

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université A/MIRA de Béjaïa(UAMB)

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Mémoire de Magister

Présenté par

M^{me} KHELLOUFI Nouria

En vue de l'obtention du Diplôme de Magister

En biologie

Filière : Microbiologie

Option : Microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes

Thème

Isolement de bactéries productrices d'enzymes d'intérêt agricole, à partir d'algues marines

Devant le jury:

M ^r . IGUEROUADA M.	Président	Professeur	UAMB
M ^r . NABTI EI-H.	Rapporteur	(MCA)	UAMB
M ^{me} BEDJOU F.	Examinatrice	Professeur	UAMB
M ^r . ZAIDI F.	Examineur	Professeur	UAMB
M ^r . KECHA M.	Examineur	Professeur	UAMB

Année universitaire 2013/2014

Remerciements

Un certain nombre de personnes ont contribué au bon déroulement professionnel et à mon bien-être personnel. Je tiens à les remercier ici.

Tout d'abord Je tiens tout spécialement à remercier chaleureusement Monsieur NABTI. El-H pour m'avoir fait l'honneur d'être le rapporteur de mon mémoire, de m'avoir accueilli dans son équipe et de me confier ce sujet. Je le remercie également pour l'aide qu'il m'a apporté dans la rédaction de ce manuscrit, de m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé, pour les précieux conseils qu'il m'a prodigué.

Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

J'ai l'honneur de formuler ma gratitude et profonde reconnaissance à l'égard du Professeur IGVEROUADA.M d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance ;

Je suis reconnaissante

Au Professeur BEDJOU. F

d'avoir manifesté de l'intérêt pour ce travail en me faisant l'honneur de le juger et d'examiner ce manuscrit ;

Je tiens à remercier profondément

*Professeur ZAIDI. F et Professeur KECHA. M d'avoir
donné de leurs temps pour examiner et corriger ce travail ;*

*J'exprime ici mes plus sincères remerciements à tous les autres
membres de l'équipe particulièrement : M^{lle} TABLI Nacera et
M^{lle} BENSIDHOUM Leila, qui dans leur rôle d'anciens m'ont
beaucoup apporté par leur partage de l'expérience pratique,*

*Je vous remercier grandement pour tout le temps que vous
m'avez consacré pour réaliser ce travail, j'ai partagé avec vous
un vrai esprit d'équipe et d'amitié.*

*A toute personne ayant contribué à l'élaboration de ce travail,
en particulier ; M^{me} LAHOUCHE. R, M^r LAHOUCHE. H, M^r
MEBARKI. Y et Mr MOUSSI (enseignants à l'université de
A/MIRA de Béjaïa),*

*Les ingénieures de laboratoire de Mycologie ; M^{lle} ATI. F
et M^{lle} BOUCHEFA. DJ,*

Merci pour votre aide, conseils et encouragement

*Merci à toutes les personnes qui m'ont aidé, en me faisant
profiter de leur expertise ou de leur matériel*

*A toutes les personnes citées et les autres que j'aurais pu
oublier : Merci*

KHELLOUFI Nouria



Dédicaces

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

Et ceux qui ont toujours cru en moi dès ma plus tendre enfance

A mes chers parents pour leur amour et leur support continu

*Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma
profonde reconnaissance pour tout ce que*

vous avez fait pour moi

A mon mari

*pour sa patience, pour avoir su gérer mes crises d'angoisse, et
pour m'avoir permis de rédiger dans les meilleurs conditions qu'il
puisse y avoir.*

A tout membre de sa famille, grands et petits

A mes sœurs et frères à qui je souhaite une heureuse vie

A toutes mes chères amies

A toutes mes copines de la promotion



Listes des figures

N°	Titre	Page
1	Microalgue	4
2	Macroalgue	5
3	Site de prélèvement des algues	20
4	Les différentes méthodes de l'isolement à partir des algues	23
5	Quelques aspects des colonies obtenues sur milieu ZoBell	29
6	Résultats des tests d'activité enzymatiques appliqués	30
7	Tests d'activités enzymatiques réalisées à différentes concentrations en NaCl	36
8-a	courbes de croissance des isolats (S6, S13, S26, S32) aux différentes concentrations en NaCl	39
8-b	courbes de croissance des isolats (S18, S36, S23, S24) aux différentes concentrations en NaCl	40
8-c	courbes de croissance de l'isolat (S12) aux différentes concentrations en NaCl	41
9-a	courbes de croissance des isolats (S6, S13, S26, S32) aux différentes concentrations en NaCl avec présence de l'extrait d'algue	43
9-b	courbes de croissance des isolats (S18, S36, S23, S24) aux différentes concentrations en NaCl avec présence de l'extrait d'algue	44
9-c	courbes de croissance de l'isolat (S12) aux différentes concentrations en NaCl avec présence de l'extrait d'algue	45

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Les échantillons d'algues et leurs caractéristiques	21
II	Résultats des différents tests d'activités enzymatiques	30
III	Les pourcentages d'activités enzymatiques des isolats	31
IV	Caractères culturaux et morphologiques des bactéries	32
V	Résultats des tests biochimiques des isolats	32
VI	origines des isolats sélectionnées	33
VII	Résultats des différents tests d'activités enzymatiques à différentes concentration de NaCl	34
VIII	Résultats de l'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl en présence de l'extrait d'U. lactuca	36
IX	Moyennes de la croissance en fonction de la concentration en NaCl	38
X	moyennes de la croissance bactérienne en fonction de la concentration de NaCl en présence de l'extrait d'algue	42

Sommaire

Introduction-----1

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les algues et leur association avec les bactéries

I. Généralités sur les algues

1. Définition-----3

2. Habitat-----3

3. Structures des algues-----3

 3.1- Microalgues-----4

 3.2- Macroalgues-----4

4. Composition des algues-----5

 4.1- L'eau-----5

 4.2- Les sucres-----5

 4.3- Les minéraux-----5

 4.4- Les protéines-----6

 4.5- Les vitamines-----6

 4.6- Les lipides-----6

 4.7- Les pigments-----6

5. Les applications des algues-----6

 5.1- L'alimentation humaines-----7

 5.2- L'alimentation animale-----7

 5.3- Médecine et pharmacie-----8

 5.4- Agriculture-----8

5.5- Cosmologie-----	9
5.6- Environnement, dépollution-----	9
5.7- D'autres applications-----	9

II. Association algue- bactéries

1. Rôle des bactéries dans l'écosystème marin-----	10
2. Rôle des algues dans l'écosystème marin-----	11
3. Intérêt de l'association algue- bactéries-----	11

Chapitre II : Les enzymes d'intérêt agricole

1. Source d'enzymes-----	14
2. Les enzymes d'intérêt agricole-----	14
2.1- Cellulases-----	15
2.2- Amylases-----	15
2.3- Chitinases-----	16
2.4- Phosphatases-----	17
2.5- Protéases-----	17
2.6- Uréases-----	18
2.7- Lipases-----	18

Partie pratique

Matériel et méthodes

1. Prélèvement-----	20
2. Isolement de bactéries-----	22
3. Recherche d'enzymes d'intérêt agricole-----	24
3.1- Détermination de l'activité cellulastique-----	24
3.2- Détermination de l'activité estérastique-----	24
3.3- Détermination de l'activité lipolytique-----	24
3.4- Détermination de l'activité chitinastique-----	25

3.5- Détermination de l'activité protéasique-----	25
3.6- Détermination de l'activité amylasique-----	25
4. Etude des bactéries isolées-----	26
4.1- Mobilité et morphologie microbienne-----	26
4.2- Coloration de Gram-----	26
4.3- Test de la catalase-----	26
4.4- Mise en évidence du nitrate réductase-----	26
4.5- Fermentation des sucres et production de H ₂ S-----	27
4.6- Citrate-----	27
5. Recherche de l'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl-----	27
6. Recherche de l'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl avec ajout de l'extrait d'algue-----	27
7. Détermination de l'effet de la concentration en NaCl sur la croissance bactérienne-----	28
8. Détermination de l'effet de la concentration de NaCl sur la croissance bactérienne en présence de l'extrait d'algue-----	28

Résultats

1. Isolement de bactéries-----	29
2. Recherche des enzymes d'intérêt agricole-----	29
3. Identification des isolats-----	31
4. L'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl-----	33
5. L'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl et en présence des extraits de l'algue marine <i>U. lactuca</i> -----	34
6. Effet de la concentration en NaCl sur la croissance bactérienne-----	36
a) Sans extraits d'algue marine-----	36
b) En présence des extraits d'algue marine-----	40

Discussion

1. Recherche d'enzymes à intérêt agricole-----	46
1.1- Activité cellulasique-----	47
1.2- Activité amylasique-----	47
1.3- Activité protéasique-----	48
1.4- Activité chitinasique-----	48
1.5- Activité lipasique et estérasique-----	49
2. Identification des isolats-----	50
3. L'activité enzymatique à différentes concentrations de NaCl-----	54
4. L'activité enzymatique à différentes concentrations de NaCl, avec ajout de l'extrait d'algue-----	55
5. La croissance bactérienne sur milieu salé-----	56
6. La croissance bactérienne en milieu liquide avec différentes concentrations de NaCl avec ajout de l'extrait d'algue-----	57
<i>Conclusion et perspectives</i> -----	58

Références bibliographiques

Annexes

Les océans et les mers représentent près des trois-quarts de la surface du globe. La vie sur terre est apparue dans le milieu marin il y a environ 3,8 milliards d'années alors que les premières espèces terrestres remontent, quant à elles, à 400 millions d'années. Cette différence se traduit aujourd'hui par une plus grande diversité des espèces dans le milieu marin (AINANE, 2011), La grande diversité des organismes marins offrent une source riche de plusieurs composés naturels bioactifs avec diverses activités biologiques (Wijsekara *et al.*, 2010).

