. 1. Enrichissement et isolement de la flore halophile et halotolérante.....	51
II. 2. Caractérisation des isolats.....	53
II. 2. 1. Étude morphologique des isolats.....	53
II.2. 2. Mise en évidence des enzymes respiratoires.....	54
II. 2. 3. Tolérance des souches à différentes concentrations de sels.....	55
II. 2. 4. Étude du polymorphisme génétique et séquençages du gène codant pour la sous unité ribosomale 16S des isolats.....	57
II. 2. 4. a. Extraction de l'ADN génomique.....	57
II. 2. 4. b. Amplification du gène codant pour la sous unité 16S et les ITS (Internal Transcribed Spacer).....	57
II. 2. 4. c. Séquençage et analyse phylogénétique des séquences de l'ARNr 16S.....	60

<b>III. ESSAI D'ÉTUDE DE LA BIODIVERSITÉ MICROBIENNE PAR LES TECHNIQUES MOLÉCULAIRES</b> .....	<b>64</b>
III. 1. Extraction d'ADN génomique à partir des échantillons d'eaux.....	<b>64</b>
III. 2. Amplification de l'ADN par la PCR « polymerase Chain Reaction » PCR-DGGE.....	<b>65</b>
<b>IV. MISE EN ÉVIDENCE DE DEUX ACTIVITÉS HYDROLYTIQUES EXTRACELLULAIRES</b> .....	<b>66</b>
IV. 1. Détermination de l'activité amylolytique.....	<b>66</b>
IV. 2. Détermination de l'activité Estérases.....	<b>67</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>71</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>73</b>
<b>ANNEXES</b>	