

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie Appliquée.  
Filière : Biologie.  
Option : Microbiologie de l'Environnement.



Réf : .....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## MASTER

### *Thème*

*Rôle osmoprotecteur de deux macro-algues :  
Ulva lactuca et Cystoseira sp. dans  
l'halotolérance des bactéries promotrices de la  
croissance des plantes*

Présenté par :

**KORICHI Soumia**

Soutenu le : **10 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mme IDRES N.	MAA	Président
Mr NABTI EH.	MCA	Encadreur
Mr BENSALD K.	MAA	Examineur
Mr RAI A.	Doctorant	Co-encadreur.

**Année universitaire : 2014 / 2015**

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie.  
Filière : Biologie.  
Option : Biotechnologie Microbienne.



## Autorisation de Soutenance

L'étudiant : M<sup>elle</sup> RAHMOUNI Siham.  
est autorisée à soutenir son mémoire de fin de cycle en vue de  
l'obtention du diplôme de master le :  
Lundi 14/06/2015 à 11h00

Thème :

### **Isolement, caractérisation et optimisation de la production de molécules bioactives d'une souche d'actinomycète : *Streptomyces* sp. SRC3**

Devant le jury composé de :

Mr. KECHA Mouloud	Pr	President
Melle DJINNI Ibtissem.	MCB	Encadreur
Mme. BOUDRIES_ SOUAGUI S.	MAA	Examineur
Mme. ARKOUB_DJOUDI W.	MCB	Co-encadreur.

L'encadreur

Le chef de département

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie.  
Filière : Biologie.  
Option : Biotechnologie Microbienne.



## **Autorisation de dépôt**

L'étudiante : M<sup>elle</sup> RAHMOUNI Siham.  
est autorisée à déposer son mémoire de fin de cycle en vue de  
l'obtention du diplôme de master après vérification des  
corrections apportées suite aux recommandations du jury.

Thème :

**Isolement, caractérisation et optimisation de la  
production de molécules bioactives d'une souche  
d'actinomycète : *Streptomyces* sp. SRC3**

Le président du jury

Le chef de département

**Année universitaire : 2014 / 2015**

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie.  
Filière : Biologie.  
Option : Biotechnologie Microbienne.



## Autorisation de Soutenance

L'étudiante M<sup>elle</sup> RABIA Farida.  
est autorisée à soutenir son mémoire de fin de cycle en vue de  
l'obtention du diplôme de master le :  
Lundi 15/06/2015 à 16h00

Thème :

### **Isolement, caractérisation et optimisation de la production de molécules bioactives d'une souche d'actinomycète : *Streptomyces* sp. SRC3**

Devant le jury composé de :

Mr. KECHA Mouloud	Pr	President
Melle DJINNI Ibtissem	MCB	Encadreur
Mme. BOUDRIES_ SOUAGUI S.	MAA	Examineur
Mme. ARKOUB_DJOUDI W.	MCB	Co-encadreur.

L'encadreur

Le chef de département

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie.  
Filière : Biologie.  
Option : Biotechnologie Microbienne.



## **Autorisation de dépôt**

L'étudiante : M<sup>elle</sup> RABIA Farida.

est autorisée à déposer son mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de master après vérification des corrections apportées suite aux recommandations du jury.

Thème :

**Isolement, caractérisation et optimisation de la production de molécules bioactives d'une souche d'actinomycète : *Streptomyces* sp. SRC3**

Le président du jury

Le chef de département

**Année universitaire : 2014 / 2015**

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Sommaire	
Introduction.....	1
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
I. Sol, rhizosphère et PGPR .....	3
I.1. Le sol .....	3
I.2. Rhizosphère .....	3
I.3. Les PGPR .....	3
I.3.1. Mécanismes d'action des PGPR .....	4
<i>a. Mécanismes directs</i> .....	4
Fixation de l'azote .....	4
Production de phytohormones .....	4
Solubilisation du phosphate .....	5
Production des sidérophores .....	5
<i>b. Mécanismes indirects</i> .....	5
Compétition pour l'espace et les nutriments .....	5
Antibiose .....	5
Production des enzymes .....	6
La résistance systémique induite (ISR Induced Systemic Resistance).....	6
La tolérance systémique induite (IST Induced Systemic Tolerance) .....	6
II. Salinité et osmorégulation .....	7
II.1. Salinité .....	7
II.1.1. Effets de la salinité sur la structure du sol .....	7
II.1.2. Effets de la salinité sur les plantes .....	7
<i>Le stress ionique</i> .....	7
<i>Le stress hydrique</i> .....	7
<i>Le stress nutritionnel</i> .....	7
II.1.3. Effets de la salinité sur les bactéries du sol .....	8

II.2. Osmorégulation .....	8
II.2.1. Osmorégulation chez les bactéries .....	8
<i>Réponse primaire par accumulation des ions K<sup>+</sup></i> .....	9
<i>Réponse secondaire par production et accumulation d'osmoprotecteurs</i> .....	9
II.2.2. Osmorégulation chez les halophytes .....	9
II.2.3. Solutés compatibles .....	9
<i>Les solutés Zwitterion</i> .....	10
<i>Les solutés non chargés</i> .....	10
<i>Les solutés anioniques</i> .....	11

## **Chapitre II : Matériels et Méthodes**

1. Souches bactériennes .....	13
1.1. Description des genres bactériens .....	13
2. Algues marines .....	14
2.1. <i>Ulva lactuca</i> .....	14
2.2. <i>Cystoseira</i> sp .....	15
3. Matériel et produits chimiques utilisés .....	15
4. Préparation des inocula bactériens .....	15
5. Conditions physico-chimiques.....	15
5.1. pH .....	15
5.2. Température .....	15
5.3. Salinité (Na Cl).....	15
6. Culture des souches .....	16
6.1. Utilisation des osmoprotecteurs comme source de carbone .....	16
6.2. Effet des osmoprotecteurs sur l'halotolérance des souches S5 et S7 .....	16

## **Chapitre III : Résultats**

1. Optimisation de la croissance des souches .....	17
1.1. pH .....	17
1.2. Température .....	17
1.3. Salinité (Na Cl).....	18

1.3.1. Halotolérance des souches étudiées sur GMM .....	18
1.3.2. Halotolérance des souches étudiées sur LB .....	18
2. Effets des osmoprotecteurs .....	19
2.1. Utilisation des osmoprotecteurs comme source de carbone .....	19
2.2. Effet des osmoprotecteurs en présence du sel .....	20
2.2.1. Sur la croissance de la souche <i>Pseudomonas</i> sp. S5 LiBe .....	21
2.2.2. Sur la croissance de <i>Bacillus</i> sp. S7 Li Be .....	22

#### **Chapitre IV : Discussion générale**

1. Optimisation de la croissance des souches .....	23
1.1. pH .....	23
1.2. Température .....	23
1.3. Salinité (Na Cl).....	24
1.3.1. Halotolérance des souches étudiées sur GMM .....	24
1.3.2. Halotolérance des souches étudiées sur LB .....	25
2. Effets des osmoprotecteurs .....	25
2.1. Utilisation des osmoprotecteurs comme source de carbone .....	25
2.2. Effet des osmoprotecteurs en présence du sel .....	27
2.2.1. Sur la croissance de la souche <i>Pseudomonas</i> sp. S5 LiBe .....	28
2.2.2. Sur la croissance de <i>Bacillus</i> sp. S7 Li Be .....	30

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé



	Titre
<b>Tableau I</b>	Les souches bactériennes utilisées dans le travail
<b>Tableau II</b>	Taxonomie des genres bactériens étudiés
<b>Tableau III</b>	Les concentrations en NaCl utilisées
<b>Tableau IV</b>	Effet du pH sur la croissance des souches
<b>Tableau V</b>	Effet de la température sur la croissance des souches
<b>Tableau VI</b>	Effet de la salinité sur la croissance des souches sur GMM
<b>Tableau VII</b>	Effet de la salinité sur la croissance des souches sur LB
<b>Tableau VIII</b>	Utilisation des osmoprotecteurs comme source de carbone
<b>Tableau IX</b>	Effets des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche <i>Pseudomonas</i> sp. S5 LiBe
<b>Tableau X</b>	Effets des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche <i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe

	Titre	Page
<b>Fig. 1</b>	Structure des principaux solutés compatibles	12
<b>Fig. 2</b>	L'algue marine <i>Ulva lactuca</i>	14
<b>Fig. 3</b>	L'algue marine <i>Cystoseira</i> sp.	15
<b>Fig. 4</b>	Effet du pH sur la croissance des souches	17
<b>Fig. 5</b>	Effet de la température sur la croissance des souches	18
<b>Fig. 6</b>	Effet de la salinité sur la croissance des souches sur GMM	19
<b>Fig. 7</b>	Effet de la salinité sur la croissance des souches sur LB	19
<b>Fig. 8</b>	Effet des osmoprotecteurs sur la croissance des souches	20
<b>Fig. 9</b>	Effet des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche <i>Pseudomonas</i> sp. S5 LiBe en présence du sel.	21
<b>Fig. 10</b>	Effet des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche <i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe en présence du sel	22

## *Introduction*

Parmi les stress abiotiques qui influencent considérablement le domaine de l'agriculture, l'augmentation de la salinité des sols (Shahindul *et al.*, 2013).

La salinité constitue un obstacle majeur pour l'agriculture dans les régions arides et semi-arides provoquant ainsi des perturbations dans les propriétés physico-chimiques des sols et limitant la productivité des plantes (Nabti *et al.*, 2010 ; Ghorai *et al.*, 2013 ; Younesi *et al.*, 2013). Ce problème affecte d'extensives surfaces terrestres à la fois dans les pays développés et non développés (Bianco et Defez, 2011).

Dans le monde, parmi 1,5 milliard d'hectare des surfaces agricoles sur le globe terrestre, 77 millions d'hectare (5%) sont extrêmement affectés par la salinité (Giri *et al.*, 2007). Cette situation s'aggrave de plus en plus avec l'augmentation globale des niveaux des eaux de mer (Shahindul *et al.*, 2013).

Plusieurs efforts sont maintenant fournis par les gouvernements et les chercheurs afin de minimiser les risques liés à ce problème. Ainsi, l'inoculation des bactéries libres dites PGPR, de l'anglais : « *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* » présente une alternative à l'utilisation des produits chimiques pour le développement et la croissance des plantes (Lucy *et al.*, 2004).

Ces dernières années, les PGPR ont gagné beaucoup d'attentions à travers le monde pour leurs effets bénéfiques dans le maintien de la croissance des plantes vis-à-vis de certains stress environnementaux incluant la salinité (Mayak *et al.*, 2004). Ces bactéries peuvent réduire les effets de ce type du stress par des mécanismes directs et/ou indirects (Ahmad *et al.*, 2008).

L'adaptation des bactéries aux milieux salins nécessite l'utilisation de divers solutés compatibles organiques ou inorganiques pour maintenir leur pression osmotique (Roberts, 2005).

Les algues marines appartiennent au règne végétal. Elles sont utilisées dans l'agriculture moderne comme fertilisants chimiques pour développer le rendement des cultures (Webster et Bourne, 2007). Les algues marines sont à l'origine de différentes sources d'énergie et de carbone, elles sont riches en substances osmoprotectrices (Glycine bêtaïne et Diméthylsulfoniopropionate) qui sont utilisées par plusieurs bactéries afin de challenger le stress salin (Ghoul *et al.*, 1995). Plusieurs études sont menées sur l'utilisation des algues marines comme osmoprotecteurs chez différentes souches bactériennes (Ghoul *et al.*, 1995 ; Nabti *et al.*, 2010).

C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés à réaliser ce présent travail. Ce dernier porte sur l'étude de l'effet des osmoprotecteurs (glycine bêtaïne, proline, extraits hydro-alcooliques d'*Ulva lactuca* et extraits hydro-alcooliques de *Cystoseira* sp.) sur la croissance de deux souches bactériennes d'intérêt agricole *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe

## **1. La rhizosphère et les PGPR.**

### **1.1. Le sol :**

Le sol est défini d'une manière générale comme le produit remanié et organisé de l'altération de la couche superficielle de la croûte terrestre (Soutter et Musy, 1991). C'est un environnement complexe caractérisé par sa grande diversité en organismes notamment les microorganismes sa composition chimique et sa structure physique complexe (Wild, 1993).

### **1.2. Rhizosphère**

Le terme "rhizosphère" tire son origine du grec "rhizo" ou "rhiza" signifiant "racine" et "sphère" qui est le champ d'action ou d'influence. Cette zone est composée de trois parties : l'endo-rhizosphère (intérieur de la racine), le rhizoplan (surface racinaire) et l'exo-rhizosphère ou le sol rhizosphérique (sol lié aux racines par opposition au sol distant) (Gray and Smith, 2005).

La rhizosphère est une zone du sol entourant la racine. Elle est très riche en nutriments et colonisée naturellement par plusieurs bactéries et champignons bénéfiques ou pathogènes pouvant avoir un impact sur la croissance et le rendement des plantes (Hilali *et al.*, 2001). La rhizosphère apparaît comme un environnement écologique versatile et dynamique caractérisé par plusieurs interactions entre les plantes, le sol et les microbes (Mayak *et al.*, 2004).

### **1.3. Les PGPR :**

Les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) forment un groupe de bactéries telluriques qui colonisent activement les racines des plantes tout en favorisant leur croissance (Upadhyay *et al.*, 2012a).

Leurs effets bénéfiques s'expriment par l'augmentation significative du rendement des cultures agricoles (céréales, les légumes secs, les oléagineux et les cultures de plantation etc.) (Biswas *et al.*, 2000).

Diverses souches appartenant aux genres : *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Serratia*, *Beijerinckia*, *Burkholdria*, *Anterobacter*, *Flavobacterium* sont considérées comme PGPR (Bashan et De-Bashan, 2005).

La présence des PGPR dans la rhizosphère constitue un intérêt incontestable dans la croissance et le développement des plantes, leurs mécanismes stimulateurs de la croissance des plantes sont multiples (Nabti, 2007).

➤ **Mécanismes d'action des PGPR :**

La colonisation des racines par les PGPR peut avoir un effet sur leur croissance à la fois directement et indirectement à travers différents mécanismes (Datta *et al.*, 2011).

Les effets directs ont été communément attribués à la production des phytohormones telles que l'auxine, la gibbérelline et la cytokinine ainsi qu'à l'approvisionnement biologique de l'azote fixé, tandis que les effets indirects incluent la suppression des pathogènes par la production d'antibiotiques et de sidérophores (Bai *et al.*, 2003 ; Mahmoud *et al.*, 2004 ; Ahmed *et al.*, 2005 ; Babaloo, 2010).

**a. Mécanismes directs :**

La stimulation directe de la croissance des plantes par les PGPR peut comprendre les mécanismes suivants :

• **Fixation d'azote :**

L'azote est considéré comme un facteur limitant de la croissance des plantes (Vessey, 2003). Certains PGPR sont capables de fixer l'azote atmosphérique ( $N_2$ ), en le rendant disponible pour la plante (Riggs *et al.*, 2001 ; Parmer et Dadrwal 1999 ; Antoun *et al.*, 1998). La fixation d'azote peut être assurée par des bactéries symbiotiques : *Azotobacter* et *Bacillus* ou non symbiotiques : *Azoarcus* *Burkholderia* et *Pseudomonas* (Reinhold-Hurek *et al.*, 1993 ; Estrada de los Santos *et al.*, 2001 ; Mirza *et al.*, 2006 ; Bhattacharyya *et Jha*, 2012).

• **Production de phytohormones :**

Les PGPR peuvent altérer l'architecture racinaire et stimuler le développement et la croissance d'une plante par la production de différentes phytohormones comme l'Acide Indol-3-Acétique (AIA ou auxine), l'acide gibbérellique (ou la gibbérelline) et la cytokinine (Kloepper *et al.*, 2007). A titre d'exemple : *Pseudomonas fluorescens*, *Paenibacillus polymyxa* et *Rhizobium leguminosarum* sont des bactéries productrices de cytokinine et certaines souches de *Bacillus* sp. produisent la gibbérelline (Noel *et al.*,

1996 ; Timmusk *et al.*, 1999 ; Gutierrez-Manero *et al.*, 2001 ; Garcia de Salamone *et al.*, 2001). L'éthylène (hormone de maturation) est une de type endogène produite par, presque, toutes les plantes (Saleem *et al.*, 2007). Cependant sa production doit être minimale car au-delà d'une certaine concentration il peut induire l'inhibition de la croissance des racines et la chute des poils absorbants (Hussain *et al.*, 2013).

- **Solubilisation du phosphate :**

Le phosphate est l'un des nutriments les plus essentiels pour le développement des graines et la croissance des plantes (Wua *et al.*, 2005). Le sol contient un large réservoir de phosphate sous forme insoluble mais les plantes ne peuvent l'utiliser que sous ses deux formes solubles : le phosphore monobasique ( $H_2PO_4^-$ ) et le phosphore dibasique ( $HPO_4^{2-}$ ) (Glass, 1989 ; Yazadani *et al.*, 2009 ; Bhattacharyya *et Jha*, 2012).

Selon la littérature, les souches les plus solubilisatrices de phosphate appartiennent aux genres : *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Serratia* (Sturz et Nowak 2000 ; Sudhakar *et al.*, 2000 ; Mehnaz et Lazarovits, 2006).