Par ailleurs, les propriétés bioactives des algues marines qui occupent une place importante dans le milieu marin avec plus de 1200 espèces appartenant à tous les niveaux évolutifs et les microorganismes marins ont été analysés et des résultats positifs ont été obtenus. Beaucoup d'espèces d'algues marines viennent souvent accompagnées de plusieurs souches bactériennes (Blunt *et al.*, 2006).

Puisque les ressources de la terre sont déjà bien utilisées, des scientifiques ont commencé à commuter leur attention vers la mer, car elle est vaste et encore inexploitée. L'environnement marin diffère considérablement de la terre et par conséquent il y a une possibilité de trouver de nouveaux composés chimiques exceptionnels avec un mode d'action différent. Actuellement, il y a environ 11.000 produits naturels marins qui sont seulement découverts comparés à plus de 155.000 produits naturels terrestres, dont la plupart d'entre eux proviennent de l'environnement côtier dû à son accessibilité facile (Bhavya *et al.*, 2012).

Les capacités métaboliques et physiologiques qui permettent aux microorganismes marins de survivre en conditions extrêmes (salinité et pression élevée) et forte compétitivité environnementale où l'espace et l'accès aux aliments sont limités (KANAGASABHAPATHY *et al.*, 2006), stimulent potentiellement la production des composés uniques qui ne sont pas présents chez les organismes terrestres. C'est pourquoi les organismes marins sont une source attrayante des composés avec différentes activités (Faulkner, 2002).

L'adaptation des organismes aux fluctuations de l'osmolarité de leur environnement est fondamentale pour leur survie. L'étude de la capacité de résister au stress osmotique n'est pas seulement d'un intérêt biologique général mais d'une importance considérable tant sur le plan économique que sur celui de la santé publique. Les industries de fermentation, la préservation des aliments et le développement de cultures agricoles dans les zones semi-arides sont autant d'exemples où l'intérêt économique est certain.

Beaucoup de travaux ont été publiés ces dernières années sur la découverte des substances à activité multiple (anticancéreuse, antibactérienne,...) d'origine bactérien marin, mais peu d'études sur des enzymes à intérêt agricole de même origine.

C'est dans cette optique que notre travail est dirigé; il s'agit d'un isolement de bactéries associées aux algues marines de la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa, suivi de leur purification et caractérisation. Tester leur capacité de synthèse des enzymes extracellulaires, leur pouvoir de croissance et de synthèse d'enzymes dans des concentrations élevées de NaCl en absence et en présence de l'extrait d'algue *Ulva lactuca*.

I/ Généralités sur les algues :

1. Définition

Les algues sont des organismes chlorophylliens se développant dans l'eau ou dans des milieux très humides, elles sont très adaptées à survivre dans les conditions de fortes complexité et concurrence, y compris les niveaux extrêmes de salinité, les variations de la température, les basses intensités de la lumière et les habitats avec déficience nutritive (Samarakoon et Jeon, 2012). Les algues appartiennent au règne végétal mais elles ne constituent pas un ensemble homogène. Elles comprennent 20000 à 30000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal (GARON - LARDIERE, 2004 ; FARID et *al.*, 2009). Elles peuvent être libres ou fixées sur un support. Leurs tailles varient du micromètre à plusieurs dizaines de mètres pour certaines algues (FALLER, 2011).

2.Habitat :

Les algues occupent une bonne partie du globe. La plupart vivent dans les océans, où elles constituent près de 90% des végétaux, elles colonisent aussi les eaux des mers, des lacs, des mares, des eaux courantes et des eaux thermales, on en trouve également sur les rochers humides et sur la terre. Exceptionnellement, elles peuvent être endophytes des tissus animaux ou végétaux. Elles peuvent collaborer avec d'autres organismes donnant naissance à des symbioses comme les lichens. La répartition des algues en milieu aquatique est fonction de la latitude et de la qualité des eaux (FALLER, 2011 ; Durand, 1980).

3.Structure des algues :

Leur appareil végétatif ou thalle est extrêmement variable, aussi bien en forme qu'en dimension. Il peut ainsi être formé d'une seule cellule allant de quelques dizaines de microns à une dizaine de centimètres ; il peut au contraire comporter de très nombreuses cellules et atteindre plusieurs dizaines de mètres de longueur. Les algues se distinguent donc des autres végétaux par leur thalle, appareil végétatif uni- ou pluricellulaire, dépourvu de racines, de tiges et de feuilles (GARON -LARDIERE,

Chapitre I : Généralités sur les algues et leur association avec les bactéries

2004 ; Gupta et Abu-Ghannam, 2011). Comme pour les plantes, les algues possèdent des pigments chlorophylliens qui leur procurent l'énergie nécessaire à leur survie.

3.1. Microalgues : sont des êtres photosynthétiques unicellulaires peuplant les océans et cours d'eau depuis plus de trois milliards et demi d'années (PERSON, 2010). La cellule unique des microalgues unicellulaires est capable d'assurer toutes les fonctions. Leur taille est d'une dizaine de microns et la plupart d'entre elles sont adaptées à la flottaison. De nombreuses espèces possèdent un ou plusieurs flagelles mobiles qui leur confèrent une véritable aptitude à la nage (FALLER, 2011; Samarakoon et Jeon, 2012).

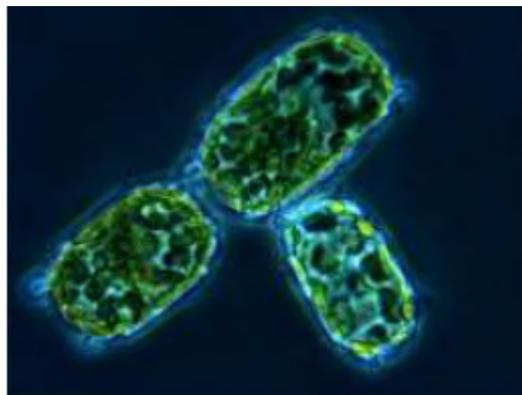


Figure 1 : microalgue

3.2. Macroalgues :

Les macro-algues sont des composants essentiels des écosystèmes côtiers, riches en matière de la diversité génétique et pouvant occuper des milieux très diversifiés. Il existe trois grands groupes ou « lignées » de macro-algues en fonction de leur pigmentation, qui sont les algues vertes (Chlorophycées), les algues rouges (Rhodophycées) et les algues brunes (Phéophycées) (Carlsson et *al.*, 2007 ; PERSON, 2010; Samarakoon et Jeon, 2012).

Les macroalgues sont constituées à leur base par des crampons, leurs permettant de se fixer sur un support. Elles absorbent les nutriments par toute la surface du thalle en contact avec l'eau. Les crampons sont surmontés d'un pédoncule de longueur et de diamètre variable, le stipe. L'algue se termine par une fronde qui peut être découpée en filaments, cordons ou lanières (FALLER, 2011; Roesijadi et *al.*, 2010).



Figure 2 : Macroalgues

4. Composition des algues :

4.1. L'eau : Elles sont constituées de 90% d'eau, contenue essentiellement dans des vacuoles cellulaires, ainsi que dans le cytoplasme et la paroi cellulaire (FALLER, 2011).

4.2. Les sucres :

La paroi est constituée de nombreux polysaccharides de haut poids moléculaire (sucres complexes) assurant une barrière très efficace qui empêche l'eau de fuir. Selon les catégories d'algues, les sucres sont différents. Les polysaccharides les plus extraits sont les agars, les carraghénanes et les alginates. Selon les espèces, ces sucres représentent entre 40 et 70% de la matière sèche (FALLER, 2011).

4.3. Les minéraux :

Les minéraux de l'environnement extérieur sont retenus dans la paroi des algues, sans modifier l'équilibre osmotique car ils pénètrent « pas ou peu » dans la cellule. Les minéraux peuvent représenter jusqu'à 40% de la matière sèche. L'eau de mer possède beaucoup de minéraux, ainsi les algues capturent les minéraux rares et assimilables par l'organisme (sodium, magnésium, potassium, calcium, phosphore, chlore, soufre, iode, zinc, fer, aluminium, manganèse, nickel, argent, plomb ...) (FALLER, 2011 ; Gupta et Abu-Ghannam, 2011).

4.4. Les protéines :

Chez certaines algues vertes et rouges, les protéines peuvent constituer jusqu'à 35% du poids de matière sèche. Chez les algues rouges et bleues, il existe des protéines constituant les principaux pigments de ces algues : les phycobiliprotéines. L'algue la plus connue pour sa richesse en protéine est la spiruline (microalgue d'eau douce). On retrouve également la plupart des acides aminés essentiels (Samarakoon et Jeon, 2012).

4.5. Les vitamines :

Les algues sont également très riches en vitamines (A, B, B2, B3, B6, B12, C, D, E, K, PP, riboflavine, acidpantothanic and acidfolic) mais leur teneur est fonction des saisons (Burtin, 2003 ; Gupta et Abu-Ghannam, 2011).