- **Production des sidérophores :**

La production des sidérophores (protéines fixatrices du fer) dans la rhizosphère est l'un des mécanismes les plus importants pour la croissance des plantes (Vessey, 2003). Ce mécanisme est pratiqué par certaines PGPR telles que *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium leguminosarum*, *Sinorhizobium meliloti* et *Rhizobium meliloti* (Carson *et al.*, 2000 ; Arora *et al.*, 2001 ; El-Tarabily et Sivasithamparam 2006).

**b. Mécanismes indirects :**

- **Compétition pour l'espace et les nutriments :**

De nombreux PGPR peuvent éliminer la croissance de divers phytopathogènes en entrant en compétition pour l'occupation de la surface et l'utilisation des nutriments comme sources d'énergie (Jing *et al.*, 2007).

- **Antibiose**

La plupart des PGPR peuvent produire des métabolites à propriétés soit antifongiques tels que : les phénazines, la pyrrolnitrine, le 2, 4-diacétylphloroglucinol (DAPG), la pyoluteorine, le viscosinamide ou bien antibactériennes synthétisés par quelques bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Azospirillum* d'où leurs rôles dans

l'élimination des phytopathogènes (Weller, 1988 ; Park and Kloepper, 2000 ; Joo *et al.*, 2005 ; Russo *et al.*, 2008 ; Bhattacharyya et Jha, 2012).

- **Production des enzymes :**

Divers PGPR produisent des enzymes (amylases, arylsulphatases, cellulases, chitinases, déshydrogénases, phosphatases, protéases et uréases) afin d'hydrolyser une large variété de polymères tels que la chitine, la cellulose et les protéines (Caldwell, 2005).

- **La résistance systémique induite (ISR Induced Systemic Resistance) :**

Divers PGPR ont la capacité d'induire une résistance contre un spectre large de phytopathogènes (Kloepper *et al.*, 2004 ; Elbadry *et al.*, 2006). Cette défense immunitaire peut être induite chez certaines plantes par divers PGPR y compris des Gram positif appartenant au genre *Bacillus*, des Gram négatif tel que *Pseudomonas fluorescens* et certaines entérobactéries tel que *Serratia marcescens* (Liu *et al.*, 1995 ; Ruy *et al.*, 2004 ; Elbadry *et al.*, 2006).

- **La tolérance systémique induite (IST Induced Systemic Tolerance) :**

De nombreux stress causés par les conditions complexes de l'environnement tels que les radiations ultra-violet, la température (soit élevée ou basse), la congélation, la sécheresse, la salinité et la teneur en métaux lourds conduisent à des pertes substantielles dans la productivité des cultures agricoles (Boyer, 1982 ; Mahajan et Tuteja, 2005 ; Mittler, 2006). Toutes les plantes sont connues pour percevoir et réagir aux signaux du stress comme la sécheresse, la chaleur, la salinité, les herbivores et les pathogènes (Bohnert *et al.*, 1995 ; Bartels et Sunkar, 2005).

Certaines bactéries peuvent favoriser la croissance des plantes et les protéger contre des stress abiotiques (Egamberdiyeva, 2009).

Plusieurs genres bactériens, y compris les *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Burkholderia* peuvent améliorer la croissance des légumineuses et des cultures dans des conditions de stress abiotique (Boyer, 1982 ; Yildirim et Taylor, 2005 ; Barassi *et al.*, 2006 ; Egamberdieva et Kucharova, 2009).



## **2. Salinité et osmorégulation :**

### **2.1. Salinité**

La salinité des sols est un facteur du stress environnemental (abiotique) posant une menace pour l'agriculture et pour l'approvisionnement en nutriments limitant ainsi la productivité et la croissance des plantes surtout dans les régions arides et semi-arides (Munns, 2002 ; Flowers, 2004 ; Nabti *et al.*, 2010 ; Idikut *et al.*, 2012).

Couramment, plus de 800 millions hectares des terres à travers le monde sont affectées par des niveaux élevés en sel (Munns et Tester, 2008).

La salinité du sol résulte de l'irrigation pratiquée et de l'utilisation des engrais chimiques ce qui conduit à une augmentation de la teneur en ions  $\text{Na}^+$  ou à une diminution de la teneur en  $\text{Ca}^+$  et  $\text{K}^+$  dans le sol (Neel *et al.*, 2002 ; Ibekwe *et al.*, 2010).

#### **2.1.1. Effets de la salinité sur la structure du sol**

Dans le sol, les sels incluent le calcium ( $\text{Ca}^{+2}$ ), le magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), le sodium ( $\text{Na}^+$ ), le potassium ( $\text{K}^+$ ), le chlore ( $\text{Cl}^-$ ), le bicarbonate ( $\text{HCO}^{-3}$ ) et le sulfate ( $\text{SO}^{-2}_4$ ). La concentration élevée en  $\text{Na}^+$  dans le sol peut altérer sa texture basique induisant une diminution de la porosité et par conséquent la réduction de l'aération du sol et de la conduite de l'eau empêchant la plante d'acquérir l'eau nécessaire pour son développement (Mahajan et Tuteja, 2005 ; Porcel *et al.*, 2012).

#### **2.1.2. Effets de la salinité sur les plantes**

La salinité du sol affecte la croissance et le développement des plantes induisant d'énormes pertes dans la production (Cenk *et al.*, 2008 ; Evelin *et al.*, 2009). Ainsi, les conséquences du stress salin sur les végétaux peuvent résulter de trois types d'effets :

##### ***a. Le stress ionique :***

Les effets toxiques des ions tels que le sodium et le chlore présents dans la majorité des sols salins affectent plusieurs processus biochimiques incluant la synthèse protéique, la photosynthèse, la respiration et le métabolisme lipidique (Juniper et Abbott, 1993 ; Parida et Das 2005 ; Munns et Tester, 2008).

##### ***b. Le stress hydrique :***

L'eau est un élément essentiel pour la croissance et le développement des plantes (Shao *et al.*, 2008). Le sel induit un stress osmotique par la limitation de l'absorption de l'eau à partir du sol (Cenk *et al.*, 2008). Ainsi, les plantes cultivées dans les sols salins, à bas potentiel osmotique, sont exposées à une sécheresse physiologique car elles doivent

maintenir le plus bas potentiel osmotique à l'intérieur de leurs cellules pour empêcher l'eau de sortir à partir des racines vers le sol, ce qui nécessite un ajustement osmotique adapté pour que le potentiel hydrique cellulaire demeure inférieur à celui du milieu extracellulaire (Marschner, 1995 ; Adiku *et al.*, 2001 ; Munns, 2009).

***c. Le stress nutritionnel:***

La salinité provoque un déséquilibre en nutriments chez la plante amenant dans la majorité des cas à un dysfonctionnement physiologique et à un déficit vis-à-vis d'un élément nutritif essentiel dans les tissus cellulaires de la plante (Kafi et Damghani, 2000).

**2.1.3. Effets de la salinité sur les bactéries du sol :**

Les communautés microbiennes du sol confèrent un rôle fondamental dans le recyclage des nutriments, dans le volume des matières organiques présentes à l'intérieur du sol et dans le maintien de la production végétative (Hernandez Soriano, 2012). Le stress peut être nuisible pour les microorganismes sensibles et diminue l'activité des cellules vivantes vue la charge métabolique imposée par le besoin en mécanismes de tolérance au stress (Schimel *et al.*, 2007 ; Yuan *et al.*, 2007 ; Ibekwe *et al.*, 2010 ).

La salinité affecte les bactéries du sol à travers la diminution du potentiel osmotique qui tue les bactéries de génotype sensible et altère la structure et l'activité des microorganismes du fait que leurs membrane cytoplasmique est perméable à l'eau mais pas à d'autres métabolites (Wichern *et al.*, 2006 ; Nabti *et al.*, 2010).

La salinité élevée réduit également la biomasse, la diversité et la richesse en espèces microbiennes (Rietz et Haynes, 2003 ; Wichern *et al.*, 2006 ; Nelson et Mele, 2007 ; Ibekwe *et al.*, 2010).

Certaines études ont mis en évidence l'augmentation de la teneur en carbone et en azote dans des cellules microbiennes soumise au stress salin (Polonenko *et al.*, 1981 ; Saring *et al.*, 1993).

**2.2. Osmorégulation :**

L'osmorégulation consiste à maintenir la pression de turgescence et/ ou le volume cellulaire nécessaire à la croissance et à la multiplication d'un organisme, tandis que l'halotolérance constitue l'adaptation d'organismes vivants à des conditions de salinité élevée (Brown *et al.*, 1986 ; Shivanand et Mugeraya, 2011).

### **2.2.1. Osmorégulation chez les bactéries**

Les bactéries halophiles poussent dans les milieux contenant des concentrations élevées en sel (Shivanand et Mugeraya, 2011). Pour survivre, elles doivent être capables de s'adapter rapidement aux variations abiotiques (Ressel *et al.*, 2009). Généralement, les microorganismes se couvrent de la salinité élevée ou d'une déficience en eau par l'augmentation du cartel des composés osmotiques dans leurs cytoplasme, ce qui les protège contre la déshydratation cytoplasmique (Yancey *et al.*, 1982 ; Csonka, 1989 ; Martins et Santos, 1995 ; Roebler et Müller, 2001 ; Wood *et al.*, 2001 ; Saum et Müller, 2008 ; Averhoff et Müller, 2010). Ces composés sont souvent rapportés comme étant des solutés compatibles (Burg, 1995).

#### ***a. Réponse primaire par accumulation des ions $K^+$ :***

Pendant l'adaptation au stress salin, une accumulation initiale des ions  $K^+$  empêche la plasmolyse. Cette accumulation conduit à la restauration de la pression de turgescence en préservant l'équilibre osmotique et la membrane plasmique avec des forces osmotiques similaires entre le cytoplasme et l'extérieur de la cellule (Elmnasser *et al.*, 2006).

#### ***b. Réponse secondaire par production et accumulation d'osmoprotecteurs :***

Cette stratégie est basée sur l'exclusion du sodium et l'accumulation ou la production de composés organiques de faible poids moléculaire solubles dans l'eau appelés solutés compatibles pour éviter la perte d'eau (Galinski, 1995).

### **2.2.2. Osmorégulation chez les halophytes :**

La grande capacité des halophytes à établir leur statu métabolique régulier leur permet de s'accroître dans un environnement salé (Casas *et al.*, 1993 ; Niu *et al.*, 1993). La collecte du sel à partir du cytoplasme par les vacuoles crée un gradient osmotique élevé à partir de la membrane cytoplasmique (Volkmar *et al.*, 1998). Ce gradient est balancé par l'augmentation de la synthèse des solutés dans le cytoplasme, ce processus est nommé ajustement osmotique (Wyn Jones et Gorham, 1983 ; Mc Cue et Hanson, 1990).

L'ajustement osmotique est une adaptation importante des plantes à la salinité car il les aide à maintenir leur turgescence et leur volume (Volkmar *et al.*, 1998). Il est réalisé en concentrant les ions de  $Na^+$  et de  $Cl^-$  dans des vacuoles par stimulation des pompes à protons ainsi qu'à la synthèse de solutés compatibles (Parida et Das, 2005).

Les solutés compatibles incluent des sucres (tréhalose, saccharose), polyols (sorbitol), acides aminés (proline), bétaines (glycine bétaine) et sulfoniums tertiaires (Diméthylsulfoniopropionate) (Flowers et Colmer, 2008).

### **2.2.3. Solutés compatibles :**

Le terme « solutés compatible » a été introduit par Brown et Simpson en 1972 pour décrire des solutés accumulés qui ne présenteraient pas d'activités inhibitrices, même à des fortes concentrations, vis-à-vis des fonctions enzymatiques. Ils sont donc compatibles avec le métabolisme cellulaire. Les solutés compatibles sont les composés organiques les plus solubles et les plus légers ayant ainsi une polarité élevée (Burg et Ferraris, 2008 ; Shivanand et Mugeraya, 2011).

Ces composés peuvent provenir soit du milieu environnant, soit synthétisés à l'intérieur du cytoplasme (Gutierrez *et al.*, 1995). L'accumulation de ces composés aide au maintien de la pression de turgescence, du volume cellulaire, des concentrations d'électrolytes et d'autres éléments importants pour la prolifération cellulaire (Roberts, 2005). Les solutés compatibles sont aussi considérés comme stabilisateurs de biomolécules et de cellules (Shivanand et Mugeraya, 2011). Roberts (2005) a classé les solutés compatibles selon leurs structures chimiques en trois catégories :

- Les solutés Zwitterion.
- Les solutés Non-chargés.
- Les solutés anioniques.

#### **A. Les solutés Zwitterion :**

Ce sont des solutés ayant une charge neutre.

**A.1. Les bétaïnes :** Ce sont des solutés compatibles retrouvés chez les bactéries halophiles et chez les archaeobactéries (Imhoff et Rodriguez, 1984 ; Shivanand et Mugeraya, 2011).

Il s'agit de la Glycine bétaïne (Rhodes et Hanson, 1993 ; Oren, 2000).

#### **A.2. Les sulfonium tertiaires :**

Le Diméthylsulfoniopropionate (DMSP) est synthétisé comme soluté compatible par plusieurs micro- et macro- algues (Dacey *et al.*, 1987 ; Mason et Blunden, 1989 ; Ghoul, 1990 ; Blunden *et al.*, 1992) (e.g. *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca*). De plus, le DMSP était prouvé comme osmoprotecteur puissant chez les bactéries telle que *Escherichia coli*, *Salmonella thyphimurium* et *Sinorhizobium meliloti* (Galinski, 1995 ; Ghoul *et al.*, 1995 ; Pichereau *et al.*, 1998). Le DMSP est aussi un osmoprotecteur efficace pour les bactéries d'intérêt agricole (Reed, 1983 ; Rhodes et Hanson, 1993).

**B. Les solutés non chargés :**

**B.1. Les sucres et les polyols :**

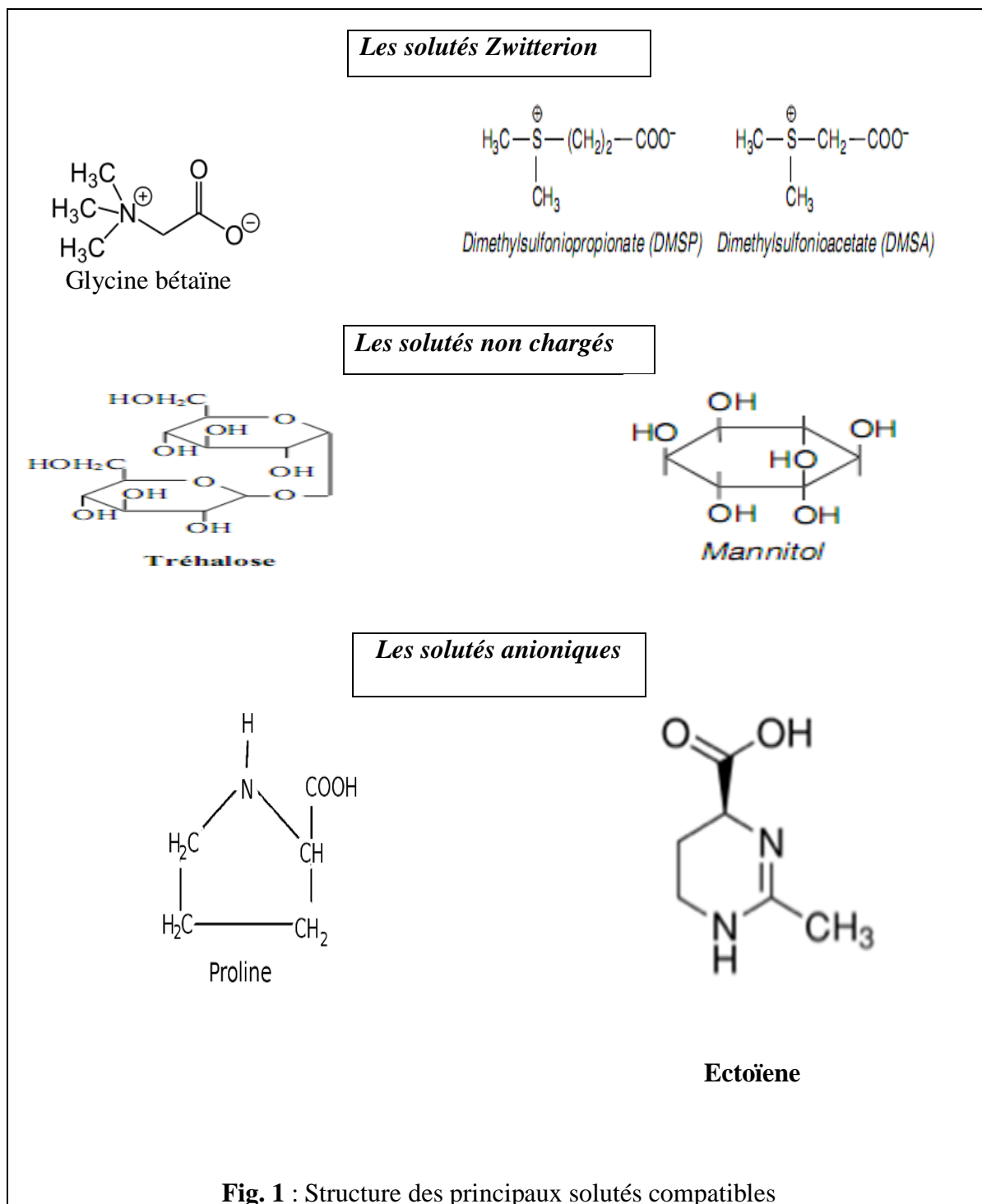
- **Tréhalose :** C'est un disaccharide non réduit utilisé par les microorganismes pour contracter la sécheresse, mais il est aussi utilisé comme un osmolyte protégeant les cellules et les biomolécules des dommages causés par l'osmolarité élevée, la température élevée, et la congélation (Roberts, 2005 ; Reina-Bueno *et al.*, 2012). Il joue un rôle majeur dans la conservation des microorganismes le fait qu'il soit un constituant essentiel de leurs membranes (Empadinhas et Costa, 2008). De plus, le tréhalose constitue une source de carbone et d'énergie (Argüelles, 2000 ; Elbein *et al.*, 2003 ; Paul *et al.*, 2008).
- **Mannitol :** C'est l'hexose le plus répandu dans la nature (plantes, champignons, algues, bactéries etc.) (Wisselink *et al.*, 2002). Il est synthétisé lors de la réponse au stress salin et à la sécheresse et fonctionne comme soluté compatible chez un grand nombre d'organismes. *Pseudomonas putida* est la seule bactérie décrite, à ce jour, comme capable de synthétiser le mannitol comme soluté compatible (Davison et Reed, 1985 ; Loescher *et al.*, 1992 ; Tarczynski *et al.*, 1993 ; Mostaert *et al.*, 1995 ; Stoop et Mooibroek, 1998 ; Abebe *et al.*, 2003 ; Sand *et al.*, 2013).

**C. Les solutés anioniques :** Les solutés anioniques ont une charge négative et comprennent :

**C. 1. Les acides aminés anioniques et leurs dérivés :**

- **Proline :** C'est un soluté compatible synthétisé par une grande variété de microorganismes et de plantes (Wood *et al.*, 2001). Dans les tissus des plantes cultivées sur milieu dépourvu de sel, la proline se trouve avec une teneur habituellement faible, mais elle s'accumule de façon spectaculaire en réponse au stress salin (Larher *et al.*, 2000). De plus, la proline est susceptible de jouer un rôle capital comme soluté osmorégulateur chez les plantes exposées aux stress hyper osmotique tel que la sécheresse (Delauney et Verma, 1993).
- **Ectoïne** L'acide 1,4,5,6- tetrahydro-2-méthyl-4-pyrimidinecarboxylique) ou éctoïne est l'un des solutés osmotiques communs chez les bactéries (Shivanand et Mugeraya, 2011). Découvert pour la première fois chez *Ectothiorhodospira halochloris*, bactérie photosynthétique halophile, l'éctoïne est par la suite retrouvé chez des bactéries halophiles et halotolérantes (Rothschild et Mancinelli, 2001).

Ces dernières années, les éctoïnes ont gagné beaucoup d'attentions en biotechnologie comme agents protecteurs d'enzymes, d'ADN et de cellules contre différents stress tels que la congélation, la sécheresse et la température élevée (Shivanand et Mugeraya, 2011).



Ce présent travail a été réalisé au Laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelables-équipe Biomasse et Environnement (LMER-BE) durant une période de trois mois. L'effet des osmoprotecteurs sur la croissance de deux souches *Pseudomonas* sp.S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe en présence du NaCl a été étudié dans le cadre de ce travail.

## 1. Souches bactériennes

Les deux souches étudiées ont été aimablement fournies par l'équipe du laboratoire d'accueil, elles ont été isolées et phyllo-génétiquement identifiées.

**Tableaux I** : Les souches bactériennes utilisées dans le travail :

Code de la souche	Résultat de l'identification	Source
<i>S5LiBe</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	A partir de l'eau de puits
<i>S7LiBe</i>	<i>Bacillus</i> sp.	A partir du sol

### 1.1. Description des genres bactériens

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula. Il regroupe des bacilles Gram négatif non capsulés, asporulés, mobiles par ciliature monotriche, aérobies strictes catalase (+), oxydase (+) avec exception, ayant un diamètre de 0,5 à 1 µm sur 1,5 à 5µm de longueur (Bell-Perkins et Lynch, 2002 ; Messai *et al.*, 2007).

Le genre *Bacillus* a été établi par Cohn en 1872. Il englobe des bâtonnets droit ou légèrement incurvés, à Gram positif de 0,9 à 10 µm de longueur, immobiles ou mobiles par flagelles péritriches, aérobies ou anaérobies facultatifs, catalase (+) avec réponse variable à l'oxydase (De Vos *et al.*, 2009).

**Tableau II** : Taxonomie des genres bactériens étudiés

	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
Phylum	Proteobacteria	Firmicutes
Classe	Gammaproteobacteria	Bacilli
Famille	Pseudomonaceae	Bacillaceae
Ordre	Pseudomonales	Bacillales



## 2. Algues marines :

### 2.1. *Ulva lactuca* :



**Fig. 2 :** L'algue marine *Ulva lactuca*  
([www.euralga.com](http://www.euralga.com) consulté le 07/04/2015)

### Échantillonnage :

Le prélèvement de l'algue marine *Ulva lactuca* est effectué dans la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat) au mois d'Avril 2015. Deux échantillons sont collectés à l'aide d'un couteau stérile, puis sont mis dans des boîtes en verre stériles contenant l'eau de mer environnante et directement transportés au laboratoire dans une glacière (4°C).

### 2.2. *Cystoseira* sp.



**Fig3 :** L'algue marine *Cystoseira* sp.  
([www.euralga.com](http://www.euralga.com) consulté le 07/04/2015)



**Echantillonnage :**

Durant cette étude, l'algue marine *Cystoseira* sp. est utilisée sous forme de poudre. Elle est issue d'une récolte réalisée durant l'année 2014 par l'équipe du laboratoire (LMER).

**3. Matériel et produits chimiques utilisés :**

Eppendorfs, Micropipette, pH mètre, Spectrophotomètre, Centrifugeuse.

Proline (BIOCHEM Chemopharma®), Glycine bêtaïne (Fluka®).

**4. Préparation des inocula bactériens:**

Un volume de 5 ml de bouillon nutritif estensemencé par une culture fraîche (24h) des souches de *Pseudomonas* sp. S5 LiBe et *Bacillus* sp.S7 LiBe. Après incubation à 28°C/24h, les cultures sont centrifugées à 4000 rpm/10 min. Les culots obtenus sont ensuite lavés trois fois puis repris dans 5ml d'eau physiologique stérile (9g/l NaCl). Les suspensions bactériennes lavées serviront à inoculer les différents milieux de cultures.

**5. Conditions physico-chimiques**

Chaque test est répété en triplicata

**5.1. pH optimal**

Le milieu GMM est préparé à des pH allant de 5 à 10,5 sur un gradient de 0,5. Il est stérilisé à 120° C/ 15 mn. Dans des eppendorfs stériles, 1ml du milieu GMM (pour chaque pH) est versé. Par la suite, 10µl de la suspension bactérienne sont ajoutés. Ce test est réalisé en triplicata sur chaque souche (S5 et S7). L'incubation est effectuée à 30°C/48 h.

**5.2. Température optimale :**

Dans des eppendorfs stériles, 1ml du milieu GMM est versé et 10µl de la suspension bactérienne sont ajoutés par la suite. Ce test est réalisé en 3 répétitions pour chaque souche (S5 et S7). L'incubation est faite à des températures différentes de 4°C, 20°C, 28°C, 32°C, 35°C, 37°C, 40°C et 44°C/ 48 h.

**5.3. Salinité (Na Cl) :**

Ce test est réalisé sur deux milieux GMM et LB préparés à des concentrations différentes en Na Cl.

Afin de déterminer la concentration maximale en NaCl tolérée par S5 et S7, 10µl de chaque suspension bactérienne lavée ont servi à inoculer 1ml du milieu LB ou GMM salés préparés à des concentrations en NaCl allant de 0 mM jusqu'à 2M du milieu GMM.

La croissance bactérienne dans les différents eppendorfs est déterminée par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 600 nm après incubation à 28°C/48h.

La concentration maximale tolérée correspond à la plus forte concentration en NaCl permettant la croissance bactérienne.

## **6. Culture des souches :**

### **6.1. Utilisation des osmoprotecteurs comme source de carbone :**

1ml du milieu GMM est versé dans chaque eppendorf stérile auquel 10µl des suspensions bactériennes de S5 ou de S7 avec 20µl de chaque solution d'osmoprotecteurs (GB, Pro, Ulv et Cyst) sont ajoutés. L'incubation est réalisée à 28°C/24h (Ghoul, 1990).

### **6.2. Effet des osmoprotecteurs sur l'halotolérance des souches S5 et S7 :**

Les souches S5 et S7 ont servi à étudier l'effet du NaCl sur leur croissance en présence et en absence d'osmoprotecteurs comme témoin négatif.

Des solutions-mère de chaque osmoprotecteurs sont préparées à raison de 100 mM puis stérilisées à travers une membrane type Millex (porosité : 0,22 µm). Elles sont ensuite ajoutée au milieu GMM salé ou non à une concentration finale de 1 mM (Ghoul, 1990). 970µl du milieu GMM à différentes concentrations en NaCl (100, 200, 300, 400, 500 et 600) sont répartis dans des eppendorfs stériles. 20µl de chaque osmoprotecteurs avec 10µl de la suspension bactérienne de S5 ou de S7 sont ajoutés séparément.

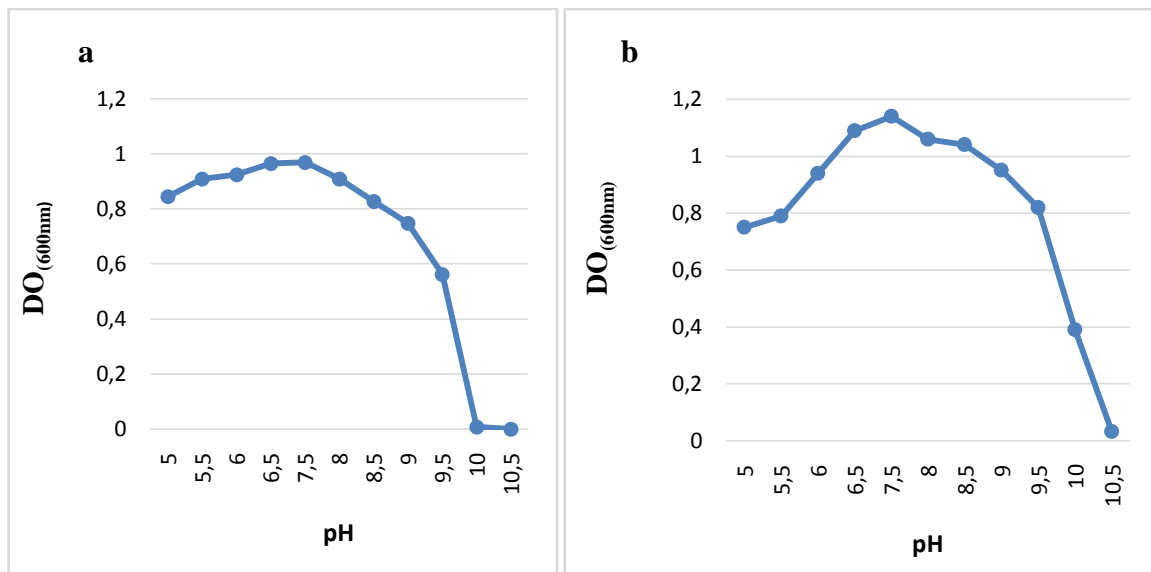
La croissance bactérienne est déterminée par spectrométrie après incubation à 28°C/3 jours.

L'effet osmoprotecteurs de la molécule testée est estimé en par comparaison des valeurs de la  $DO_{(600nm)}$  finale avec celles des témoins sans osmoprotecteurs.

## 1. Optimisation de la croissance des souches :

### 1.1. pH optimal

Les résultats du pH obtenus sur milieu GMM sont présentés dans les (Fig. 4 a et b) pour la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7 LiBe, respectivement.



**Fig.4 : Effet du pH sur la croissance des souches**

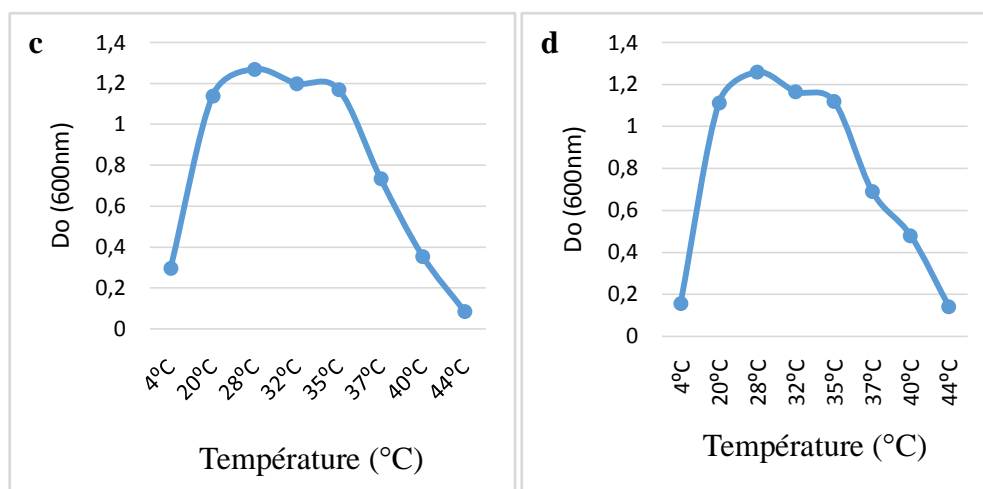
a) *Pseudomonas* sp.S5LiBe, b) *Bacillus* sp.S7LiBe.

La croissance optimale de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe est enregistrée entre des pH de 6,5 et 8 (pH opt.=7,5). Un milieu alcalin (pH=10) inhibe complètement la croissance (Fig. 4-a).

Le même cas est observé chez la souche *Bacillus* sp.S7LiBe, sa croissance est meilleure à un pH optimal de 7,5. Alors qu'elle est inhibée à pH alcalin (10,5) (Fig. 4-b).

### 1.2. Température

Les résultats de l'effet de la température étudié sur milieu GMM pour les deux souches *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe sont illustrés dans les (Fig. 5-c et d) respectivement.



**Fig.5 : Effet de la température sur la croissance des souches**

c) *Pseudomonas* sp. S5 LiBe, d) *Bacillus* sp. S7 LiBe.

Pour les deux souches *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7 LiBe, une température située entre 20 et 32°C permet une meilleure croissance, avec un maximum à 28°C correspondant à la température optimale (**Fig.5 c et d**).

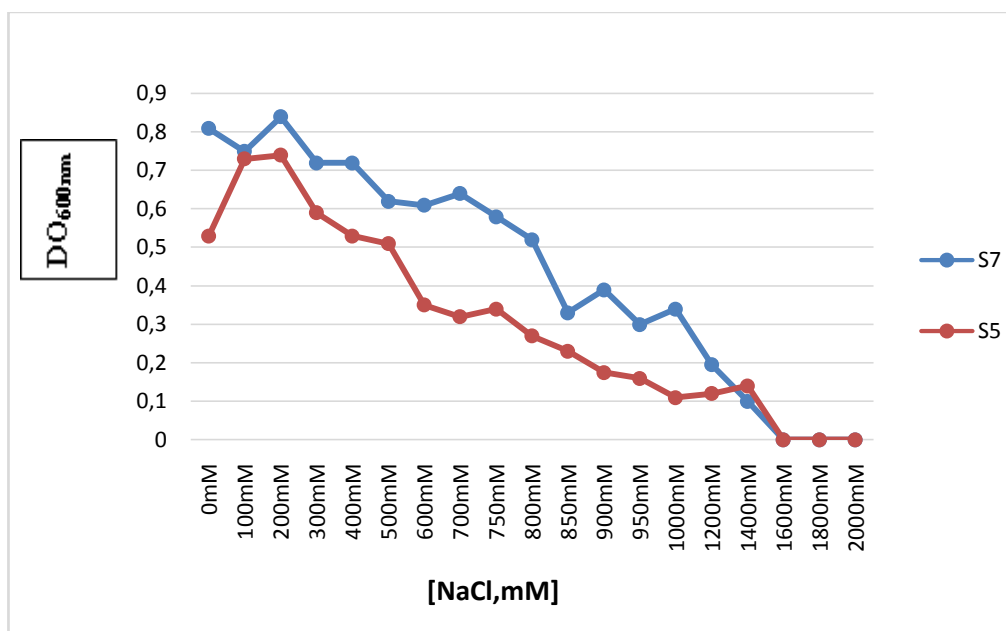
### 1. 3. Salinité (Na Cl) :

Les résultats de l'effet du NaCl sur la croissance des deux souches *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe sur les deux milieux GMM et LB sont présentés dans la **Figure.6** et la **Figure.7** respectivement.

#### 1.3.1. Halotolérance des souches étudiées sur GMM :

L'effet de la salinité sur la croissance des deux souches *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S5LiBe sur GMM est étudié sur une gamme de concentration allant de 0 à 2000 mM en NaCl. Les résultats obtenus sont donnés dans la figure 6.

Sur milieu GMM, la croissance maximale des deux souches étudiées *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe intervient à 200 mM. Au de-là, la croissance ralentie et diminue jusqu'à ce qu'elle s'annule à une concentration de 1600mM en NaCl (**Figure.6**).