4.6. Les lipides :

La teneur lipidique est très faible seulement 1 à 3% de matière sèche. Les algues vertes ont une teneur beaucoup plus élevée en acide oléique (C18 : 1) et en acide alpha-linolénique (acide gras indispensable non synthétisé par l'homme (Burtin, 2003)).

4.7. Les pigments :

La couleur des algues est due aux pigments qu'elles contiennent ou ne contiennent pas. Ainsi on peut découvrir des algues vertes, rouges, roses, jaunes, brunes, oranges, noires, des grises voire même des blanches, des violettes et des bleues (FALLER, 2011).

On distingue ; la chlorophylle, xanthophylle, caroténoïde, β -carotène, phycobiline.

5. Les applications des algues :

On estime que sur notre planète, l'activité photosynthétique réalisée par les algues marines occupe plus de 90%, constituant ainsi notre principale source d'oxygène (GARON -LARDIERE, 2004). En dehors de ce rôle primordial, il faut citer les multiples utilisations directes dont font l'objet les algues d'eau douce ou marines.

Chapitre I : Généralités sur les algues et leur association avec les bactéries

Les algues ont déjà une valeur commerciale reconnue dans des domaines variés, tels que : l'alimentaire, le cosmétique, le textile, la papeterie, le pharmaceutique et le médical. Elles sont une source importante de polysaccharides (agars, carraghénines, alginates) utilisés comme agents émulsifiants, épaississants et stabilisateurs dans les industries alimentaires. Leurs propriétés antibiotiques, antivirales et anti inflammatoires leur confèrent une valeur appréciée en pharmacie et en médecine (Hong, 2007 ; AINAN, 2011 ; Zbakh et *al*, 2012).

5.1. L'alimentation humaine :

Consommées depuis la nuit des temps en Asie (les premières traces d'utilisation alimentaires des algues remontent au 4ème siècle au Japon), (PERSON, 2010; Samarakoon et Jeon, 2012). C'est la principale utilisation des algues dans le monde, cela représente 75% de l'exploitation totale des algues. Les principaux producteurs sont les pays asiatiques (Chine, Corée et Japon) qui sont à l'origine des ¾ de la production mondiale, dont les 90% proviennent de la culture (FALLER, 2011; Roesijadi et *al*, 2010). Elles sont avant tout consommées entières en tant que légumes, utilisées quotidiennement en salades, dans des soupes, sous forme de condiments ou de légumes d'accompagnement. Les carraghénanes (d'appellation industrielle E407) sont beaucoup utilisés dans l'alimentation humaine : dans le lait et ses dérivés, les crèmes, les glaces, les gâteaux, les flans, les mousses, les yaourts gélifiés et les sauces (Lynn cornish et Garbary, 2010). Comme les carraghénanes, les agars (polymères issus des parois cellulaires d'algues rouges) sont utilisés comme stabilisants des émulsions et des suspensions et comme agents gélifiants et agents d'enrobage d'aliments. Environ 90% de la production d'agar est destinée pour des applications alimentaires et les 10% restants pour des utilisations bactériologiques et autres utilisations biotechnologiques (AINAN, 2011).

5.2. L'Alimentation animale :

Utilisées autrefois de façon traditionnelle dans certaines régions côtières où les animaux d'élevage étaient amenés à paître sur les grèves, les algues sont aujourd'hui des ingrédients introduits dans l'alimentation animale pour plusieurs applications. On

Chapitre I : Généralités sur les algues et leur association avec les bactéries

les retrouve dans la formulation des aliments sous forme de farines. Elles peuvent aussi intervenir comme compléments alimentaires en nutrition animale. Des effets prébiotiques, antioxydants, immunostimulants et autres leur sont reconnus et valorisés dans des aliments comme ceux pour les poules pondeuses, les jeunes lapins, ou dans les pierres de sels minéraux (iode...) pour bovins, ovins, caprins...(Samarakoon et Jeon, 2012; Roesijadi et *al*, 2010).

5.3. Médecine et pharmacie :

Exploitées dans la médecine chinoise traditionnelle (Durand, 1980). Les molécules les plus utilisées commercialement dans le secteur santé-pharmaceutique sont, alginate, carraghénane et agar. On retrouve les alginates dans les pâtes pour empreintes dentaires, comme antiacides pour les brûlures d'estomac ou les reflux gastriques. Dans le secteur médical, ils interviennent au niveau du traitement des plaies dans les compresses hémostatiques, les pansements hydrocolloïdes pour brûlures (PERSON, 2010). Les agars interviennent dans le domaine médical et pharmaceutique pour produire des agents gonflants, laxatifs, suppositoires, gélules, comprimés et anticoagulants. Les carraghénanes présentent, quant à eux, plusieurs possibilités d'utilisation comme produits pharmaceutiques : anti tumoraux, antiviraux, anticoagulants, des activités d'immunomodulation (AINAN, 2011).

5.4. Agriculture :

Historiquement et traditionnellement, les macro-algues sont utilisées comme engrais dans le monde entier au niveau des régions côtières (AINAN, 2011; PERSON, 2010). Les algues sont particulièrement riches en éléments fertilisants majeurs azote et potassium ainsi qu'en éléments fertilisants secondaires soufre, calcium, magnésium, et en oligoéléments (PERSON, 2010).

L'agar est utilisé afin de conserver les semences en les enrobant d'un gel de faible teneur en matières minérales. Elle est également conçue pour la préparation de substrats pour la culture, ainsi que pour le développement des plantes *in vitro* (FALLER, 2011).

Chapitre I : Généralités sur les algues et leur association avec les bactéries

Les macro-algues brunes entrent aussi dans la formulation de supports de culture (terreaux enrichis) et d'engrais sous forme de farines ou d'extraits liquides (PERSON, 2010).

5.5. Cosmologie :

Les algues marines sont utilisées dans l'industrie cosmétique, puisqu'elles possèdent des propriétés bénéfiques à la santé humaine telle que les effets antioxydant, anti-âge, immunité-stimulant, anti-inflammatoire et anti-irritant (Samarakoon et Jeon, 2012). Aujourd'hui, il existe une large gamme de produits à base d'algue : on les trouve sous forme de savon, de shampooing, de pâte à raser, de teinture, de crème tonique, de produit de maquillage, de produit de bain pour leur action externe et en tisane par exemple pour leur action interne (PERSON, 2010 ; FALLER, 2011).

5.6. Environnement, dépollution :

Les macroalgues permettent la réduction de la charge en sels nutritifs en consommant de façon naturelle les nitrates, phosphates, et autres éléments. Cela présente d'important intérêt environnemental pour les estuaires et zones côtières eutrophisées. Une action dépolluante et détoxifiante est rendue possible du fait de la capacité des polysaccharides de paroi (alginates, carraghénanes, ulvanes) à se lier aux cations lourds, donc à fixer les métaux lourds (Carlsson et *al*, 2007; PERSON, 2010).

5.7. D'autres applications :

Les sels d'alginate présentent un grand intérêt dans l'industrie textile permettant ainsi une meilleure pénétration de la couleur dans les fibres textiles. Les alginates sont également utilisés dans les finitions du papier, conférant, en surface, un film doux, continu et sans crochet. Ils sont notamment employés pour les papiers d'emballage. Les extraits d'algues sont également employés dans les emballages biodégradables, voire dans les vêtements jetables (FALLER, 2011; Gupta et Abu-Ghannam, 2011).

L'agar en bactériologie joue le rôle d'agent gélifiant intervenant dans l'élaboration des milieux de culture (PERSON, 2010).

II/Association Algues-bactéries

Le terme même de symbiose, tel qu'il a été défini par Anton De Bary en 1879, englobe « toute association étroite et durable entre deux organismes hétérospécifiques ». De fait, aussi bien le mutualisme (où les bénéfices sont réciproques pour les deux partenaires) ou à l'inverse le parasitisme (association à bénéfice unilatéral) en passant par le commensalisme (relation bénéfique pour un partenaire et sans incidence sur l'autre) sont des symbioses. Cependant le terme « symbiose » est souvent assimilé de façon restrictive aux seules relations à bénéfices mutuels (BRISSAC, 2009).

L'environnement marin est un écosystème complexe avec une énorme pluralité de formes de la vie qui sont associées entre eux, les associations les plus communes trouvées sont entre cellules eucaryote et micro-organismes (Al d'Eganet, 2008). La surface de tous les organismes marins eucaryotes sont couvertes par les microorganismes qui vivent en adhérence aux diverses communautés (Pérez –Matos et *al.*, 2007).

1. Rôle des bactéries dans l'écosystème marin :

Les bactéries sont une composante essentielle de la zone pélagique du fait de leur biomasse d'une part, et de leur rôle dans le recyclage des nutriments et de décomposition de la matière organique d'autre part.

On peut considérer les bactéries comme une source potentielle de carbone, d'azote et de phosphore car elles stockent une grande partie de ces éléments. Whitman et *al.* (1998) estiment que le contenu cellulaire procaryote en carbone sur terre est de 350 à 550 Pg de C (1 Pg = 10¹⁵g), soit 60 à 100% du contenu en carbone dans les plantes. Le carbone, l'azote et le phosphore sont nécessaires à la croissance de tout organisme vivant (DORIGO, 2005).