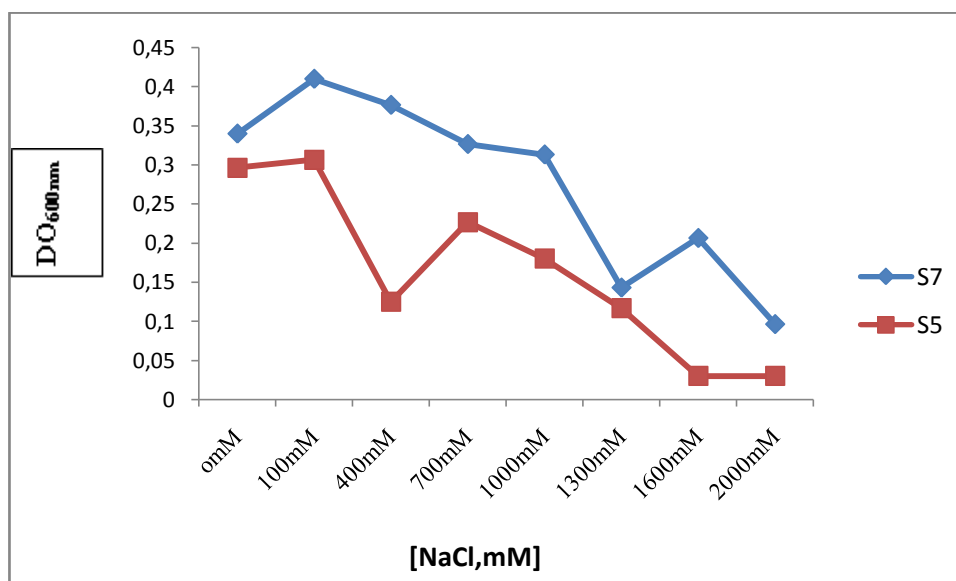


**Fig.6 : Effet de la salinité sur la croissance des souches sur GMM**

S5 : *Pseudomonas* sp. S5LiBe; S7 : *Bacillus* sp. S5LiBe

### 1.3.2. Halotolérance des souches étudiées sur LB

L'effet de la salinité sur la croissance des deux souches *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S5LiBe sur LB est étudié sur une gamme de concentration allant de 0 à 2000 mM en NaCl. Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure 7.



**Fig.7 : Effet de la salinité sur la croissance des souches sur LB**

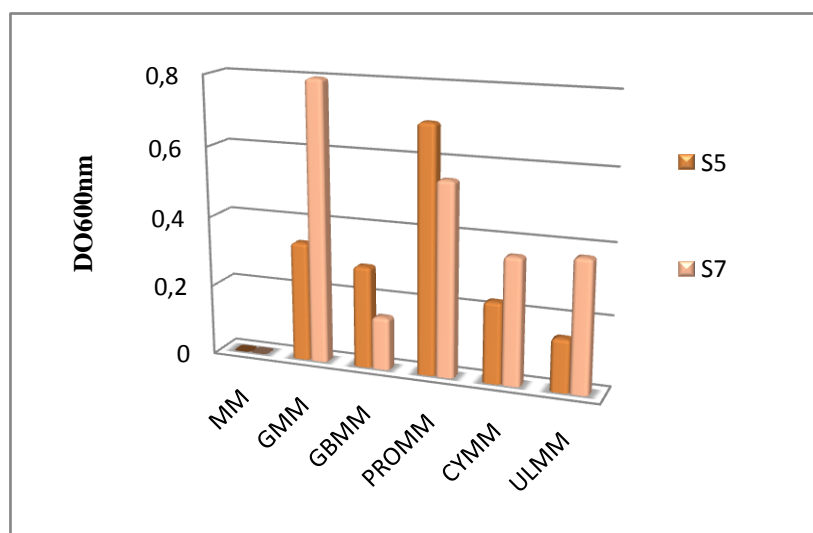
S5: *Pseudomonas* sp. S5LiBe; S7: *Bacillus* sp. S7 LiBe

Sur milieu LB, les deux souches de *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp.S7LiBe (Fig.7) poussent même à une concentration de 0mM car ce milieu est riche et il contient initialement du Na et du Cl. Leur croissance est optimale à une concentration de 100mM NaCl. Au-delà de cette concentration, la croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe diminue jusqu'à ce qu'elle s'annule au voisinage de 1600 mM. Alors que *Bacillus* sp. S7LiBe tolère jusqu'à 2M NaCl.

## 2. Effets des osmoprotecteurs

### 2.1. Utilisation d'osmoprotecteurs comme source de carbone

L'utilisation d'osmoprotecteurs comme source de carbone chez les deux souches *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe est étudiée sur milieu GMM additionné séparément du glucose seul, glycine bêtaïne, proline, extraits hydro-alcoolique d'*Ulva lactuca* et des extraits hydro-alcoolique de *Cystoseira* sp.



**Fig.8 : Effet des osmoprotecteurs sur la croissance des souches**

S5 : *Pseudomonas* sp.S5LiBe et S7 : *Bacillus* sp.S7LiBe sur milieu GMM.  
 MM : Milieu Minimum, G : Glucose, GB : Glycine Bêtaïne, PRO : Proline, CY : *Cystoseira* sp., UL : *U. lactuca*

Le carbone est un élément essentiel pour la survie des bactéries. Les souches de *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe utilisent le glucose et les osmoprotecteurs comme source de carbone (Fig.8).

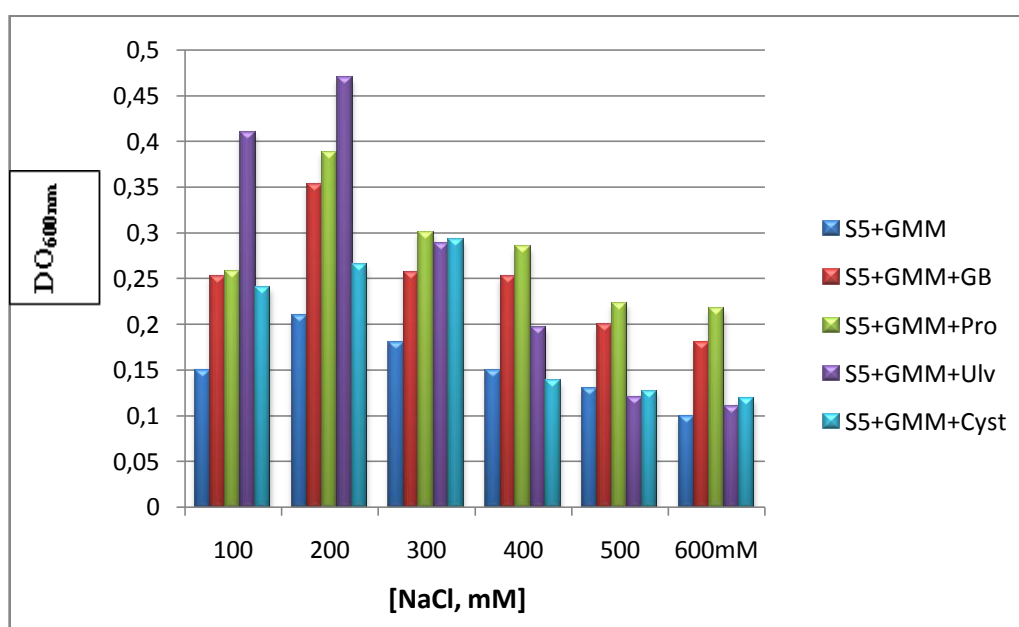
L'addition de ces osmoprotecteurs au milieu GMM en présence de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe montre que cette dernière utilise la proline en grande quantité, tandis que la glycine bêtaïne et les extraits hydro-alcooliques des deux algues marines (*Cystoseira* sp. et *Ulva lactuca*) sont utilisées en faible quantité comparée au glucose.

*Bacillus* sp. S7LiBe utilise le glucose en grande quantité comme source de carbone en comparant avec l'utilisation de la proline, des extraits hydro-alcooliques des deux algues marines *Ulva lactuca* et *Cystoseira* sp. Quant à la glycine bétaine, elle est utilisée en très faible quantité (Fig.8).

## 2.2. Effet des osmoprotecteurs en présence du NaCl

### 2.2.1. Sur la croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe

L'étude de la croissance de *Pseudomonas* sp. S5LiBe sur milieu additionné, ou non, du NaCl est réalisée sur des concentrations en allant de 100 à 600 mM. Les résultats obtenus sont donnés dans la figure 9.



**Fig. 9 : Effet des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe en présence du sel.**

Chez la souche *Pseudomonas* sp. S5 LiBe, tous les solutés utilisés comme osmoprotecteurs ont eu un effet protecteur important.

Le taux de croissance est élevé en présence d'osmoprotecteurs en comparant à celui obtenu sur milieu GMM (Fig.9).

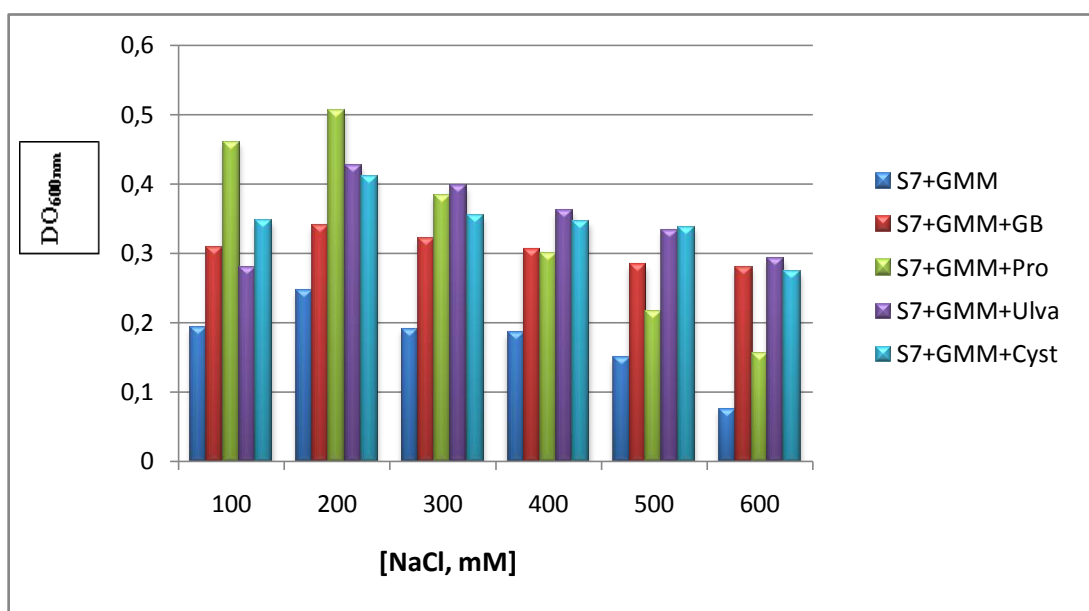
A une concentration de 200mM NaCl, la croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe est optimale en présence de la glycine bétaine, la proline et les extraits hydro-alcooliques d'*Ulva lactuca* qui ont osmoprotégé efficacement la souche testée.

L'algue brune *Cystoseira* sp. fournit à la souche testée une meilleure croissance à une concentration de 300 mM NaCl.

Concernant la glycine bêtaïne et la proline, elles ont prolongé la croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe à des concentrations salines élevées (jusqu'à 600 mM NaCl). Ils restaurent la croissance de la souche mieux que les extraits hydro-alcooliques des deux algues marines (*Ulva lactuca* et *Cystoseira* sp.).

### II.2.2. Sur la croissance de *Bacillus* sp. S7 Li Be

L'étude de l'effet de la salinité en présence d'osmoprotecteurs est réalisée en présence de différentes concentrations en NaCl allant de 100 à 600mM. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 10.



**Fig.10 : Effet des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche *Bacillus* sp. S7LiBe en présence du sel**

En présence de NaCl, la souche *Bacillus* sp. S7LiBe a utilisé les osmoprotecteurs (Proline, *Ulva lactuca*, Glycine bêtaïne et *Cystoseira* sp.) mieux que le glucose.

La croissance de la souche *Bacillus* sp. S7LiBe est optimale à une concentration de 200mM NaCl pour tous les osmoprotecteurs dont la proline est utilisée mieux que les autres (**Fig. 10**).

Les extraits d'algues et la glycine bêtaïne ont permis de prolonger la croissance de cette souche jusqu'à 600mM mieux que la proline.



## 1. Optimisation de la croissance des souches :

### 1.1. pH

Le pH de croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe intervient sur un intervalle large (6,5- 8) dans lequel l'optimum est enregistré à 7,5. Ce résultat est identique à celui de *Pseudomonas halodurans* ayant un pH optimal (6,5-8) et il est proche de ceux de *Pseudomonas albossanae* (6-8), de *Pseudomonas syzygii* (6-7,5) (Roberts *et al.*, 1992 ;Arthur, 1983). *Pseudomonas fluorescence* présente un très large intervalle de pH allant de 4 jusqu'à 8,8 (Yoschihara *et al.*, 1990).

*Pseudomonas duriflava* sp. nov., présente un intervalle de 7.0-8.0 pour sa croissance optimale (Liu *et al.*, 2008). *Pseudomonas putida* (B0) est une rhizobactérie présentant un large intervalle de pH de (3–12) dont l'optimum se situe à 8.0 (Pandey *et al.*, 2006).

Concernant le pH de la croissance de la souche *Bacillus* sp. S7LiBe, il intervient dans un large intervalle de (6,5-8) avec un optimum 7,5. Ce résultat apparait inférieur à celui de la souche *Bacillus* sp. CK 11-4 ayant un pH optimum de 10,5 (Kim *e tal.*, 1996). Le pH optimal de la souche S7 est proche à celui de *Bacillus subtilis* où le pH de croissance varie entre (6,2-8,2) et supérieur à celui de *Bacillus firmus* et *Bacillus coagulans* ayant un pH (4-5) et à celui de *Bacillus cereus* (4,3- 5,6) et de *Bacillus megaterium* (4,5-6,8) (O'Leary, 1989).

### 1.2. Température

La croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe s'étale sur un intervalle de (20-32°C) avec un optimum de 28°C. Cette température de croissance est proche de celle de *Pseudomonas albossanae* (25-35°C) et de *Pseudomonas halodurans* (20-25°C) (Roberts *et al.*, 1992 ; Arthur, 1983). Les souches de *Pseudomonas fluorescence* se développent dans un intervalle assez large (13-38°C) (Yoschihara *et al.*, 1990). *Pseudomonas duriflava* sp. nov., isolée à partir du désert en chine présente un intervalle de température de croissance entre 30–37°C (Liu *et al.*, 2008).

Quant à la température de croissance de *Bacillus* sp. S7LiBe, elle se situe dans un intervalle de 20 à 32°C avec un optimum de 28°C. Cette température apparait très proche de celles de *Bacillus popilliae* et de *Bacillus lentimorbus* où l'intervalle de température s'étale entre 20 et 35°C (O'Leary, 1989). Les souches de *Bacillus larvae* poussent sur un intervalle assez large allant de 25 jusqu'à 40°C (John, 1994).

Il est bien établi que les bactéries du genre *Bacillus* possèdent une température optimale de croissance varie de 28°C (*Bacillus subtilis*) à 70°C (*Bacillus stearothermophilus*) (O'Leary, 1989).

### 1.3. Salinité (Na Cl)

#### ➤ Sur milieu GMM :

L'étude de l'effet de la salinité sur la croissance de *Pseudomonas* sp. S5LiBe sur milieu GMM montre que son optimum de croissance est à 200 mM NaCl (soit 1,2%). Mais au-delà de cette concentration, la croissance de la souche S5 diminue jusqu'à ce qu'elle s'annule au voisinage de 1600 mM.

Selon la classification de Kushner et Kamekura (1988), cette souche est modérément halotolérante.

*Pseudomonas putida* BO isolée à en Inde présente un optimum de croissance à 600mM (soit 4%) (Pandey et al., 2006). Une autre étude réalisée sur des bactéries du genre *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère du riz a révélé que les souches de *Pseudomonas* spp, *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* possèdent des optima de croissance respectifs en NaCl : 0,5M NaCl, 1M et 1,5M (Rangarjan et al., 2003).

Il a été également montré que la souche *Pseudomonas* sp. PDMZnCd2003 présente un optimum de croissance de 1M NaCl (soit 6%) (Nakbanpote et al., 2014).

L'étude de l'osmotolérance de la souche *Bacillus* sp.S7LiBe montre bien un optimum de croissance à 200mM NaCl (soit 1,2%). Cette souche est modérément halotolérante (Kushner et Kamekura, 1988).

La souche *Bacillus* sp.WN13 isolée à partir du lac Abu Garaba (Egypt) présente un optimum de croissance de 50g/l en NaCl soit 854 mM (Weisser et Trüper, 1985). Des souches de *Bacillus pumilus* isolées à partir d'un sol salé en Inde présentent une tolérance au sel correspondant à 3% NaCl soit 500mM (Sawale et al., 2013). Des souches de *Bacillus pumilus* : EU927407 et *Bacillus aquimaris* : EU927408 isolées à partir d'un sol salé d'une culture de blé en Inde présentent une tolérance au sel allant jusqu'à 8% soit 1300mM NaCl (Updhyay et al., 2012b). De plus, d'autres souches comme *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus pumilus* présentent un optimum de 7,5% soit 1250mM NaCl (Damodaran et al., 2013).

➤ *Sur milieu LB :*

L'optimum de croissance des deux souches étudiées *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe se situe à 100 mM (soit 0,6 %). Ce résultat est proche de celui de la souche *Pseudomonas duriflava* sp.nov., isolée à partir d'un sol salé du désert en Chine où son optimum de croissance est à 0-1% NaCl sur milieu LB (Rui *et al.*, 2008).

Des souches de *Pseudomonas halophilia* croissent sur un intervalle (0,4 –4) M (soit de 2,4 à 24%) NaCl (Rafaeli, 1968). D'autres souches de *Pseudomonas halodurans* présentent une croissance variable à des concentrations en NaCl allant de 0 à 3,05M soit 18,3% en NaCl (Rosenberg, 1983).

Il est également rapporté que *Pseudomonas pachastrellae* sp. nov., isolée à partir de l'eau de mer, présente une tolérance de 8 à 10% soit 1300-1600 mM NaCl (Romanenko *et al.*, 2005).

Les souches de *Pseudomonas halosaccharolytica* modérément halophiles présentent un intervalle large de croissance sur milieu salé compris entre 5 et 25% soit 0,7 à 3,5M NaCl (Monteoliva-Shanchez *et al.*, 1993).

Une autre souche appelée *Pseudomonas* sp.No.101 isolée à partir du sol présente une tolérance au sel allant jusqu'à 1M (Sleator et Hill, 2002).

Deux souches de *Bacillus* (*B. licheniformis* RBA-E23 et *Bacillus* sp.RBA-E32) isolées de la rhizosphère d'une culture de pomme de terre présentant une croissance optimale à des concentrations en NaCl de 400 et 300mM respectivement (Nabti *et al.*, 2013).

Des souches de *Bacillus pantothenicus*, *Bacillus firmus*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus megatherium* et *Bacillus laterosporus* présentent une halotolérance extrême de 20 à 25% en NaCl soit 3,4 à 4,5M (Garabito *et al.*, 1998).

## 2. Effets d'osmoprotecteurs

### 2.1. Utilisation des osmoprotecteurs comme source de carbone

Pour que les substances testées exercent un effet osmoprotecteur, elles doivent d'abord être utilisées comme source de carbone.

Dans notre étude, il est bien illustré que la souche *Pseudomonas* sp. S5LiBe a utilisé tous les osmoprotecteurs ajoutés au milieu de croissance comme source de carbone.

- La proline :

Les résultats de ce travail ont montré clairement l'utilisation de la proline en grande quantité par les souches. Ces résultats sont donc en accord avec ceux de Pichinoty et ses collaborateurs (1977) où des souches de *Pseudomonas stutzeri* utilisent la proline comme seule source de carbone. Une étude faite sur 200 souches bactériennes ont révélé que la proline intervient en première classe dans la liste des acides aminés utilisés comme seule source de carbone avec un pourcentage de 88% du total des bactéries testées (Berland *et al.*, 1976).

Différentes études ont également montré que des souches de *Pseudomonas* spp. assimilent des composés aminés notamment des acides aminés comme seule source de carbone (Misaghi et Grogan, 1969; Palleroni, 1984; Digat et Gardan, 1987; Rayney *et al.*, 1994 ; Grimont *et al.*, 1996 ; Latour, 1996).

Il est bien documenté que la plupart des acides aminés assimilés par *Pseudomonas* spp et *P. fluorescents* par des voies variées qui sont reliées au cycle de Krebs (Latour et Lemanceau, 1977).

Ghelani *et al.* (2014) ont démontré que l'acquisition de la tolérance au stress salin chez des souches de *Pseudomonas stutzeri* est due à l'augmentation de la concentration en proline, tandis que leur thermostabilité est due à l'accumulation élevée du tréhalose.

Une étude faite sur la souche *Peudomonas* sp. ADP montre que cette dernière utilise la proline comme source d'azote (García-Gonzalez *et al.*, 2003). Des souches d'*Escherichia coli* utilisent aussi la L-proline comme source de carbone (Wood et Zadworny, 1980).

Certaines souches de *Salmonella typhimurium* peuvent également utiliser la proline comme source d'énergie, d'azote ou de carbone (Maloy, 1987).

Pour la souche *Bacillus* sp. S7LiBe, elle utilise le glucose comme seule source de carbone mieux que les autres substances (Fig.9). Ce qui corrobore avec les résultats trouvés par Pichinoty *et al.* (1980) où des souches de *Bacillus megaterium* et *Bacillus cereus* utilisent le glucose mieux que la proline et la glycine bêtaïne. Une autre étude réalisée par Durand *et al.* (1979) montre que des souches de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus licheniformis* utilisent la proline comme seule source de carbone.

Une affinité accrue vis-à-vis de la proline a été démontrée chez des souches de *Bacillus subtilis* (Ordal *et al.*, 1978).

- L'extrait hydro-alcoolique d'*Ulva lactuca* est utilisé comme source de carbone par les deux souches testées car il contient des polysaccharides anioniques sulfatés et

carboxylés appelés des ulvanes et qui sont constitués de nombreux sucres dont les principaux sont : L-rhamnose, l'acide D-glucuronique, l'acide L-iduronique, D-galactose, D-glucose et le D-xylose (Wijesekara *et al.*, 2011).

En plus des ulvanes, le DMSP (Diméthylsulfoniopropionate) est considéré comme étant le composé le plus utilisé par les bactéries marines comme source de carbone (Wagner-Döbler et Biebl, 2006 ; Curson *et al.*, 2011).

Ghoul *et al.* (1995) ont mis en évidence dans une étude réalisée sur les extraits d'algues marines et leur effet protecteur sur *Escherichia coli* que cette dernière utilise l'extrait hydro-alcoolique de l'algue marine *Ulva lactuca* non seulement comme osmoprotecteur mais aussi comme source de nutriments et notamment de carbone.

- Les extraits de l'algue brune *Cystoseira* sp. sont utilisés aussi par les deux souches *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe comme source de carbone. Cet extrait contient des polysaccharides sulfatés composés essentiellement d'une répétition d'unités de fucoses sulfatés mais également d'autres sucres neutres (galactose, mannose, xylose) et de l'acide uronique (Wijesinghe et Jeon, 2011). L'acide alginique est aussi un composé polysaccharidique essentiel de l'extrait d'algues brunes qui peut être utilisé par les bactéries comme source de carbone (Cambaut *et al.*, 1976).

Certaines souches appartenant au genre *Pseudomonas* associées avec des algues brunes peuvent dégrader les polysaccharides algaux tels que les ficoïdes et les alginates (Brown et Preston, 1991 ; Nedashkovkaia *et al.*, 2002).

D'autres recherches ont prouvé que certaines algues brunes produisent des composés biologiquement actifs tel que les phlorotannins et le méthoxybifurcarenone ayant un effet inhibiteur or létal sur la croissance bactérienne (Bennamara *et al.*, 1999 ; Nagayama *et al.*, 2002 ; Jun *et al.*, 2015).

## **2.2. Effet d'osmoprotecteurs en présence du NaCl**

L'activité osmoprotectrice d'une bactérie peut être mesurée la capacité des solutés compatibles à stimuler la croissance bactérienne dans des milieux à haute osmolarité (Mac Millan *et al.*, 1999).

Les premières études menées sur l'osmorégulation chez les bactéries ont été réalisées par Christian et Walth (1962) qui ont travaillé sur l'osmorégulation des bactéries halophiles et non halophiles.

Dans ce présent travail, on a opté pour l'étude de l'effet des osmoprotecteurs sur la croissance des souches de *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe en présence des concentrations en NaCl allant de 0 jusqu'à 600mM.

### 2.2.1. Effet sur la croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5Li Be

#### ➤ Glycine bêtaïne

La glycine bêtaïne est le soluté compatible le plus utilisé chez les espèces du genre *Pseudomonas* (D'Souza-Ault *et al.*, 1993 ; Pocard *et al.*, 1994). *Pseudomonas* sp. S5LiBe utilise la glycine bêtaïne comme osmoprotecteur qui restaure sa croissance à des concentrations en sel élevées mieux que les extraits algaux utilisés. Cela est en accord avec la recherche menée par D'Souza-Ault *et al.*, (1993) sur une souche de *Pseudomonas aeruginosa* où un apport exogène de la glycine bêtaïne avec une concentration de 20µM était très efficace pour la croissance de cette bactérie.

Une autre étude réalisée par Bonaterra *et al.* (2007) a révélé que l'amendement en glycine bêtaïne (1%) au milieu minimal de culture préparé à des concentrations de 0, 0.1, 0.3 et 0.7 M NaCl a amélioré la croissance de la souche de *Pseudomonas fluorescens* EPS62e en comparant aux résultats des DO obtenus sur milieu minimal sans glycine bêtaïne. De plus, Huang et ses collaborateurs (2008) confirment que des souches de *Pseudomonas dénitrifiants* accumulent la glycine bêtaïne comme osmoprotecteur. Ceci était rapporté bine avant par Bakhrouf *et al.* (1992) qui démontré l'effet potentiel de la glycine bêtaïne comme osmoprotecteur de *Pseudomonas aeruginosa* en présence de concentrations élevées en NaCl.

Le rôle de la glycine bêtaïne dans l'accroissement de l'osmolarité a été suggéré chez plusieurs bactéries entériques telle *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Sinorhizobium meliloti* (Le Rudulier et Bouillard, 1983 ; Bernard *et al.*, 1986 ; Ghoul, 1990).

#### ➤ L'extrait hydro-alcoolique de *Ulva lactuca* :

*Pseudomonas* sp. S5LiBe utilise les extraits hydro-alcooliques d'*Ulva lactuca* comme osmoprotecteurs préféré par rapport aux autres solutés testés. Les extraits d'*Ulva lactuca* sont riches surtout en DMSP (Diméthylsulfoniopropionate), DMSA (Diméthyl sulfonioacétate) et en acides aminés (Ghoul *et al.*, 1995 ; Pichereau *et al.*, 1996 ; Dickaschat *et al.*, 2015). Différentes études ont prouvé que certaines bactéries marines

utilisent le DMSP comme osmoprotecteur (Kocsis *et al.*, 1998 ; Ansedé *et al.*, 1999 ; Kienea *et al.*, 2000 ; Ansedé *et al.*, 2001).

Quelques exceptions sont observées chez certaines espèces de *Pseudomonas*, comme par exemple *Pseudomonas doudoroffii* ATCC 27123 qui n'utilise pas le DMSP et la glycine bêtaïne comme substrats de croissance mais elle l'utilise comme osmoprotecteur (De-Souza et Yoch, 1995).

Nabti *et al.* (2007) a rapporté que chez *Azospirillum brasilense* « NH », les extraits hydro-alcooliques de l'algue marine *Ulva lactuca* apportent une meilleure osmoprotection que celle de la glycine bêtaïne.

➤ **La proline**

L'ajout de la proline au milieu a permis d'avoir une croissance de *Pseudomonas* sp. S5LiBe presque similaire de celle obtenue avec la glycine bêtaïne. Ces deux acides aminés jouent un rôle très important dans la régulation osmotique des entérobactéries, elles peuvent être accumulées à partir du milieu ou synthétisées par la cellule (Le Rudulier et Bouillard, 1983).

Une étude réalisée par Bakhrouf *et al.* (1992) menée sur l'utilisation des osmoprotecteurs par une *Pseudomonas aeruginosa* a bien montré que cette dernière utilise la glycine bêtaïne en grande quantité suivie de la proline en présence se haute osmolarité, ce qui reflète globalement l'ordre d'efficacité de ces osmolytes pour la régulation osmotique au niveau de ces bactéries (Csonka, 1989). En outre, il a été démontré que chez *Pseudomonas aeruginosa*, l'utilisation de la proline est catalysée par des enzymes telle que la proline-déshydrogénase (Kay et Gronlund, 1969; MeileSoldati et Leisinger, 1982)

Miller et Wood (1996) ont mis en évidence l'existence de certaines espèces du genre *Pseudomonas* qui n'accumulent pas la proline comme soluté compatible.

➤ **L'extrait hydroalcoolique de *Cystoseira* sp. :**

L'algue brune *Cystoseira* sp. a permis la restauration de la croissance de la souche testée à une concentration de 300mM NaCl. Ce qui explique l'efficacité de des extraits de *Cystoseira* sp. comme osmoprotecteurs. Cette osmoprotection est due à la composition de cette algue en solutés compatibles tel que le DMSP et en acides aminés tels que : proline, aspartate, alanine, histidine, sérine, thréonine, phenylalanine, leucine, ornithine, glutamate (Valls et Pioveti., 1995).



Chez les algues marines, le DMSP est synthétisé à partir de la méthionine par la réaction chimique suivante :

Méthionine → 4-méthylthio-2-oxobutyrate → 4-méthylthio-2-hydroxybutyrate → 4-diméthylsulfonio-2-hydroxybutyrate → DMSP (Gage *et al.*, 1997).

Ce dernier est utilisé par les bactéries comme osmoprotecteur après sa dégradation en diméthylsulfide ou DMS (Yoch, 2002).

Les algues brunes contiennent des niveaux élevés en carbohydrates, sels minéraux, composés phénoliques et vitamines pouvant servir comme sources de nutriments pour des bactéries associées en symbiose avec ces algues surtout sur milieu salé (Kanemarska *et al.*, 2002 ; Abdala-Diaz *et al.*, 2006 ; Blunt *et al.*, 2006).

### 2.2.2. Effet sur la croissance de *Bacillus* sp. S7Li Be

Les mécanismes d'osmoadaptation des bacilles rhizosphériques vis-à-vis des sels ont été étudiés pour la première fois par Bremer et ces collaborateurs dans un travail réalisé sur les mécanismes d'osmoadaptation de *Bacillus subtilis* (Bochet *al.*, 1994 ; Kempf et Bremer., 1995).

#### ➤ la proline

La souche *Bacillus* sp.S7LiBe a utilisé la proline en grande quantité comme osmoprotecteur à une concentration de 200mM. Cela est dû à l'adaptation cellulaire au stress salin (Steel et Torrie, 1980 ; Jain *et al.*, 2001). Ainsi, la proline maintient la croissance des isolats bactériens à des niveaux de salinité élevés car elle joue le rôle d'un médiateur de l'ajustement osmotique protégeant les macromolécules contre la déshydratation (Csonka, 1982 ; Miller et Woods, 1996). Chez les Gram positif, la proline peut être accumulée à des concentrations élevées en sel (Empadinhas et Costa, 2009).

Les souches de *Bacillus subtilis* forment un groupe mineur qui accumule la proline comme osmoprotecteur et ils sont incapables de synthétiser d'autres composés osmoprotecteurs (Empadienhas et Costa, 2009).

Selon Nabti *et al.* (2013) ont rapporté les optima de croissance respectifs de 500 et 700 mM NaCl pour *Bacillus licheniformis* RBA-E23 et *Bacillus* sp. RBA-E32 en présence de la proline.

Chez *Bacillus subtilis*, la proline peut être apportée du milieu extérieur grâce à un système de transport spécifique appelé *Opu E* (Wahyudi *et al.*, 2011).



➤ **La glycine bêtaïne**

La souche *Bacillus* sp. S5LiBe utilise également la glycine bêtaïne comme osmoprotecteur. Avec un optimum de croissance 200mM NaCl. Il est bien rapporté que les souches de *Bacillus* spp. sont capables de pousser sur des milieux à très forte pression osmotique due à l'accumulation d'osmolytes tel que la glycine bêtaïne (Loshon *et al.*, 2006).

Jebbar *et al.*, (1997) ont révélé que la souche *Bacillus linins* utilise la glycine bêtaïne comme osmoprotecteur, mais ce substrat est issu de la transformation de la L-carnitine sur milieu salin. Ce même osmoprotecteur est prouvé comme protecteur des cellules de *Bacillus subtilis* et il peut être accumulé jusqu'à 500mM (Whatmore *et al.*, 1990 ; Boch *et al.*, 1994 ; Holtman et Bremer, 2004).

Deux souches du genre *Bacillus* (*Bacillus licheniformis* RBA-E23 et *Bacillus* sp. RBA-E32) isolée de la rhizosphère d'une culture de pomme de terre utilisent la glycine bêtaïne à des concentrations respectives en NaCl 800 et 500mM (Nabti *et al.*, 2013).

Une souche de *Bacillus subtilis* utilise la proline et la glycine bêtaïne à travers des canaux de transport appelés *Opu C* (Du *et al.*, 2011).

➤ **L'extrait hydroalcoolique de *Ulva lactuca***

Il est bien évident que la croissance de la souche *Bacillus* sp. S7LiBe est meilleure à une concentration de 200mM NaCl et elle est restaurée même à des concentrations élevées de 600mM. Cela confirme que les extraits hdro-alcoliques d'*Ulva lactuca* sont efficaces sur la croissance de cette souche en milieu salin. Les extraits d'*Ulva lactuca* sont riches en DMSP qui est utilisé par les bactéries comme osmoprotecteur (Dickaschat *et al.*, 2015). Une autre étude réalisée par Nabti *et al.* (2013) sur des souches du genre *Bacillus* (*Bacillus licheniformis* RBA-E23 et *Bacillus* sp. RBA-E32) a montré que la croissance était restaurée jusqu'à une concentration de 1M NaCl.