Les bactéries marines jouent un rôle principal dans la régulation de l'accumulation, exportation, re-minéralisation et transformation de la plus grande partie de la matière organique dans les écosystèmes aquatiques (Arnosti et *al.*, 2009 ; Khandeparker et *al.*, 2011).

Chapitre I : Généralités sur les algues et leur association avec les bactéries

Une série d'enzymes ecto- et exocellulaires participent à la décomposition de la matière organique dissoute (MOD) et la matière organique en particule (MOP) tel que les peptidases, les endo- et exonucléases, les lipases ; les α - et β -glucosidases et les phosphatases alcalines). Ces enzymes sont situées sur la surface externe de la membrane cellulaire et/ou dans l'espace périplasmique des cellules bactériennes (ecto-enzymes) ou elles sont libérées dans l'environnement en tant que enzymes libres (extracellulaires) (Rath et *al.*, 1993 ;Belanger et *al.*, 1997 ; Siuda et Chrost, 2001).

2. Rôle des algues dans l'écosystème marin

L'importance des algues dans le milieu aquatique est due à leur situation à la base du cycle biologique existant dans l'eau. Elles constituent le point de départ de la chaîne alimentaire qui aboutit aux peuplements piscicoles exploités par l'homme. Utilisant l'énergie lumineuse, elles sont, avec quelques bactéries mises à part, les seuls organismes qui synthétisent des hydrates de carbone et la matière organique à partir des éléments minéraux dissous dans le milieu (Durand, 1980 ; Mercado et *al.*, 2012).

Les algues ont aussi la capacité de libérer l'oxygène contenu dans la molécule d'eau grâce au processus de la photosynthèse. Elles contribuent au processus de la respiration des organismes aquatiques (Gomez et *al.*, 2010).

3. Intérêt de l'association algue-bactéries

Peu est connu sur l'interaction entre les algues et la communauté bactérienne dans sa phycosphère en raison de la complexité de cette relation. Les bactéries sont libres, vivant dans la phycosphère, ou sont attachées à la surface des cellules d'algues, ou peuvent encore se produire en tant que symbiontes intracellulaires des algues.

Il y a des interactions écologiques spéciales entre l'algue et les bactéries vivant dans sa phycosphère. L'algue considérée comme le producteur primaire le plus important dans l'écosystème marin, peut libérer de grands nombres de composés organiques (tel que les hydrates de carbone, les acides aminés et les peptides, les sucres, les polyols, les vitamines, les enzymes, et les toxines) qui peuvent être assimilés par les bactéries et contribuent à la chaîne alimentaire bactérienne (Wang et *al.*, 2010). Les bactéries à

Chapitre I : Généralités sur les algues et leur association avec les bactéries

leur tour, peuvent fournir à l'algue les aliments inorganiques et les facteurs de croissance, influençant ainsi sa croissance, sa reproduction, la formation de kystes et la mortalité.

Il a été constaté que la population des algues présente une croissance importante en présence de bactéries qu'en leur absence.

Les interactions bactérie-algue jouent un rôle principal dans les processus du recyclage biogéochimique dans le cycle microbien (Menezes, 2009 ; Wang et *al.*, 2010 ; Villarreal-Gómez, 2010).

Les algues marines sont aussi à l'origine de différentes sources d'énergie et de carbone, elles sont riches aussi en substances osmoprotectrices (Glycine-bétaine et Diméthyl-sulfonio-propionate –oxalate ou acétate) qui sont utilisées par plusieurs bactéries afin de challenger le stress salin (Ghoul et *al.*, 1995).

De nombreuses études ont montré que les bactéries épibiotiques jouent aussi un rôle important dans le contrôle de la population microbienne sur la surface d'algue, en empêchant la croissance, ou en influençant le comportement des bactéries potentiellement concurrentes (BOYD et *al.*, 1999 ; Thakur et *al.*, 2004).

En terme d'écologie chimique, il semble probable qu'il existe un rôle « protecteur » chez quelques souches bactériennes épiphytes présentes sur la surface des algues, émettant ainsi dans l'eau de mer environnante des composés chimiques faisant obstacle aux bio-salisseurs extensifs des surfaces (Hallsworth et *al.*, 2001).

L'étude des mécanismes impliqués dans les produits naturels résultants de la biosynthèse des bactéries marines a montré que la synthèse de nombreux composés bioactifs est stimulée par des associations bactérie-algue (Lipp et *al.*, 2008). Ces composés sont considérés comme une ressource durable (Martin et *al.*, 2002 ; Pace, 2009).

La compétition des microorganismes pour l'espace et nutriments dans l'environnement marin est un facteur important qui induit ces microorganismes marins à produire des composés naturels possédant une efficacité sur le plan médical et industriel (KANAGASABHAPATHY, 2006).

Les enzymes, molécules catalysant des réactions chimiques de grandes spécificités et taux de perfectionnements. Ces réactions sont la base du métabolisme de tout organisme vivant, et fournissent aux industries une énorme chance d'effectuer des conversions biocatalytiques efficaces et économiques (Beilen et Li, 2002). Aujourd'hui, les enzymes sont utilisées dans de nombreuses nouvelles applications industrielles (alimentaire, agricole, textile, pharmaceutique...) ayant comme résultat des réductions significatives du coût et du temps. Approximativement, 75% des enzymes industrielles sont des hydrolases, puis des carbohydrases en deuxième lieu (Bhat, 2000).

1.Sources d'enzymes

Il est à noter qu'à ce jour près de 90 % des enzymes commercialisées sont d'origine microbienne (Durand, 1980).

De tous les organismes, les bactéries sont les plus adaptables à toutes sortes de ressources énergétiques. Puisque les bactéries prennent seulement de petites molécules, elles doivent dégrader les substrats polymères extracellulaires. Par conséquent, l'activité des enzymes hydrolytiques extracellulaires est un facteur indispensable.

Les communautés bactériennes contiennent une large gamme de l'information génétique pour accumuler les enzymes spécifiques pour la dégradation de la matière organique. Cette capacité est exploitée pour des buts industriels (Boetius et Lochte, 1994).

Plusieurs bactéries et champignons produisent un groupe d'enzymes extracellulaires comme les protéases, les carbohydrases (i.e. cellulases, amylases, xylanases, etc.), les estérases, les phosphatases et les phytases. Ces enzymes sont physiologiquement indispensables à la vie des organismes (Gianfreda et Raorevu, 2004).

2.Les enzymes d'intérêt agricole

De très nombreuses activités enzymatiques peuvent être décelées dans le sol : hydrolases, oxydo-réductase, transférases, lyases. Ils s'agit donc des amylases, arylsulphatases, β -glucosidases, cellulases, chitinases, déshydrogénases, phosphatases, protéases et des uréases, libérées dans cette matrice (Caldwell, 2005).

Ces enzymes jouent un rôle clé dans le processus global de la décomposition de la matière organique dans les écosystèmes (Petit et Jobin , 2005, Acosta-Martinez, 2007), en raison de leurs liens évidents avec les grands cycles biogéochimiques , elles sont synthétisées, accumulées, inactivées et/ou constamment activées dans le sol, selon l'environnement physico-chimique (Caldwell,2005).

Ces enzymes microbiennes sont aussi impliquées dans la bioremédiation de l'environnement par la transformation des polluants, comprenant les déchets insolubles (Gianfreda et Raorevu, 2004).

2.1- Cellulases :

La cellulose est le polymère organique le plus abondant et le plus renouvelable dans la biosphère et le déchet le plus dominant de l'agriculture, comportant presque 50% de la biomasse synthétisée par la fixation photosynthétique du CO₂, considéré une source presque inépuisable de la matière première pour différentes productions (Kuhad et *al.*, 2011, Zhou et *al.*, 2013).

Les cellulases sont les enzymes inductible synthétisées par une grande diversité des micro-organismes comprenant les champignons et les bactéries pendant leur croissance sur les matériaux cellulosiques. Elles ont été disponibles dans le commerce pendant plus de 30 ans, et ces enzymes ont représenté une cible pour les recherches académiques aussi bien industrielles (Sukumaran et *al.*, 2005).

Les cellulases sont utilisées par plusieurs industries, elles sont largement répandues dans l'alimentation humaine et animale, l'agriculture, industrie de papier, et les applications de textile. Leurs intérêts en agriculture comportent le biocontrôle des pathogène et des maladies des plantes, amélioration de la germination des graines et de système racinaire; augmentation de la croissance de plantes et la fleurissant; amélioration de la qualité de sol ; réduction de la dépendance à l'égard les engrais minérales (Kuhad et *al.*, 2011).

2.2- Amylases :

L'amylase est une enzyme hydrolysant l'amidon. Elle est constituée d'une α -amylase et d'une β -amylase (Pandey et *al.*, 2000).

Il est bien établi que les α -amylases sont synthétisées par les plantes, les animaux et les micro-organismes, tandis que, les β -amylases sont principalement synthétisées par les plantes. Plusieurs autres enzymes sont induites en présence de l'amidon, mais ce sont les α -amylases qui dégradent l'amidon en glucose et/ou oligosaccharides, alors que avec les β - amylases on obtient du maltose (Pandey et *al.*, 2000 ; Raj et *al.*, 2009). La synthèse des enzymes amyliques par les bactéries permet une dégradation de la matière organique dans la nature et ainsi fournir des éléments minéraux que les plantes vont utiliser pour leur croissance. Les enzymes amylolytiques sont d'importance cruciale en biotechnologie avec énormes applications dans des différentes industries : alimentaire, de textile et de papier (Raj et *al.*, 2009).