➤ **L'extrait hydro-alcoolique de *Cystoseira* sp.**

L'effet des extraits hydro-alcooliques de *Cystoseira* sp. sur la croissance de la souche *Bacillus* sp. S5LiBe était meilleur à une concentration de 200mM NaCl et la croissance était restaurée jusqu'à une concentration de 600mM. Ces extraits favorisent une osmoprotection élevée vis-à-vis des concentrations élevées en sel, cela peut être due à leur richesse en DMSP et en acides aminés (Yoch, 2002 ; Valls and Piovetti., 1995).

## *Conclusion*

Durant cette étude, certains paramètres de croissance de deux souches bactériennes d'intérêt agricole ainsi que leur halotolérance en présence et en absence d'osmoprotecteurs synthétiques et naturels ont été optimisés.

Les osmoprotecteurs naturels (l'extrait hydro-alcoolique de l'algue marine utilisée *Ulva lactuca*) ou synthétiques (proline et glycine bêtaïne) ont donné un effet bénéfique sur les deux souches testées permettant ainsi de restaurer leur croissance à des concentrations élevées en NaCl, particulièrement à une concentration de 200 mM. L'extrait hydro-alcoolique de *Cystoseira* sp. a donné un meilleur effet sur la croissance des souches de *Pseudomonas* sp. S5LiBe et *Bacillus* sp. S7LiBe à des concentrations respectives de 300 et 200Mm NaCl,.

On peut donc conclure que, les extraits hydro-alcooliques des deux macro-algues marines *Ulva lactuca* et *Cystoseira* sp. pourraient être utilisés comme une source efficace d'énergie et d'osmoprotecteurs afin de restaurer la croissance des bactéries du sol vivant sous stress salin et par conséquent, une amélioration des rendements agricoles dans ces mêmes sols.

A la lumière de ces résultats, nous émettons quelques réflexions et recommandations sous forme de perspectives pour une valorisation de ce travail :

- ❖ Etude des composés impliqués dans l'osmotolérance des deux souches étudiées par l'utilisation des extraits algaux.
- ❖ Etude *in vivo* de l'effet des extraits algaux et des bactéries étudiées sur la germination et la croissance de certaines plantes.
- ❖ Etude de l'effet combiné des souches et des extraits sur des plantes de choix.

A

Abdala-Diaz RT, Cabello-Pasini A, Pérez-Rodríguez E, Conde Alvarez RM and Figueroa FL (2006). Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). *Marine Biology* 148: 459–465

Adiku SGK, Renger M, Wessolek G, Facklam M, Hecht-Bucholtz C (2001) Simulation of the dry matter production and seed yield of common beans under varying soil water and salinity conditions. *Agr Water Manage* 47:55–68

Abebe T, Guenzi AC., Martin B and Cushman JC (2003). Tolerance of mannitol accumulating transgenic wheat to water stress and salinity. *Plant. Physiol* 131: 1748–1755

Ahmad F, Ahmad M, and Khan S (2005). Indole Acetic Acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk.J.Biol* 29:29-34

Ahmad F, Ahmad I and Khan MS (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol.Resea* 163 (2): 173-81.

Ansede JH, Pellechia PJ and Yoch DC (1999). Metabolism of acrylate to  $\beta$ -hydroxypropionate and its role in dimethylsulfoniopropionate lyase induction by salt marsh sediment bacterium *Alcaligenes faecalis* M3A. *App.Environ. Microbiol* 65 (11) : 5075-5081

Anonyme (2015). [www. Aquaportail.com/definition-5009-cystoseyre.html](http://www.aquaportail.com/definition-5009-cystoseyre.html).09-02-2015

Ansede JH, Pellechia PJ and Yoch D (2001). Nuclear Magnetic Resonance Analysis of [1-<sup>13</sup>C]Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) and [1-<sup>13</sup>C]Acrylate Metabolism by a DMSP Lyase-Producing Marine Isolate of the  $\alpha$ -Subclass of Proteobacteria. *App. Environ.Microbiol* 67 (7) : 3134-3139

Antoun H, Beauchamp CJ, Goussard N, Chabot R and Lalande R (1998) Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant .Soil* 204:57–67.

Armstrong E, Rogerson A and Leftley JW (2000). The abundance of heterotrophic protists associated with intertidal seaweeds. *Estuar. Coast. Shelf. Sci* 50: 415-424

Argüelles JC (2000). Physiological roles of trehalose in bacteria and yeasts: a comparative analysis. *Arch Microbiol* 174: 217–124.

Arora NK, Kang SC, Maheshwari DK (2001). Isolation of siderophore producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Curr Sci* 81(6):673–677

Arthur R.(1983). *Pseudomonas halodurans* sp.nov., a halotolerant bacterium. *Arch.Microbiol* 136 :117-123

Averhoff B, Müller V. (2010) Exploring research frontiers in microbiology: recent advances in halophilic and thermophilic extremophiles. *Res. Microbiol* 161: 506–514

## **B**

Babalola OO (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett* 32:1559–1570.

Bai Y, Zhou X and DL Smith (2003). Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of Bacillus strains with *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Sci.*43:1774-1781.

Bakhrouf A, Jeddi M et Gauthier MJ (1992). Survie de *Salmonella paratyphi* B et du *Pseudomonas aeruginosa* dans l'eau de mer après incubation ou lavage en présence d'osmolytes. *Can.J.Microbiol* 38:690-693

Barassi CA, Ayrault G, Creus CM, Sueldo RJ and Sobero MT (2006). Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. *Sci. Hortic* 109:8–14

Bartels D, Sunkar R (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 24: 23– 58

Bashan Y, de-Bashan LE (2005). Bacteria/plant growth-promotion. In: Hillel.D.(Ed). *Encyclopedia of soils in the environment. Elsevier.Oxford.* pp103-115

Bennamara A, Abourriche A, Berrada M, Charrouf M, Chaib N, Boudouma M and Garneau FX (1999). Methoxybifurcarenone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochem* 52: 37-40

Berland BR, Bonin DJ, Durbec J-P et Maestrini SY (1976). Bactéries hétérotrophes aérobies prélevées devant le DELTA du Rhône III. Utilisation potentielle de différents substrats organiques comme source de carbone. *Rev. Hydrobiologia* 50 (1): 3-10

Bernard T, Pocard JA, Perroud B and Le Rudulier D (1986). Variations in the response of salt stress Rhizobium strains to betaines. *Arch. Microbiol.* 143: 359-364

Bhattacharyya PN, Jha DK (2012). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture World *J. Microbial. Biotechnol* 28:1327-1350

Bianco C and Defez R (2011). Soil Bacteria Support and Protect Plants Against Abiotic Stresses, Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations, Prof. Arun Shanker (Ed.), ISBN: 978-953-307-394-1

Biswas JC, Ladha LK and Dazzo FB (2000). Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *J. Soil Sci.* 64:1644-1650

Blunden, G., Smith, B.E., Irons, M.W., Yang, M., Roch, O.G. and Patel, A.V. (1992) Betaines and tertiary sulphonium compounds from 63 species of marine algae. *Biochem. Syst. Ecol* 20: 373-388.

Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT and Prinsep MR (2006). Marine natural products. *Nat. Prod. Rep* 23 : 26-78

Boch J, Kempf B and Bremer E (1994). Osmoregulation in *Bacillus subtilis*: synthesis of the osmoprotectant glycine betaine from exogenously provided choline *J. Bacteriol.* 176: 5364-5371

Bohnert HJ, Nelson DE, Jensen RG (1995). Adaptations to environmental stresses. *The Plant. Cell* 7:1099– 1111.

Bonaterrea A, Cabrefiga J, Camps J and Montesinos E (2007). Increasing survival and efficacy of a bacterial biocontrol agent of fire blight of rosaceous plants by means of osmoadaptation. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61 : 185–195

Boyer JA (1982). Plant productivity and environment. *Science.Rev* 218 : 443-448

Brown AD, Mackenzie KF and Singi KK (1986). Selected aspects of microbial osmoregulation. *FEMS . Microbiol. Rev* 39 : 31-36

Brown BJ and Preston JF (1991). 3<sup>rd</sup>. L-guluronan-specific Alginate Lyase from a Marine Bacterium Associated with Sargassum. *Carbohydr.Res* 211: 91-102.

Burg MB et Ferraris JD (2008). Intracellular organic osmolytes: function and regulation. *J. Biol. Chem* 283: 7309–7313

## C

Caldwell BA(2005). Enzymes activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia.* 49:637-644

Carson KC, Meyer JM, Dilworth MJ (2000). Hydroxamate siderophores of root nodule bacteria. *Soil. Biol. Biochem* 32:11–21

Casas AM, Bressan RA, Hasegawa PM.( 1991). Cell growth and water relations of the halophyte *Atriplex nummularia* L., in response to NaCl. *Plant. Cell. Rep* 10:81- 88

Christian JHB and Waltho JA (1962). Solute concentrations within cells of halophilic and non-halophilic bacteria. *Biochim. Biophys. Act.* 65 :506-510

Combaut G, Bruneau Y, Jeant G, Francisco C, Teste J et Codomier L (1976). Contribution chimique à l'étude de certains aspects biologiques d'une Phéophycée de profondeur *Cystoseira zosteroides* (Turn) C. Ag. *Phycologia. Rev* 15(3/4): 275-282

Csonka LN (1982). A third L-proline permease in *Salmonella enterica* which functions in media of elevated osmotic strength. *J.Bacteriol* :1433 1443

Csonka LN (1989). Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev* 53: 121–147.

Curson ARJ, Todd JD, Sullivan MJ and Johnston AWB (2011). Catabolism of dimethylsulphoniopropionate: microorganisms, enzymes and genes. *Nat. Rev. Microbiol* 9: 849-859

## D

Dacey JWH, King GM, Wakeham SG (1987). Factors controlling emission of dimethylsulphide from salt marshes. *Nature.Rev* 330: 643-645

Damodaran T, Sah V, Rai RB, Sharma DK, MishraVK, Jha SK and Kannan R (2013). Isolation of salt tolerant endophytic and rhizospheric bacteria by natural selection and screening for promising plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and growth vigour in tomato under sodic environment. *A.J.Microbiol.Res* 7(44): 5082-5089

Datta M , Palit R, Sengupta C, Kumar M, Banerjee S (2011). Plant growth promoting rhizobacteria enhance growth and yield of Chilli (*Capsicum annuum* L.) under field conditions. *Aust. J. Crop.Sci* 5: 531-536

Davison IR, Reed RH (1985). The physiological significance of mannitol accumulation in brown algae: the role of mannitol as compatible cytoplasmatic solute. *Phycologica.Rev* 24: 449–457

Delauney AJ, Verma DPS (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant .Journal* 4(2): 215-223

De-Souza MP, Yoch DC (1995). Purification and characterisation of dimethylsulfonyopropionate lyase from an *Alcaligenes*-like dimethyl sulfide-producing marine isolate. *App.Environ.Microbiol* 61 :21-26

Dickaschat JS, Rabe P and Citron CA (2015). The chemical biology of dimethylsulfonyopropionate. *Org. Biomol. Chem.*13 : 1954–1968

Digat B, Gardan L (1987). Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. *Bull OEPP* 17: 559-568

D'Souza-Ault MR, Smith LT, Smith GM (1993). Roles of N- Acetylglutaminylglutamine Amide and glycine betaine in adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to Osmotic Stress. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 473- 478

Durand M, Pichinoty F, Job C et Mandel M (1979). Nutrition carbonée et étude taxonomique de *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis*. *Can.J.Microbiol* 25: 491-498

Du Y, Shi WW, He YX, Yang YH, Zhou CZ and Chen Y.(2011). Structures of the substrate-binding protein provide insights into the multiple compatible solute binding specificities of the *Bacillus subtilis* ABC transporter OpuC. *Biochem. J.* 436 : 283–289

## *E*

Egamberdiyeva D (2009). Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat. *Acta.Physiol.Plant.* 31:861–864

Egamberdieva D, Kucharova Z.( 2009). Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Boil. Fert. Soil.* 45, 563–571.

Elbadry M, Taha RM, Eldougoug KA, Gamal-Eldin H (2006) Induction of systemic resistance in faba bean (*Vicia faba L.*) to bean yellow mosaic potyvirus (BYMV) via seed bacterization with plant growth promoting rhizobacteria . *J.Plant.Dis.Protect* 113 (6):247–251

Elbein AD, Pan YT, Pastuszak I, Carroll D (2003). New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiol* 13: 17R–27R.

El-Tarabily KA, Sivasithampam K (2006). Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agent of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biol Biochem* 38:1505–1520

Elmnasser N , Ritz-Bricaud M, Guillou S, Leroi F, Orange N, Bakhrouf A et Federighi M. (2006). Réponse adaptative de *Listeria monocytogenes* au stress osmotique et froid : Implication en sécurité des aliments. *Revue Méd Vét* 157(2) : 92-101



Empadinhas N and da Costa MS (2008). Osmoadaptation mechanisms in prokaryotes: distribution of compatible solutes. *Int. Microbiol.* 11:151–161

Empadinhas N and Costa M (2009). Diversity, distribution and biosynthesis of compatible solutes in prokaryotes. *Contrib. Sci* 5 (1) : 95-105

Estrada de los Santos P, Bustillos-Cristales MR, Caballero-Mellado J (2001). *Burkholderia*, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. *Appl Environ Microb* 67:2790–2798

Evelin H, Kapoor R, Giri B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Ann Bot.* 104:1263–1280.

## *F*

Flowers T J. (2004). Improving crop salt tolerance. *J. Exp. Bot.* 55:307-319

## *G*

Gage DA, Rhodes D, Nolte KD, Hicks WA, Leustek T, Cooper AJL and Hanson AD. (1997). A new route for synthesis of dimethylsulphoniopropionate in marine algae. *Nature* 387:891–894.

Galinski A (1995). Osmoadaptation in bacteria. *Adv. Microbiol. Physiol* 37: 273-328.

Garcia de Salamone IE, Hynes RK, Nelson LM (2001). Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can. J. Microbiol* 47:404–411

Garabito MJ, Márquez MC and Ventosa A (1998). Halotolerant *Bacillus* diversity in hypersaline environments. *Can. J. Microbiol* 26:778-786

García-González V, Govantes F, Shaw LJ, Burns RG and Santero E. (2003). Nitrogen Control of Atrazine Utilization in *Pseudomonas* sp. Strain ADP. *App. Environ. Microbiol* 69: (12) 6987–6993

Giri B, Kapoor R and Mukerji KG (2007). Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus Fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microbial. Ecol.* 54:753-760.

Glass ADM .(1989). Plant nutrition: an introduction to current concepts. Jones and Bartlett Publishers. Boston. p 234

Goldman E and Green LH (2009). Practical Handbook of Microbiology. 2<sup>ème</sup> edition. CRC Press. New York. 309p

Gray EJ, Smith DL (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signalling processes. *Soil Biol Biochem* 37:395–412

Grimont PAD, Vancanneyt M, Lefèvre M, Vandemeulebroecke K, Vauterin L, Brosh R, Kersters K and Grimon F (1996). Ability of biolog and biotype-100systems to reveal the taxonomic diversity of the *Pseudomonas* .*System.Appl.Microbiol* 19: 510-527

Gutierrez C, Abee T, Booth IR. (1995). Physiology of the osmotic stress response in microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 28: 233-244

Gutierrez-Manero FJ, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi J, Tadeo FR, Talon M. (2001). The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol. Plantarum* 111:206–211

Ghelani DA, Dudhagara PR and Patel RK (2014). Influence of various environmental stresses in the growth and accumulation of compatible solutes in marine halophile. *Tech.J. Microbiol* 3 (4) : 20-31

Ghoul M (1990). L'halotolérance de *E.coli*. Effets des osmoprotecteurs naturels. Doctorate thesis, University of Rennes 1, Rennes, France.

Ghoul M, Minet J, Bernard T, Dupray E, Cormier M (1995). Marine macroalgae as a source for osmoprotection for *Escherichia coli* *Microb Ecol* 30: 171-181

Ghorai S, Pal KK , Dey R, Jasrai YT (2013). A comparative study of Effect of Rhizobacteria onto seedling vigour of groundnut in in-vitro condition isolated from Kuttch region. *Sch. Acad. J. Biosci.* 1(5):179-182

Greenway H, Munns R (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31: 149–190

## H

Hernandez Soriano MC (2012). Effect of Salinity on Soil Microorganisms, Soil Health and Land Use Management. p181. (Ed.), ISBN: 978- 953-307-614-0,

Hilali A, Prévost D, Broughton J et Antoun H (2001). Effets de l'inoculation avec des souches de *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii sur la croissance du blé dans deux sols du Maroc. *Can.J.Microbiol* 47 :590-593

Holtman G, Bremer E (2004). Thermoprotection of *Bacillus subtilis* by exogenously provided glycine bétaine and structurally related compatible solutes: involvement of Opu transporters. *J.Bacteriol* 186: 1683-1693

Hussain M I, Asghar HN , Arshadand M and Shahbaz M (2013). Screening of multi-traits rhizobacteria to improve maize growth under axenic conditions. *J. Anim. Plant Sci.* 23(2):514-520

## I

Ibekwe A M , Poss J A, Grattan S R, Grieve C M, Suarez D (2010). Bacterial diversity in cucumber (*cucumis sativus*) rhizosphere in response to salinity, soil pH ,and boron. *Soil.Biol and Biochemistry.* 42:567-575

Idikut, L., Z. Dumlupinar, S.N. Kara, C. Yururdurmaz and M. Çolkese (2012). The effect of different temperatures and salt concentrations on some popcorn landraces and hybrid corn genotype germinations. *Pak. J. Bot.*, 44(2): 579-587

## J

Jebbar M, Blohn VC and Bremer E (1997). Ectoine functions as an osmoprotectant in *Bacillus subtilis* and is accumulated via the ABC-transport system OpuC. *FEMS.Microbiol.Lett* 154 : 325-330

Jain M, Mathur G, Koul S and Sarin NB (2001). Ameliorative effects of proline on salt stress induced. *Mediterranea. Rev* 131: 45-51.

Joo GJ, Kin YM, Kim JT, Rhee IK, Kim JH and Lee IJ (2005). Gibberellins-producing rhizobacteria increase endogenous gibberellins content and promote growth of red peppers. *J.Microbiol* 43(6):510–515

Jun J-Y, Nakajima S, Yamazaki K, Kawai Y, Yasni H and Konishi Y (2015). Isolation of antimicrobial agent from the marine algae *Cystoseira hakodatensis*. *I. J.Food.Sci.Tech* 1:1-7

Juniper S, Abbott LK (1993). Vesicular–arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza* 4:45–57

## K

Kafi M and Damghani AM (2000). The mechanisms of plant resistance to salt stress. Mashhad Ferdosi. University Press, Mashhad, Iran (In Persian)

Kanemarska Z, Yalàì FN, Ersöz T, Çalis KS and Popov S (2002). Chemical composition of *Cystoseira crinita* Bory from the Eastern Mediterranean. *Ver.Zeits. Nat. Tüb* 57c : 584-590

Kempf B and Bremer E (1995). Opu A, an osmotically regulated binding protein dependent transport system for the osmoprotectant glycine bétine in *Bacillus subtilis*. *J.Biol.Chem* 270 :16701-16713

Kim W, Choi K, Kim Y, Park H, Choi J, Lee Y, Oh H, Kwon I and Lee S (1996). Purification and Characterization of Fibrinolytic Enzyme Produced from *Bacillus* sp. Strain CK11-4. Screened from Chungkook-Jang. *App.Env.Microbiol* 62(7): 2482-2488

Kienea RP, Linna LJ and Bruton JA (2000). New and important roles for DMSP in marine microbial communities. *J. Sea. Res.* 43: 209–224

Kloepper JW, Ryu CM, Zhang S (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* .94(11):1259–1266

Kloepper JW, Gutierrez-Estrada A, McInroy JA (2007). Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can J Microbiol* 53(2):159–167

Kocsis MG, Nolte KD, Rhodes D, Shen TL, Gage DA and Hanson AD. (1998). Dimethylsulfoniopropionate Biosynthesis in *Spartina alterniflora*. Evidence That S - Methylmethionine and Dimethylsulfoniopropylamine Are Intermediates. *Plant. Physiol.* 117: 273–281

Kushner D, Kamekura M (1988). Physiology of halophilic eubacteria. In : Rodriguez-Valera F. editor. Halophilic. Bacteria. Boca. Raton. CRC Press. pp 109-138

## ℒ

Larher F, Hrdnandez S, Deleu C (2000). Accumulation de proline dans les tissus foliaires de tomate en réponse à la salinité. C.R. Acad.Sci.Paris, *Life Science* 323 :551-557

Latour X (1996). Effet de la plante et du sol sur la diversité des populations telluriques de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne, 70p

Latour X, Lemanceau P (1997). Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Rev.Agronomie* 17: 427-443

Le Redulier D and Bouillard L (1983). Glycine bétaine, an osmotic effector in *Klebsiella pneumoniae* and other members of the Enterobacteriaceae. *App.Enviro. Microbiol* 46:152-159

Litchfield C D (2002). Halophiles. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol* 28: 21–22

Liu L, Kloepper JW, Tuzun S (1995) Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695–698

Loescher, W.H., Tyson, R.H., Everard, J.D., Redgwell, R.J., and Bielecki, R.L. (1992) Mannitol synthesis in higher plants: evidence for the role and characterization of a NADPH-dependent mannose 6-phosphate reductase. *Plant .Physiol* 98: 1396–1402

Loshon CA, Wahome PG, Maciejewski MW and Setlo P (2006). Levels of glycine betaine in growing cells and spores of *Bacillus* species and lack of effect of glycine betaine on dormant spore resistance. *J.Bacteriol* 188 (8): 3153-3158

Lucy M, Reed E and Glick BR (2004). Applications of free living plant growth-promoting rhizobia. *Antonie van Leewenhoek* 86 :1-25

## *M*

Mac Millan SV, Alexander DA, Culham DE, Kunte HJ, Marshall EV, Rochon D and Wood JM (1999). The ion coupling and organic substrate specificities of osmoregulatory transporter Pro P in *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Acta* 1420 : 30 – 44

Mahajan S, Tuteja N (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch. Biochem. Biophys* 444:139-158

Mahmoud YA, Ebrahium MK, Aly MM (2004). Influence of some plant extracts and microbioloagents on some physiological traits of faba bean infected with *Botrytis faba* . *Turkish.J.of Botany* 7:21-30

Martins LO, Santos H. (1995) Accumulation of man- nosylglycerate and di-myo-inositol-phosphate by *P. furio- sus* in response to salinity and temperature. *Appl. Environ .Microbiol* 61: 3299–3303

Mason TG, Blunden G (1989). Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds of algal origin as alleviators of osmotic stress. *Bot. Mar* 32:313-316

Mayak S, Tirosh T, Glick BR (2004) Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant. Physiol .Biochem* 42(6):565–572.

McCue KF, Hanson AD (1990). Drought and salt toler- ance: towards an understanding and application. *Trends Biotechnol.* 8: 358–362

Miller KJ, Woods JR (1996). Osmoadaptation by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev Microbiology.* 50:101-136

Mittler R (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11, 15–18.

Marschner H (1995). Functions of mineral nutrients: macronutrients. Mineral nutrition of higher plants. *Academic.Press.Limited.* London

Mehnaz S, Lazarovits G (2006) Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lip- oferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. *Microb Ecol* 51(3):326–335

Mirza MS, Mehnaz S, Normand P et al (2006). Molecular character- ization and PCR detection of a nitrogen fixing *Pseudomonas* strain promoting rice growth. *Biol. Fertil. Soils* 43:163–170

Monteoliva-Shanchez M, Ramos-Cormenzana A and Russel NJ (1993). The effect of salinity and compatible solutes on the biosynthesis of cyclopropane fatty acids in *Pseudomonas halosacchavolytic*. *J. Gen. Microbiol* 139 : 1877-1884

Mostaert AS, Karsten U and King RJ (1995). Inorganic ions and mannitol in the red algae *Caloglossa leuprieurii* (Ceramiales, Rhodophyta): response to salinity change. *Phycologia* 34: 501–507.

Munns R (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant .Cell. Environ.* 25:239-250

Munns R and Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681

## N

Nabti EH (2007). Restauration de la croissance de *Azospirillum brasilens* et de Blé dur et leur osmoprotection par *Ulva lactuca* en Milieux Salés. Thèse de Doctorat en Science Biologique. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.147p.

Nabti EH, Sahnoune M, Ghoul M, Fischer D, Hofmann A, Rothballer M, Schmid M, Hartmann A (2010). Restoration of growth of durum wheat (*Triticum durum* var.waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphère bacterium *Azospirillum brasilense* NH and extracts of the marine alga *Ulva lactuca*. *Journal.Plant.Growth.Regul.* 29: 6-22

Nabti EH, Mokrane N, Ghoum M, Manyani H, Dray M and Megias MG (2013). Isolation and characterization of two halophilic *Bacillus* (*B.licheniformis* and *Bacillus* sp.) with antifungal activity. *J. Eco. Heal. Env.* 1(1): 13-17

Nagayama K, Iwamura Y, Shibata T, Hirayama I and Nakamura T. (2002). Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. *J Antimicrob Chemother* 50: 889-893

Nakbanpote W, Panitlurtumpai N, Sangdee A, Sakulpone N, Sirisom P and Pimthong A (2014). Salt tolerant and plant Growth –Promoting Bacteria isolated from Zn/Cd contaminated soil : identification and effect on rice under saline conditions. *J.Plant.Inter* 9(1) :379-387

Nedashkovkaia OI, Ivanova EP, Bakunina I, Svetashev VI, Zviginstseva TN and Mikhailov VV (2002). Characterization of Marine Bacteria *Pseudoalteromonas citrea* Degrading Fucoïdan. *Microbiol* 64: 3-10.

Neel JPS, Alloush G , Belesky ADP and Clapham W M (2002). Influence of rhizosphère ionic strength on mineral composition , dry matter yield and nutritive value of forage Chirory. *J.Agron.Crop.Sci.* 188:398-407

Nelson DR and Mele PM (2007).Subtle changes in rhizosphere microbial community structure in response to sincreased boron and sodium chloride concentrations. *Soil.Biol.Biochem.*39:340-351

Niu X, Narasimhan ML, Salzman RA, Bressan RA, Hasegawa PM. (1993). NaCl regulation of plasma membrane H<sup>+</sup>- ATPase gene expression in a glycophyte and a halophyte. *Plant Physiol.* 103:713– 718

Noel TC, Sheng C, Yost CK, Pharis RP, Hynes MF (1996) *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth-promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce. *Can J Microbiol* 42:279–283

Nyyssola A, Kerovuoto J, Kaukinen P, von Weymarn N, Reinikainen T(2000). Extreme halophiles synthesize betaine from glycine by methylation. *J. Biol. Chem.* 275:22196-2220



O'Leary WM (1983). Practical hand book of Microbiology. 1<sup>ère</sup> edition. CRC Press. New York. 109p

Oren A. 1999. Bioenergetic aspects of halophilism. *Microbiol. Mol. Boil. Rev.* 63: 334-348

Oren A. (2000) Salts and brines. In: The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space (Whitton, B. A., and Potts, M., Eds.) pp 281-306, Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands.

## *P*

Palleroni NJ (1984). Gram negative aerobic rods and cocci: family I Pseudomonaceae. In: Bergey's Manual of Bacteriology (NR Krieg, Holt JG (eds.) William & Wilkins, Baltimore. pp141-199

Pandey A, Trivedi P, Kumar B, Palni SLM (2006). Characterization of a Phosphate Solubilizing and Antagonistic Strain of *Pseudomonas putida* (B0) Isolated from a Sub-Alpine Location in the Indian Central Himalaya. *Current Microbiology* 53: 102-107

Park KS, Kloepper JW (2000). Activation of PR-1a promoter by rhizobacteria that induce systemic resistance in tobacco against *Pseudomonas syringae* pv. tabaci. *Biol Control* 18: 2-9

Parida A K, Das A B (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants. A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf* 60: 324 - 349

Parmar N, Dadarwal KR (1999). Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid like compounds by rhizobacteria. *J Appl Microbiol* 86: 36 – 44

Paul MJ, Primavesi LF, Jhurrea D, Zhang Y (2008). Trehalose metabolism and signaling. *Annu Rev Plant Biol* 59: 417 – 441

Pichereau V, Uguen P and Bernard T.(1996). An extract from the marine alga *Ulva lactuca* improves growth of *Rhizobium meliloti* under hyperosmotic conditions: role of methylated sulfonium compounds. *Plant Physiol. Suppl.* 111:74

Pichereau V, Pocard JA, Hamelin J, Blanco C, Bernard T (1998). Differential effects of dimethylfoniopropionate, dimethylsulfonioacetate, and other S-methylated compounds on the growth of *Sinorhizobium meliloti* at low and high osmolarities . *Appl. Environ. Microbiol.* 64:1420-1429

Pichinoty F, Mandel M, Greenway B et Garcia JL (1977). Etude de 14 bactéries dénitrifiantes appartenant au groupe *Pseudomonas stutzeri* isolées du sol par culture d'enrichissement en présence d'oxyde nitreux. *Ann.Microbiol. (Inst.Pasteur)* 128A: 75-87

Pichinoty F, Durand M and Mandel M (1980). Nutrition carbonée et étude taxonomique de *Bacillus megaterium* et *Bacillus cereus*. *Can. J.Microbiol* 26: 778-786

Pocard J-A, Smith LT, Smith GM and Le Rudulier D (1994). A prominent role for glucosylglycerol in the adaptation of *Pseudomonas mendocina* SKB70 to osmotic stress. *J. Bacteriol.* 176:6877–84

Polonenko D, Mayfield C, Dumbroff E (1981). Microbial responses to salt-induced osmotic stress. *Plant and Soil.* 59:269-285

Porcel R, Arora R, Ruiz-Lozano J M (2012). Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agron.Sustain.Dev.*32:181-200

## R

Rafaeli-Eshkol D (1968). Studies on halotolerance in a moderately halophilic bacterium: effect of growth conditions on salt resistance of the respiratory system. *Biochem.J* 109: 679-685

Rangarajan S, Saleena LM, Vasudevan P and Nair S (2003). Biological suppression of rice diseases by *Pseudomonas* spp. under saline soil conditions. *Plant and Soil* 251: 73–82

Rayney PB, Bayley MJ and Thompson IP (1994). Phenotypic and genotypic diversity of fluorescent *Pseudomonas* isolated from field-grown sugar beet. *Microbiology* 140: 2315-2331

Reed RH(1983). Measurement and osmotic significance of  $\beta$ -dimethylsulphoniopropionate in marine macroalgae. *Mar.Biol.Lett* 34:173-181

Reina-Bueno M, Argandon M, Salvador M, Rodriguez-Moya J, Iglesias-Guerra F, et al. (2012) Role of Trehalose in Salinity and Temperature Tolerance in the Model Halophilic Bacterium *Chromohalobacter salexigens*. *PLoS ONE* 7(3): e33587.

Reinhold-Hurek B, Hurek T, Gillis M et al (1993) *Azoarcus* gen. nov., nitrogen-fixing Proteobacteria associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth), and description of two species, *Azoarcus indigens* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 43:574–584

Ressel S, van Scheltinga A.C.T, Vornrhein C, Ott V, Ziegler C (2009). Molecular basis of transport and regulation in the  $\text{Na}^+$ /betaine symporter BetP. *Nature*. Vol 458. doi:10.1038/nature 07819

Rietz D N, Hayness R J (2003). Effects of irrigation –induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*. 35:845-854

Riggs PJ, Chelius MK, Iniguez AL, Kaeppler SM, Triplett EW (2001) Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. *Aust. J.Plant. Physiol* 28:829–836.

Rhodes D, Hanson AD (1993). Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 357–384.

Roberts SJ, Eden-Green SJ, Jones P and Ambler DJ (1990). *Pseudomonas syzygii* sp.nov., the cause of Sumatra Disease of Cloves. *System.Appl.Microbiol* 13:34-43

Roberts MF, Lai MC and Gunsalus RP (1992). Biosynthesis pathway of the osmolytes N $\epsilon$ -acetyl- $\beta$ -Lysine,  $\beta$ -glutamine and b $\acute{e}$ taïne in *Methanohalophilus* strain FDF1 suggested by nuclear magnetic resonance analyses.*J.Bacteriol* 174:6688-6693

Roberts MF (2005). Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganismes. *Saline Systems Rev* 1:5

Roebler M and Müller (2001). Chloride dependence of glycine betaine transport in *Halobacillus halophilus*. *FEBS Lett* 489: 125–128

Romanenko AL, Uchino M, Falsen E, Frolova GM, Zhukova NV and Valery V. Mikhailov .(2005). *Pseudomonas pachastrellae* sp. nov., isolated from a marine sponge. *Inter. J. System. Evol. Microbiol* 55 : 919–924

Rosenberg A (1983). *Pseudomonas halodurans* sp.nov., a halotolerant bacterium. *Arch.Microbiol* 136:117

Rui L, Huan L, Hao F, Xu W, Chang-Xing Z, Ke- Yun Z and Ren L (2008). *Pseudomonas duriflava* sp.nov., isolated from e desert soil. *Intern. J. Syst.Evol.Microbiol* 58: 1404-1408

Russo A, Vettori L, Felici C, Fiaschi G, Morini S and Toffanin A (2008). Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 on *Prunus cerasifera* L. clone Mr.S 2/5 plants. *J. Biotechnol* 134:312–319

## S

Sand M, Mingote A I , Santos H, Müller V et Averhoff B (2013). Mannitol, a compatible solute synthesized by *Acinetobacter baylyi* in a two-step pathway including a salt-induced and salt-dependent mannitol-1-phosphate dehydrogenase. *Environmental Microbiology*. 15(8): 2187–2197

Santosh H, Costa M S. (2002). Compatible solutes of organisms that live in hot saline environments. *Environ. Microbiol.*, 4: 501–509.

Sarig S, Roberson EB, Firestone MK (1993). Microbial activity-soil structure: response to saline water irrigation. *Soil Biology and Biochemistry*. 25:693-697

Saum SH and Müller V (2008). Regulation of osmoadaptation in the moderate halophile *Halobacillus halophilus*: chloride, glutamate and switching osmolyte strategies. *Saline Systems* 4: 4.