2.3- Chitinases :

La chitine est un polymère linéaire insoluble de β -1,4 acetylglucosamine. C'est un constituant principal dans l'élaboration des parois cellulaires de beaucoup de champignons et nématodes, d'exosquelettes d'insecte, et de coquilles des crustacés (Patel et *al.*, 2010).

Les chitinases ou enzymes chitinolytiques sont principalement responsables de la dégradation de la chitine (poly β -1-4- (2-n acétamide-2-désoxy) - D-glucoside). Elles sont présentes chez divers organismes telles que les bactéries, champignons, insectes, plantes et animaux (Kamil et *al.*, 2007).

Les microorganismes producteurs de chitinases sont qualifiés comme agents de biocontrôle contre plusieurs maladies fongiques des plantes, grâce à leur capacité de dégrader les parois cellulaires des champignons pathogènes (Huang et *al.*, 2005). D'ailleurs, les plantes économiquement importantes comme le blé, arachide, canne à sucre, coton et d'autres plantes ornementales possédant le gène de chitinase ont montré une plus grande défense contre les pathogènes fongiques des plantes, tels que *Rhizoctonia solani*, *botrytis cinerea*, *Cercospora arachidicola*, *alternaria solani*. Les chitinases jouent également un rôle dans la croissance et les processus de

développement ; comprenant le règlement des molécules de signal de nodulation, de l'embryogenèse, et participent à la mort programmée des cellules (Patel et *al.*, 2010).

2.4- Phosphatases :

Le phosphore est un aliment essentiel pour tous les êtres vivants, étant un composant structural et fonctionnel des organismes. Grandes quantités du phosphore élémentaire sont immobilisées dans ces derniers. Les phosphatases sont un large groupe d'enzymes hydrolysant des esters et des anhydrides de l'acide phosphorique (De et *al.*, 2011).

Dans le sol, ces enzymes sont impliquées dans des rôles critiques dans le cycle de Phosphore, et jouent un rôle principal dans l'activité biologique du sol. La forme insoluble du phosphore est convertie en ions monobasiques; ($H_2PO_4^-$) et (HPO_4^{2-}). Ce processus est dit solubilisation minérale du phosphore. Ce qui induit une augmentation de la disponibilité du phosphore et sa prise par les plantes et cette activité serait dû à la synthèse des phytases qui sont très répandus chez les souches *Bacillus* (Alabouvette et *al.*, 2006).

Les phosphatases sont des ectoenzymes cataboliques inductibles des microorganismes aquatiques, le total de l'activité phosphatasique en eau de mer résulte d'un mélange des phosphatases localisé sur les surfaces des cellules bactériennes et celle dissoutes (Mamatha et *al.*, 2012).

2.5- Protéases:

Les protéases jouent un rôle significatif dans la minéralisation de l'azote dans le sol. C'est un processus important dans la disponibilité de l'azote et donc dans la croissance des plantes. Cette enzyme dans le sol est généralement liée aux colloïdes inorganiques et organiques (Nannipieri et *al.*, 2011 ;Petit et Jobin, 2005).

La concentration élevée de cette enzyme extracellulaire est un indice de la capacité biologique présente dans le sol pour dégrader les différents substrats azotés et libérer de l'azote minéral (Petit et Jobin, 2005).

L'activité protéasique peut avoir un effet plus poussé, elle influence indirectement la synthèse des auxines en libérant les acides aminés comme le tryptophane qui est le précurseur de la synthèse de l'AIA et d'autres substances appariées (Mansour et *al.*, 1994).

2.6-Uréases :

L'uréase est responsable de l'hydrolyse de l'urée pour produire le CO₂ et l'ammoniac (NH₃). Elle est utilisée comme indicateur de la qualité du sol, car sa concentration est en fonction du taux de la matière organique (Martinez-Salgado et *al.*, 2010). Cette dernière constitue un engrais potentiel et efficace dans le sol depuis qu'elle augmente la disponibilité de l'azote pour les plantes. En raison de ce rôle, l'activité uréasique dans les sols a suscité beaucoup d'attention depuis qu'elle a été rapportée la première fois par Rotini (1935). L'activité uréasique est très sensible aux concentrations toxiques des métaux lourds, elle est variée selon la profondeur de sol ainsi que l'élévation de la température (Yang et *al.*, 2006).

2.7-Lipases :

Les lipases, ou les triacylglycérol acyl-hydrolases, sont des enzymes atypiques par leur mécanisme d'action et leur spécificité de substrats. Ils forment une classe d'enzymes hétérogènes selon leurs origines, qu'elles soient animales, végétales ou microbiennes, ce qui augmente encore leurs potentialités (Singh et *al.*, 2010). Elles sont largement répandues chez les bactéries (Gram+ en grande quantité), les levures et les champignons filamenteux. La production de lipases est influencée par le type et la disponibilité de la source du carbone et d'azote (de Guzmán et *al.*, 2008). Les lipases sont produites durant la croissance bactérienne, où cette période de production peut varier de quelques heures à plusieurs jours selon les bactéries et les conditions environnementales (de Guzmán et *al.*, 2008). Les lipases forment un groupe souple d'enzymes, grâce au grand nombre de réactions catalysées par ces enzymes, plusieurs applications industrielles sont connues telles que les détergents, exhausteurs du goût (flaveur), recyclage de papier, les systèmes chimiques, mélanges racémiques.

En fonction du micro-environnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique. En tant

qu'hydrolases, elles sont responsables du catabolisme des triglycérides et leurs substrats préférentiels, en acide gras et en glycérol (Prim et *al.*, 2003). Chez de nombreux êtres vivants, cette réaction est capitale, plus de son rôle physiologique majeur dans le métabolisme des graisses et des lipides, certaines lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides et des esters de cholestérol (de Guzmán et *al.*, 2008).

1-Prélèvements :

Dans le but de rechercher des bactéries productrices d'enzymes d'intérêt agricole, différents prélèvements d'algues sont effectués pendant le mois de Mars 2013 dans la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat) (**figure 3**).

Cinq échantillons sont collectés à l'aide d'un couteau stérile, les échantillons sont mis dans des boîtes en verre stériles contenant l'eau de mer environnante, ils sont directement transportés au laboratoire dans une glacière (4°C).

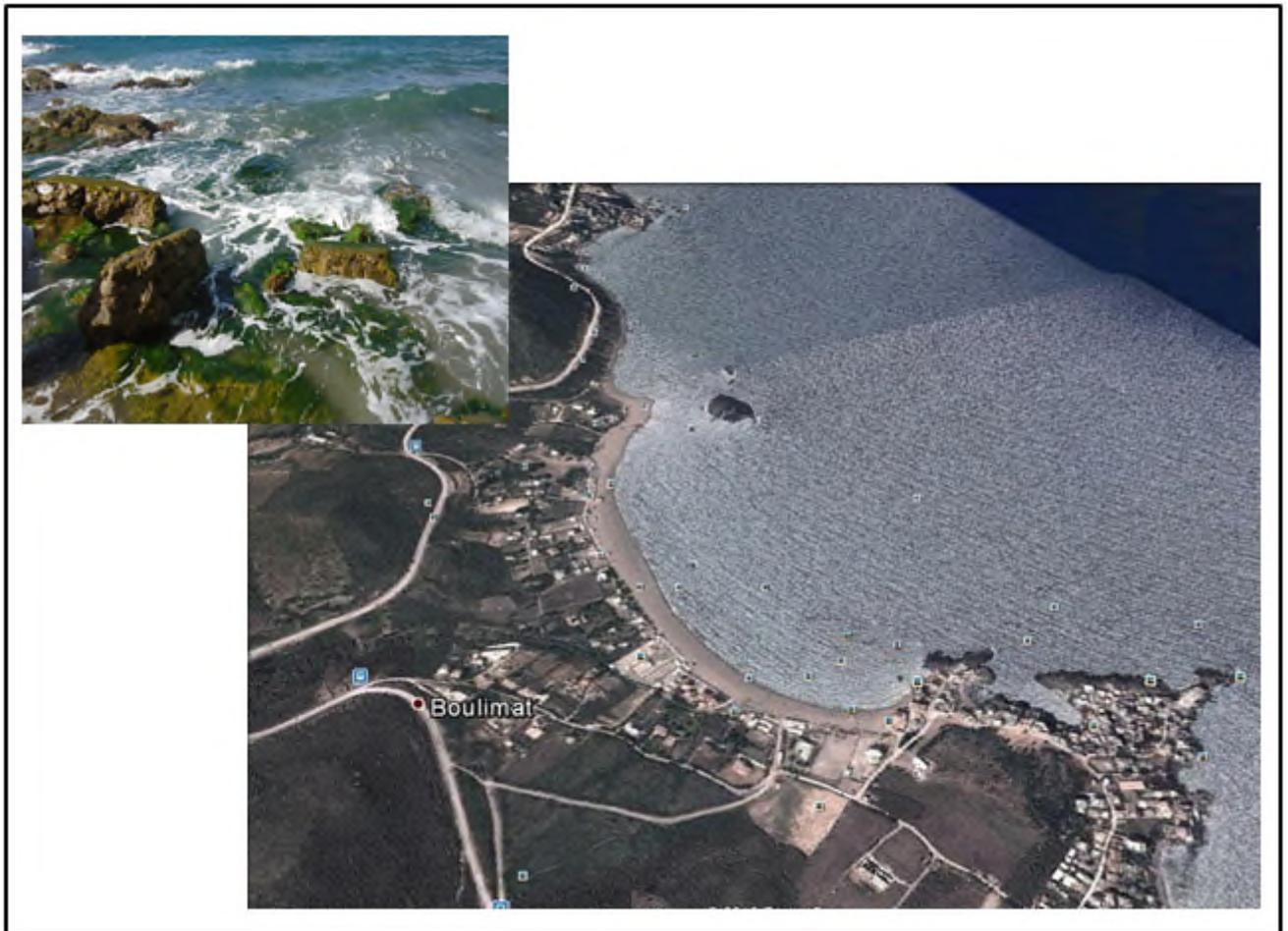


Figure 3 : Site de prélèvement des algues (36° 48' 46, 10" N, 4° 58 ' 53, 18" E).

Tableau I : Les échantillons d'algues et leurs caractéristiques

L'identification des échantillons d'algues est réalisée par **M^r Mousli** de laboratoire d'algologie, FSNV, université de Béjaia, sur la base des caractères phénotypiques : observation sous la loupe.

Échantillon	Algue	Espèce	Aspect
E ₁	Verte	<i>Enteromorpha intistinalis</i>	
E ₂	Verte	<i>Enteromorpha intistinalis</i>	
E ₃	Verte	<i>Ulva lactuca</i>	
E ₄	Brune	<i>Scytosiphonlo mentaria</i>	
E ₅	Verte	<i>Enteromorpha intistinalis</i>	

2-Isolement de bactéries :

Les échantillons d'algue (*Enteromorpha intistinalis* ; *Ulva lactuca* et *Scytosiphonlo mentaria*) sont lavés à l'eau distillée stérile pour éliminer les impuretés et les bactéries faiblement attachées aux algues. L'isolement est effectué sur milieu de ZoBell (voir **Annexe I**) suivant 3 méthodes différentes (**figure 4**):

- a- La surface d'algue est frottée avec un écouvillon stérile, qui est utilisé pour ensemençer des boîtes de milieu ZoBell.
- b- Un morceau de chaque échantillon d'algues est découpé stérilement puis déposé directement à la surface du milieu solide.
- c- La troisième méthode consiste à tremper un écouvillon stérile dans l'eau qui a servi au lavage d'échantillon d'algue, l'essorer à l'intérieur du tube puis le froter sur toute la surface de milieu ZoBell.

Toutes les boîtes sont incubées à 22°C/7J. Des repiquages successifs sont réalisés jusqu'à l'obtention de colonies pures.

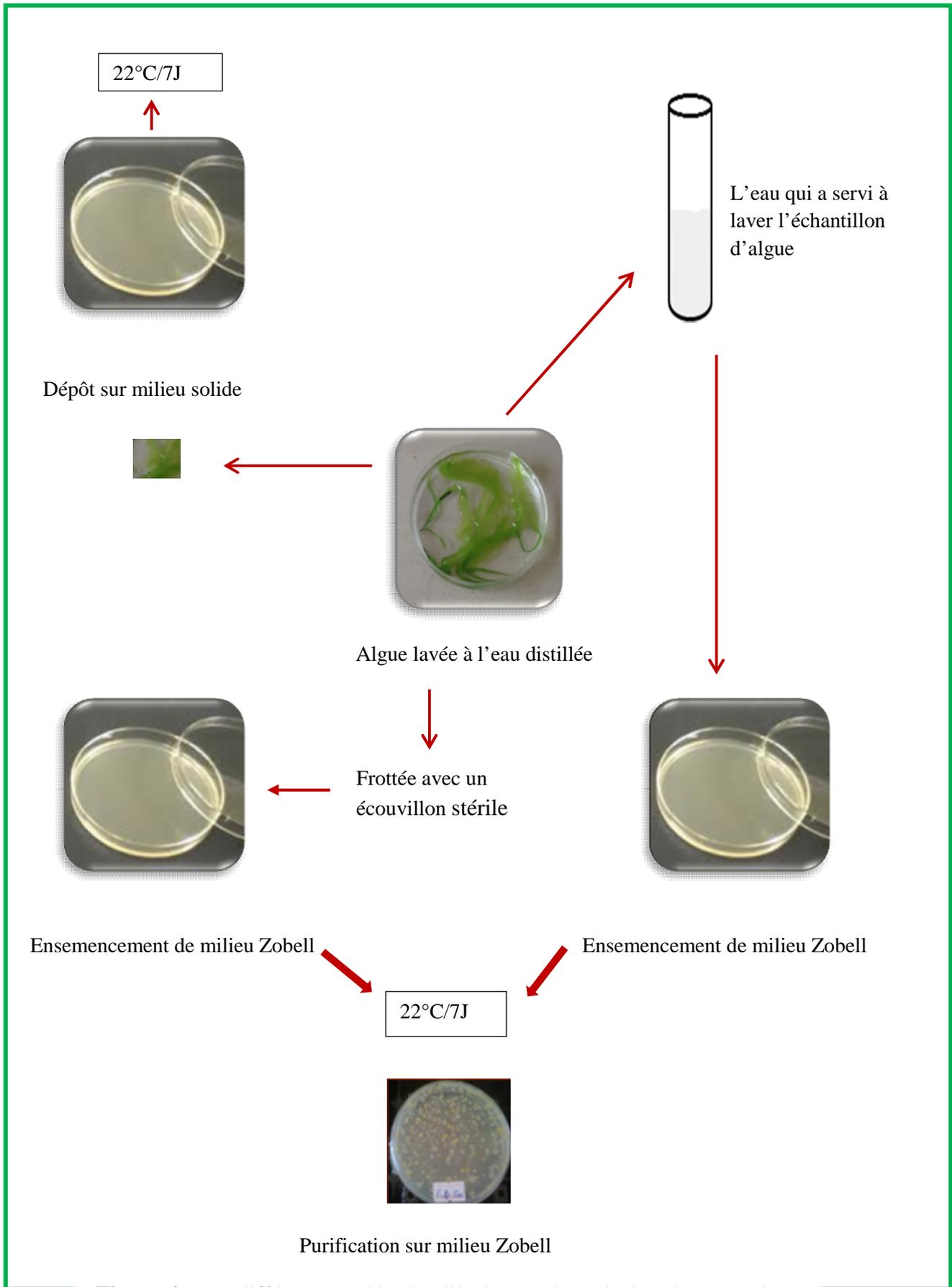


Figure 4 : Les différentes méthodes d'isolement à partir des algues marines

3-Recherche d'enzymes d'intérêt agricole :

Plusieurs enzymes sont recherchées : protéases, cellulases, amylases, lipases, estérases et chitinase, ces enzymes possèdent un rôle soit, dans la fertilisation des sols ou dans le control biologique des maladies de plantes. La méthode suivie est celle des cylindres d'agar.

3.1- Détermination de l'activité cellulasique :

La présence de cellulase est révélée par le repiquage des souches sur milieu de Carder (1986) qui contient en g/l: Na_2HPO_4 (6) ; KH_2PO_4 (3); NaCl (0,5); NH_4Cl (1); Extrait de levures (3) ; CMC (carboxyméthylcellulose) (7) ; Agar (15). Les boites ensemencées sont incubées pendant 8jours (Carrim et *al.*, 2006). Après incubation, une solution de rouge Congo (1%) est ajoutée à la surface des colonies. Après 20 minutes, la surface est inondée avec 1M de NaCl puis laissée au repos une nuit. L'apparition d'un halo clair autour des cylindres traduit la présence d'une cellulase.

3.2-Détermination de l'activité estérasique :

L'activité estérasique est testée sur le milieu de culture utilisé par Sierra (1957). Il contient en g/l : peptone (10) ; NaCl (5.0) ; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.1) ; tween 80 (1%, v/v) et agar (18). Le pH est ajusté à 7,4 (Carrim et *al.*, 2006). Après ensemencement, les boites sont incubées pendant 48h. La présence d'une activité estérasique est traduite par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

3.3-Détermination de l'activité lipolytique :

La recherche de l'activité lipolytique est réalisée de la même manière que l'activité estérasique. Toutefois, le tween 80 est remplacé par le tween 20, et le résultat positif est déterminé par la présence d'un halo clair autour des colonies (Carrim et *al.*, 2006).

3.4-Détermination de l'activité chitinasique :

Le milieu de culture suivant est utilisé, il est composé de la manière suivante en g/l : La chitine colloïdale : 0.8 à 0.6, K_2HPO_4 : 2.7, KH_2PO_4 : 0.3, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.7, NaCl : 0.5, KCl : 0.5, Extraits de levure : 0.13, Agar : 15. l'incubation dure 7 jours minimum. L'activité chitinasique se manifeste par un halo transparent autour de ces disques (Kopečný et *al.*, 1996).

3.5-Détermination de l'activité protéasique :

L'activité protéasique est réalisée sur un milieu de culture contenant en g/l : caséine pancréatique (5) ; Extrait de levures (2,5) ; Glucose (1), Agar (15). Le milieu est ajusté à pH 7. Parallèlement, 100 ml d'une solution de lait écrémé à 10% autoclavée (120°C/10 min) est préparée et ajoutée au milieu. Ce dernier est ensuiteensemencé par la méthode des disques. Les bactéries ayant une activité protéasique montrent un halo transparent autour des disques (Bach et Munch, 2000).