Sawale AA, Kadam TA and Mitkare SS (2013). Isolation and Characterization of Secondary Metabolites from Halophilic Bacillus Species from Marine drive in Mumbai. *J. App. Pharm. Sc* 3 (06): 182-188

Shahidul ISLAM Md, Muhammad Shafiul A, SHARMIN S , Abu Ashfaqur S, Md. Maksudul A, Md. Shamim R, Rajib A, KHAN H. (2013). Improved salt tolerance of jute plants expressing the katE gene from *Escherichia coli*. *Tur. J. Biol.* 37: 206-211

Shao HB, Chu Y, Jaleel CA and Zhao CX (2008). Water deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *J.Plant.Biol.Pathol* 331:215-225

Shivanand P, Mugeraya G (2011). Halophilic bacteria and their compatible solutes osmoregulation and potential applications. *Curr. Sci* 100: 10

Sirbu R, Sava C, Ghergic DL and Passy Mouima NAF. (2006). Caractérisation de certains principes actifs de *Ulva lactuca* et *Ulva rigida*- algues vertes du littoral Roumain de la mer noire. *Sci.St. Resear.* 7(1): 193-198

Steel RGD and Torrie JH (1980). Principles and lipid peroxidation in cell lines of groundnuts arachis procedures of statistics. A biometric approach hypogyea L. *Plant. Cell. Rep* 20: 463-468.

Sturz AV, Nowak J (2000) Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *J Appl Soil Ecol* 15:183–190

Sudhakar P, Chattopadhyay GN, Gangwar SK, Ghosh JK (2000) Effect of foliar application of *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Beijerinckia* on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). *J.Agric .Sci* 134:227–234

Soutter M, Musy A.(1991). Physique du sol. Presses polytechniques et universitaires romandes. 339 p.

Stewart CR, Larher F(1980). Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. *The Biochemisty of Plants* 5: 609–630

Stoop JMH, Mooibroek, H. (1998) Cloning and characterization of NADP-mannitol dehydrogenase cDNA from the button mushroom, *Agaricus bisporus*, and its expression in response to NaCl stress. *Appl Environ Microbiol* 64: 4689–4696.

## *T*

Tarczynski, M.C., Jensen, R.G., and Bohnert, H.J. (1993) Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science.Rev* 259: 508–510.

Timmusk S, Nicander B, Granhall U, Tillberg E (1999). Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil. Biol. Biochem* 31:1847–1852

Turan M, Ataoglu N and Sahin F (2006). Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. *Sustainable Agricultural* 28: 99–108

## *U*

Upadhyay SK, Singh JS, Saxena AK and Singh DP (2012a). Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidants status of wheat plant under saline condition. *Plant Biology* 14:605-611.

Upadhyay SK, Maurya SK and Singh DP (2012b). Salinity tolerance in free living plant growth promoting rhizobacteria. *Ind.J.Sci.Res* 3(2):73-78

## *V*

Valls R and Piovetti L (1995). The chemistry of the Cystoseiraceae (Fucales : Pheophyceae) : Chemotaxonomic Relationships. *Bioch. Syst. Ecol.* 23(7/8) : 723-745

Ventosa, A., Nieto, J. J. and Oren, A., Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1998, 62, 504–544.

Volkmar KM , Hu Y and Steppuhn H (1998). Physiological responses of plants to salinity: A review. *Can. J. Plant Sci.* 78: 19–27

## W

Wagner-Döbler I and Biebl H (2006). Environmental biology of the marine *Rosobacter* lineage. *Ann. Rev. Microbiol* 60:255-280

Wahyudi AT, Puji RA, Widyawati A, Meryandini A and Nawangsih AA. (2011). Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for use as Their Potential for Promoting Rhizobacteria plant growth. *J. Microbiol. Ant* 3 : 34-40

Webster NS, Bourne D (2007). Bacterial community structure associated with the Antarctic soft coral, *Alcyonium antarcticum*. *FMES Microbiology Ecology.* 59: 81-94

Weller DM (1988). Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:379-407

Weisser J and Trüper HG (1985). Osmoregulation in New haloalkaliphilic *Bacillus* from the Wadi Naturn (Egypt). *Syst.App.Micobiol* 6: 7-11

Whatmore AM, Chudek JA and Reed RH (1990). The effects of osmotic upshock on the intracellular solute pools of *Bacillus subtilis*. *J. Gen. Microbiol.* 136: 2527–2535.

Wichern J, Wichern F, Joergensen R G (2006). Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils. *Geoderma.Rev* 137:100-108

Wijesekara I, Pangestuti R and Kim SK (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate.Polymers* 84(1): 14-21

Wijesinghe WAJP and Jeon Y-J (2011). Biological activities and potential cosmeceutical applications of bioactive components from brown seaweeds. *Phytochem. Rev* 10 (3): 431-443

Wild A (1993). Soils and environment. An introduction, pp. 281. In. Cambridge price editions. Cambridge University press, Cambridge.

Wisselink HW, Weusthuisa RA, Eggink G, Hugenholtz J, and Grobbena GJ (2002) Mannitol production by lactic acid bacteria: a review. *Int.Dairy.J.* 12: 151– 161

Wood JM and Zadworny D (1980). Amplification of the put genes and identification of the put gene products in *Escherichia coli* K12. *Can.J.Biochem* 58:787-796

Wood, J.M., Bremer, E., Csonka, L.N., Krämer, R., Poolman, B., van der Heide, T., and Smith, L.T. (2001) Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation by bacteria. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 130: 437–460.

Wua B, Caob S C, Lib Z H, Cheunga Z G and Wonga K C (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth. *Geoderma*.125: 155-162

Wyn Jones RG, Gorham J (1983). Osmoregulation. Pages 35–38 in O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond, and H. Ziegler, eds. *Physiological plant ecology. III. Encyclopaedia of Plant Physiology. Vol. 12C.* Springer-Verlag, Berlin, Germany

## Υ

Yancey PH, Clark ME, Hand SC, Bomlus R D , Somero GN (1982). Living with water stress : evolution of osmolyte system. *Science.* 21: 1214-1222

Yazdani M, Bahmanyar MA, Pirdashti H, Esmaili MA (2009) Effect of phosphate solubilization Microorganisms( PSM) and Plant Growth Promoting Rhizobacteria ( PGPR) on yield components of corn ( *Zea mays* L). *World Academy of Science, Engineering and Technology*.49:90-92

Yildirim E, Taylor AG. 2005. Effect of biological treatments on growth of bean plants under salt stress. *Ann Rep Bean Improv Coop* 48: 176–177



Yoch DC (2002). Dimethylsulfoniopropionate : its sources, role in the marine food web and biological degradation to dimethylsulfide. *App. Environ. Microbial* 68 (12) : 5804-5815

Younesi O, Chaidi MR and Postini K (2013). Salt tolerance in Alfafa Following inoculation with *Pseudomonas*. *Middle-East. J.Sci. Res* 16(1) : 101-107

Yuan BC, Li ZZ, Liu H, Gao M, Zhang YY (2007). Microbial biomass and activity in salt affected soils under arid conditions. *Applied Soil Ecology*. 35(2):319-328

---

## Annexe n°1

### Composition des milieux de culture

➤ Milieu GMM (Growth Minimal Medium)

Glucose.....	5g
NH <sub>4</sub> Cl.....	1g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	3g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	2,4g
MgSO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O.....	0,2g
Eau distillée.....	qsp 1000ml
pH=7,0	

➤ Milieu LB

Extrait de levure.....	5g
Agar.....	10g
Tryptone.....	10g
NaCl.....	5g
Eau distillée.....	qsp 1000ml
pH = 7,2 à 37°C	

➤ Bouillon nutritif (BN)

Extrait de viande sec.....	5g
Agar.....	10g
Tryptone.....	10g
NaCl.....	5g
Eau distillée.....	qsp1000ml
pH = 7,2 ~ 7,4	

➤ Eau physiologique

NaCl.....	9g
Eau distillée.....	1000ml

## Annexe n°2

Tableau III : Les concentrations en NaCl utilisées

NaCl [ mM]	NaCl [ g / l ]
100	5,85
200	11,7
300	17,55
400	23,4
500	29,25
600	35,1
700	40,90
750	43,875
800	46,80
850	49,725
900	52,65
950	55,575
1000	58,50
1200	70,20
1300	76,05
1400	81,90
1600	93,60
1800	105,3
2000	117

## Annexe n°3

## Optimisation de la croissance des souches : pH

Tableau IV : Effet du pH sur la croissance des souches

Les valeurs des  $DO_{600nm}$  sont données par (Moy  $\pm$  écart-type)

pH	$DO_{600nm}$	
	<i>Pseudomonas</i> sp S5. LiBe	<i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe
5	0,846 $\pm$ 0,020	0,755 $\pm$ 0,034
5,5	0,811 $\pm$ 0,000	0,794 $\pm$ 0,077
6	0,924 $\pm$ 0,051	0,941 $\pm$ 0,049
6,5	0,965 $\pm$ 0,015	1,093 $\pm$ 0,115
7	0,941 $\pm$ 0,020	1,143 $\pm$ 0,000
7,5	0,969 $\pm$ 0,058	1,069 $\pm$ 0,081
8	0,910 $\pm$ 0,018	1,040 $\pm$ 0,007
8,5	0,827 $\pm$ 0,064	0,949 $\pm$ 0,072
9	0,747 $\pm$ 0,070	0,828 $\pm$ 0,017
9,5	0,562 $\pm$ 0,018	0,387 $\pm$ 0,000
10	0,008 $\pm$ 0,007	0,031 $\pm$ 0,000
10,5	0,000 $\pm$ 0,000	0,000 $\pm$ 0,000

## Annexe n°4

## Optimisation de la croissance des souches : Température

Tableau V : Effet de la température sur la croissance des souches

Les valeurs des  $DO_{600nm}$  sont données par (Moy  $\pm$  écart-type)

Température	$DO_{600nm}$	
	<i>Pseudomonas</i> sp S5. LiBe	<i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe
4°C	0,297 $\pm$ 0,018	0,157 $\pm$ 0,052
20°C	1,220 $\pm$ 0,072	1,113 $\pm$ 0,058
25°C	1,270 $\pm$ 0,014	1,255 $\pm$ 0,035
28°C	1,293 $\pm$ 0,140	1,260 $\pm$ 0,042
32°C	1,200 $\pm$ 0,056	1,166 $\pm$ 0,015
35°C	1,170 $\pm$ 0,028	1,120 $\pm$ 0,138
37°C	0,735 $\pm$ 0,049	0,690 $\pm$ 0,017
40°C	0,355 $\pm$ 0,007	0,480 $\pm$ 0,014
44°C	0,085 $\pm$ 0,014	0,141 $\pm$ 0,015

## Annexe n°5

## Optimisation de la croissance des souches : Salinité

Tableau VI : Effet de la salinité sur la croissance des souches sur GMM

Les valeurs des  $DO_{600nm}$  sont données par (Moy  $\pm$  écart-type)

NaCl [ mM ]	$DO_{600nm}$	
	<i>Pseudomonas</i> sp S5. LiBe	<i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe
0	0,536 $\pm$ 0,488	0,700 $\pm$ 0,000
100	0,736 $\pm$ 0,189	0,753 $\pm$ 0,133
200	0,740 $\pm$ 0,000	0,840 $\pm$ 0,260
300	0,590 $\pm$ 0,174	0,723 $\pm$ 0,226
400	0,530 $\pm$ 0,075	0,720 $\pm$ 0,0032
500	0,510 $\pm$ 0,005	0,675 $\pm$ 0,096
600	0,350 $\pm$ 0,036	0,623 $\pm$ 0,096
700	0,320 $\pm$ 0,000	0,646 $\pm$ 0,060
750	0,315 $\pm$ 0,075	0,580 $\pm$ 0,065
800	0,276 $\pm$ 0,086	0,526 $\pm$ 0,063
850	0,233 $\pm$ 0,081	0,330 $\pm$ 0,137
900	0,175 $\pm$ 0,015	0,393 $\pm$ 0,049
950	0,163 $\pm$ 0,049	0,320 $\pm$ 0,113
1000	0,140 $\pm$ 0,000	0,343 $\pm$ 0,030
1200	0,120 $\pm$ 0,010	0,195 $\pm$ 0,021
1400	0,110 $\pm$ 0,000	0,105 $\pm$ 0,007
1600	0,090 $\pm$ 0,000	0,086 $\pm$ 0,055
1800	0,007 $\pm$ 0,000	0,023 $\pm$ 0,023
2000	0,004 $\pm$ 0,000	0,013 $\pm$ 0,005

## Annexe n°6

## Optimisation de la croissance des souches : Salinité

Tableau VII : Effet de la salinité sur la croissance des souches sur LB

Les valeurs des  $DO_{600nm}$  sont données par (Moy  $\pm$  écart-type)

NaCl [ mM ]	$DO_{600nm}$	
	<i>Pseudomonas</i> sp S5. LiBe	<i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe
0	0,296 $\pm$ 0,058	0,310 $\pm$ 0,000
100	0,306 $\pm$ 0,030	0,410 $\pm$ 0,088
400	0,125 $\pm$ 0,021	0,376 $\pm$ 0,195
700	0,226 $\pm$ 0,047	0,326 $\pm$ 0,364
1000	0,180 $\pm$ 0,070	0,313 $\pm$ 0,303
1300	0,116 $\pm$ 0,150	0,143 $\pm$ 0,028
1600	0,030 $\pm$ 0,000	0,206 $\pm$ 0,005
2000	0,030 $\pm$ 0,000	0,096 $\pm$ 0,056

**Annexe n°7**  
**Effets des osmoprotecteurs**

**Tableau VIII** : Utilisation des osmoprotecteurs comme source de carbone

Les valeurs des  $DO_{600nm}$  sont données par (Moy  $\pm$  écart-type)

Milieu	$DO_{600nm}$	
	<i>Pseudomonas</i> sp S5. LiBe	<i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe
MM	0,000 $\pm$ 0,000	0,000 $\pm$ 0,000
GMM	0,343 $\pm$ 0,119	0,803 $\pm$ 0,205
GBMM	0,196 $\pm$ 0,230	0,156 $\pm$ 0,041
Pro MM	0,700 $\pm$ 0,219	0,550 $\pm$ 0,286
Ulv MM	0,233 $\pm$ 0,011	0,363 $\pm$ 0,145
Cyst MM	0,153 $\pm$ 0,040	0,250 $\pm$ 0,217

MM : Milieu Minimal ; GB : Glycine bétaïne ; Pro : Proline ; Ulv : *Ulva lactuca* ;  
Cyst : *Cystoseira* sp.



## Annexe n° 8

## Effet des osmoprotecteurs en présence du sel

Tableau IX : Effets des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche *Pseudomonas* sp. S5 LiBeLes valeurs des DO<sub>600nm</sub> sont données par (Moy ± écart-type)

NaCl [ mM ]	<i>Pseudomonas</i> sp S5. LiBe				
	Sans osmop	+ GB	+ Pro	+ Ulv	+ Cyst
100	0,151 ± 0,012	0,253 ± 0,162	0,258 ± 0,092	0,410 ± 0,065	0,240 ± 0,058
200	0,210 ± 0,005	0,354 ± 0,009	0,388 ± 0,061	0,470 ± 0,000	0,265 ± 0,035
300	0,179 ± 0,000	0,257 ± 0,012	0,301 ± 0,110	0,289 ± 0,016	0,292 ± 0,104
400	0,157 ± 0,023	0,252 ± 0,056	0,285 ± 0,112	0,197 ± 0,152	0,138 ± 0,061
500	0,133 ± 0,000	0,235 ± 0,000	0,223 ± 0,033	0,121 ± 0,042	0,127 ± 0,012
600	0,100 ± 0,000	0,180 ± 0,000	0,217 ± 0,000	0,109 ± 0,020	0,120 ± 0,024

Sans osmop : Sans osmoprotecteurs ; GB : Glycine bêtaïne, Pro : Proline ; Ulv : *Ulva lactuca* ; Cyst : *Cystoseira* sp.

## Annexe n° 9

## Effet des osmoprotecteurs en présence du sel

Tableau X : Effets des osmoprotecteurs sur la croissance de la souche *Bacillus* sp. S7 LiBeLes valeurs des  $DO_{600nm}$  sont données par (Moy  $\pm$  écart-type)

NaCl [ mM ]	<i>Bacillus</i> sp. S7 LiBe				
	Sans osmop	+ GB	+ Pro	+ Ulv	+ Cyst
100	0,193 $\pm$ 0,025	0,308 $\pm$ 0,004	0,460 $\pm$ 0,031	0,279 $\pm$ 0,237	0,034 $\pm$ 0,007
200	0,245 $\pm$ 0,065	0,340 $\pm$ 0,011	0,506 $\pm$ 0,000	0,426 $\pm$ 0,089	0,410 $\pm$ 0,046
300	0,191 $\pm$ 0,000	0,320 $\pm$ 0,099	0,383 $\pm$ 0,071	0,397 $\pm$ 0,037	0,353 $\pm$ 0,044
400	0,185 $\pm$ 0,000	0,306 $\pm$ 0,003	0,300 $\pm$ 0,000	0,361 $\pm$ 0,078	0,345 $\pm$ 0,116
500	0,149 $\pm$ 0,000	0,284 $\pm$ 0,000	0,216 $\pm$ 0,055	0,334 $\pm$ 0,022	0,338 $\pm$ 0,000
600	0,075 $\pm$ 0,000	0,280 $\pm$ 0,000	0,155 $\pm$ 0,077	0,292 $\pm$ 0,024	0,273 $\pm$ 0,010

Sans osmop : Sans osmoprotecteurs ; GB : Glycine bétaïne, Pro : Proline ; Ulv : *Ulva lactuca* ; Cyst : *Cystoseira* sp.