3.6- Détermination de l'activité amylasique :

Le test d'activité amylasique est réalisé sur gélose à base d'amidon. Le milieu contient en (g/l) : KNO_3 (0,5), K_2HPO_4 (1,0), $MgSO_4$ (0,2), $CaCl_2$ (0,1), $FeCl_3$ (0,001), amidon soluble (10,0), agar (15,0). Le pH est ajusté à 7,2. Les boîtes sont incubées pendant 48h-72h.

Une solution de lugol est préparée comme suit : 1g d'Iodine cristallin, 2g de KI, 300ml d'eau distillée. Le tout est mélangé et laissé au repos puis filtré. Après apparition des colonies, la solution de lugol préalablement préparée est éparpillée sur toute la surface du milieu. Ensuite après quelques minutes de contact, l'excès est éliminé et les boîtes sont lavées à l'eau distillée. La lecture s'effectue de la manière suivante :

La présence de l'amidon dans le milieu donnera une couleur bleue noire, ceci implique une absence d'activité amylasique. En revanche, si l'amidon est hydrolysé, une zone

claire apparaîtrait autour des disques d'agar, ce qui traduit une présence d'activité amylasique chez les souches (Vinoth Raj et *al.*, 2009).

Pour toute les activités, les milieux sontensemencés par dépôt d'un disque de 5 mm de chaque souche (âgée d'une nuit) à la surface. L'incubation se fait à 22°C.

4-Etude des bactéries isolées :

12 colonies sont choisies selon la présence des enzymes recherchées. L'étude de ces souches sélectionnées, par une étude morphologique et quelques tests biochimiques, a permis leur caractérisation physicochimique et métabolique.

4.1-Mobilité et morphologie microbienne :

La mobilité et la morphologie des bactéries sont étudiées par observation microscopique à l'état frais d'une culture en phase de croissance. De plus, la mobilité est encore confirmée par repiquage sur milieu spécifique : mannitol-mobilité.

4.2-Coloration de Gram :

Des frottis sont préparés à partir des souches jeunes et pures. Les frottis sont colorés par la méthode de Gram, puis observés au microscope optique (Grossissement x 100) après l'ajout de l'huile à immersion.

4.3-Test de la catalase :

Le matériel bactérien prélevé est mis dans une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). La présence de la catalase s'exprime par un dégagement gazeux.

4.4- Mise en évidence du nitrate réductase :

Les cultures sont réalisées dans le Bouillon-Nitraté. L'apparition de la couleur rouge, après addition des deux réactifs (acide sulfanilique et alpha naphtylamine), est un indicateur de la réduction des nitrates.

4.5-Fermentation des sucres et production de H₂S :

La fermentation des sucres (glucose, lactose) ainsi que la production de H₂S ont été recherchées sur le milieu d'identification combiné : milieu Hajna-Kligler, en ensemençant abondamment la surface par des stries ou par inondation et le culot par une simple piqûre centrale.

4.6- Citrate :

Les bactéries capables d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone pourront se développer sur ce milieu. La fermentation du citrate de sodium entraîne alors une acidification qui provoque un virage de la couleur du milieu de vert au bleu.

5. Recherche de l'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl :

La recherche de l'activité enzymatique est réalisée de la même manière citée précédemment. Toutefois, chaque activité enzymatique est testée avec quatre concentrations différentes en NaCl (0.5, 1, 1.5, 2M) (**Annexe II**).

6. Recherche de l'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl avec ajout de l'extrait d'algue :

- *Préparation de l'extrait d'algue*

L'algue utilisée est une algue verte marine *Ulva lactuca* ou « laitue de mer ». Elle est collectée à partir du même site d'isolement et transportée immédiatement au laboratoire dans de l'eau de mer à 4°C. 500g de cette algue sont mis dans un litre de l'eau distillée et autoclavé 1h/100°C pour libérer le contenu. En fin, Le mélange est filtré à l'aide un papier filtre pour éliminer les particules solides.

L'extrait d'algue est ajouté aux différents milieux soumis à l'étude des différentes activités enzymatiques à raison de 10 % (vol /vol), et pour chaque concentration en NaCl.

7. Détermination de l'effet de la concentration en NaCl sur la croissance bactérienne :

L'effet du NaCl sur la croissance bactérienne est déterminé sur milieu ZoBell liquide contenant différentes concentrations en NaCl (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3M). Le pH est ajusté avec une solution de KOH à 6,8. 5ml de chaque milieux sont inoculés avec 0,1 ml de la solution bactérienne et incubés à 22°C /72 h. La croissance est déterminée par mesure de la DO à 525 nm.

Trois répétitions sont réalisées pour chaque concentration.

8. Détermination de l'effet de la concentration de NaCl sur la croissance bactérienne en présence de l'extrait d'algue :

0.1 ml de la même solution bactérienne est utilisé pour inoculer 4ml de milieu Zobell liquide avec différentes concentrations en NaCl, ajouté de 1ml de l'extrait d'algue. La croissance est déterminée par mesure de la DO à 525nm, après incubation à 22°C/72h. Trois répétitions sont réalisées.

1. Isolement de bactéries

54 colonies différentes sont isolées à partir des échantillons collectés, et cela sur la base de l'aspect des colonies sur milieu solide. Ces colonies présentent une grande diversité concernant la taille, la forme, la couleur et la surface.

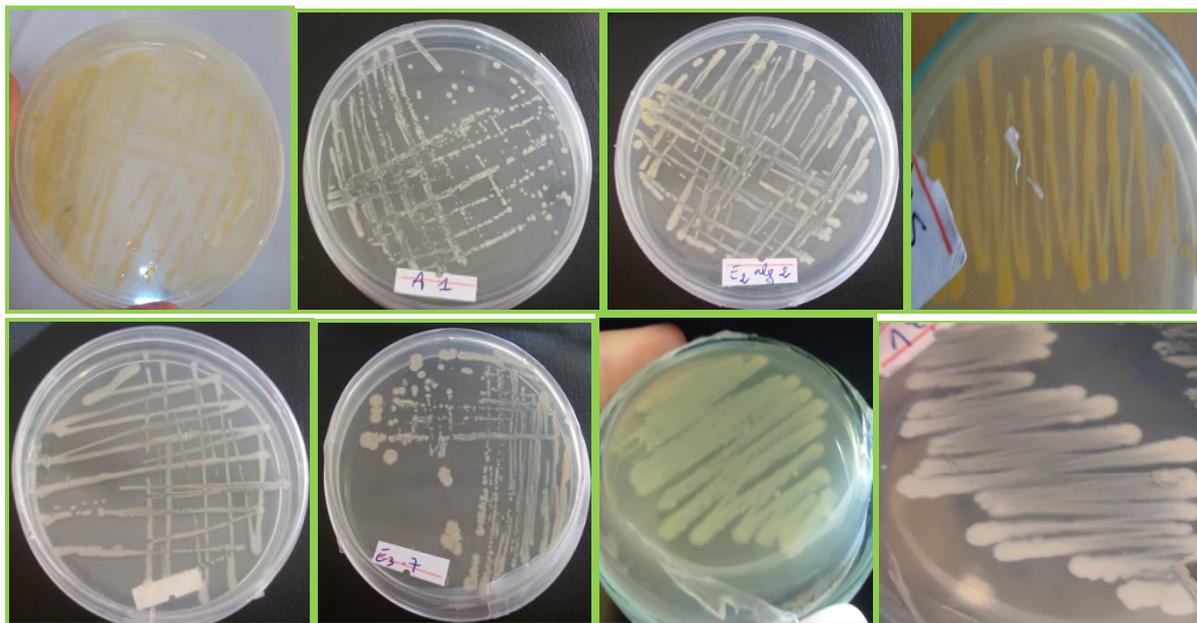


Figure 5 : Quelques aspects des colonies obtenues sur milieu ZoBell.

Concernant l'aspect des colonies, on trouve des colonies crémeuses à bord régulier ou irrégulier, sèches ou très muqueuses ; petites colonies sphériques crémeuses; colonies jaunâtres formant un tapis visqueux ou non visqueux et de petites colonies roses sphériques muqueuses, formant un tapis.

2. Recherche des enzymes d'intérêt agricole :

Les 54 isolats sont testés pour diverses activités enzymatiques : cellulase, chitinase, estérase, protéase, amylase, et lipase. Des tests d'identification ont été effectués sur 12 isolats qui se sont révélés positifs

Tableau II : Résultats des différents tests d'activités enzymatiques réalisés :

Isolat	Cellulase	Lipase	Estérase	Protéase	Chitinase	Amylase
S1	++	+	-	++	-	-
S6	+++	++	++	++	+++	+++
S11	-	+++	++++	-	+	+
S12	++	+	-	+	+	-
S13	+++	++	+	++	+++	+++
S18	++	++	+	+++	+	+++
S23	-	++++	+	++	++	++
S24	+	++	-	++++	++	+
S26	++++	++	-	+++	+++	+++
S32	++	++	+	+	+	+++
S35	-	++	+	+	+	+++
S36	+++	+++	+	+	+++	+++

+: Activité faible; ++ : activité moyenne ; +++ : activité forte ; - : Pas d'activité enzymatique

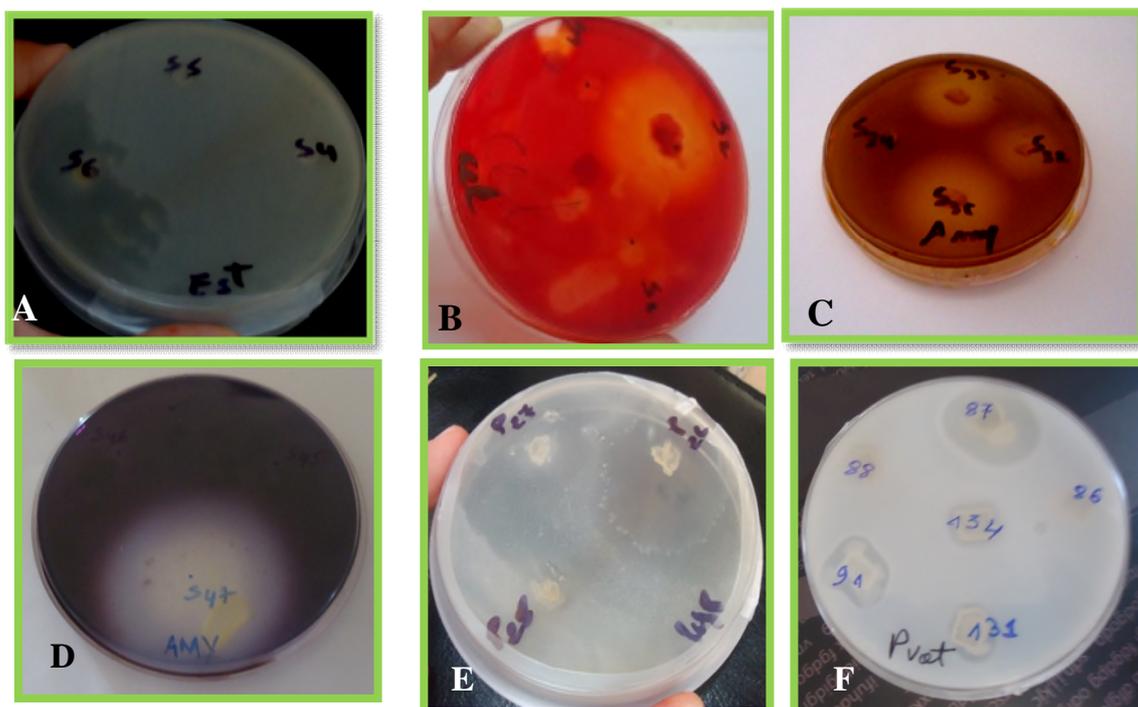


Figure 6 : Résultats des tests d'activités enzymatiques appliqués :

A : Estérase ; B : cellulase ; C : amylase ; D : lipase ; E : chitinase ; F : protéase.

Les résultats de ce test pour les autres isolats sont présentés dans l'**Annexe III**.

Le pourcentage de chaque activité présente chez les 54 isolats est calculé et présenté dans le tableau suivant

Tableau III : Les pourcentages d'activités enzymatiques des isolats

Activité enzymatique	Pourcentage
Cellulasique	75%
Lipolytique	100%
Estérasique	58,33%
Protéasique	66,66%
Chitinasique	75%
Amylasique	83,33%

D'après les résultats (tableau III), on remarque que tous les isolats (54) possèdent de l'activité lipolytique ; viens en deuxième lieu l'activité amyласique qu'est présente chez 83% de 54 isolats. 75% des isolats est le pourcentage occupé par les deux activités cellulasique et chitinasique. Le plus petit pourcentage (58% des isolats) est enregistré pour l'activité estérasique.

3. Identification des isolats :

L'observation de l'aspect cultural et morphologique des colonies isolées et purifiées est réalisée sur milieu Zobell. D'autres observations au microscope optique sont aussi effectuées, à l'état frais et après coloration de Gram (X100).

Tableau IV : Caractères cultureux et morphologiques des bactéries isolées

Isolat	Etat frais	Gram	Mobilité
S1	Cocci	+	-
S6	Bacille très fin	-	-
S11	Coccobacille	-	-
S12	Cocci	+	-
S13	Petit bacille	-	+
S18	Petit bacille	+	-
S23	Cocci	-	-
S24	Bacille	+	-
S26	Coque-diplocoque	-	-
S32	Coccobacille	-	+
S35	Filaments	-	-
S36	Bacille très fin	-	-

L'identification biochimique des isolats sélectionnés est effectuée à l'aide des mini-galeries classiques avec un nombre limité de caractères, les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau V : Résultats des tests biochimiques.

Isolat	Nitrate réductase	Citrate	Mannitol	Catalase	H ₂ S	Production de gaz	Glucose	Lactose
S1	NR ⁻	-	-	+	-	-	-	+
S6	NR ⁺	-	+	++	-	-	+	+
S11	NR ⁻	-	+	+	-	-	-	-
S12	NR ⁺	-	+	++	-	-	-	-
S13	NR ⁺	-	+	++	-	-	+	+
S18	NR ⁻	-	+	+	-	-	+	+
S23	NR ⁺⁺⁺	-	-	+	-	-	+	+
S24	NR ⁻	-	+	+	-	-	-	-
S26	NR ⁺	-	-	+	-	-	+	+
S32	NR ⁺	-	+	+	-	-	+	-
S35	NR ⁺	-	+	++	-	-	+	+
S36	NR ⁺	-	+	++	-	-	+	-

D'après les caractères biochimiques et morphologiques obtenus, les isolats pourraient être comparés sur le plan phénotypique aux genres : *Pseudoalteromonas* (S6, S32, S36) ; *Bacillus* (S18, S24) ; *Acinetobacter* (S23, S26) ; *Micrococcus* (S12) ; *Vibrio* (S13).

Tableau VI : origine des isolats sélectionnés

Les échantillons	Les isolats sélectionnés
<i>Enteromorpha intistinalis</i> (E1)	S18- S23
<i>Enteromorpha intistinalis</i> (E2)	S13- S24
<i>Ulva lactuca</i> (E3)	S1- S6- S36
<i>Scytosiphonlo mentaria</i> (E4)	S11- S32
<i>Enteromorpha intistinalis</i> (E5)	S12- S35- S26

4. L'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl

Parmi les 12 isolats, 9 isolats sont sélectionnés pour les différents tests d'activité enzymatique (cellulase, chitinase, estérase, protéase, amylase, et lipase), en présence de différentes concentrations en NaCl. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII: résultats de l'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl

Isolats	concentration	protéase	lipase	amylase	estérase	cellulase	chitinase
S6	0.5M	++	++	+	+	+++	+++
	1M	++	++	-	+	+++	++
	1.5M	+	++	-	+	+++	++
	2M	+	++	-	+	++	++
S12	0.5M	++	+	-	-	++	-
	1M	++	+	-	-	+	-
	1.5M	+	+	-	-	+	-
	2M	-	-	-	-	-	-
S13	0.5M	+	++	+++	+	+++	++
	1M	++	++	+++	+	++	++
	1.5M	+	++	++	+	++	+
	2M	-	++	+	+	+	-
S18	0.5M	+	++	++	+	++	+
	1M	+	+	+	+	++	+
	1.5M	+	+	+	+	++	+
	2M	-	+	-	+	++	-
S23	0.5M	+	+++	+++	+	-	-
	1M	+	++	+++	-	-	-
	1.5M	+	++	++	-	-	-
	2M	+	++	-	-	-	-
S24	0.5M	++	+	++	-	+	+++
	1M	++	+	+	-	-	++
	1.5M	-	+	+	-	-	++
	2M	-	-	-	-	-	++
S26	0.5M	+++	++	++	-	+++	+++
	1M	++	+	+	-	++	++
	1.5M	+	+	+	-	++	++
	2M	+	-	+	-	-	+
S32	0.5M	+	+	+++	+	+	++
	1M	+	+	+	-	+	++
	1.5M	-	+	+	-	+	+
	2M	-	+	-	-	+	+
S36	0.5M	++	+	+	+	+++	+++
	1M	++	+	+	+	+++	+++
	1.5M	-	+	-	+	+++	++
	2M	-	+	-	+	++	+

La plupart des isolats testés arrivent à produire différentes enzymes jusqu'à 2M de NaCl. Cependant, certains subissent un arrêt de synthèse pour quelques enzymes à 0,5M comme S6 (amylase), S24 (cellulase) et S32 (estérase). Pour les autres isolats, l'activité enzymatique cesse en présence de 1M de NaCl tel que S24 (protéase), S32 (protéase) et S36 (protéase, amylase) et plusieurs exemples à 1,5M comme S12 (protéase, lipase, cellulase), S13 (protéase, chitinase), S18 (protéase amylase, chitinase), S23 (amylase), S24 (lipase, amylase), S26 (lipase, cellulase) et S32 (amylase). Les meilleures activités obtenues jusqu'à 2M de NaCl pour la plus part des isolats testés sont celles de cellulase et chitinase.

5. L'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl et en présence des extraits de l'algue marine *U. lactuca*

Les résultats obtenus sur les tests d'activité enzymatique (cellulase, chitinase, estérase, protéase, amylase, et lipase), à différentes concentrations en NaCl et avec ajout de l'extrait d'algue aux 9 isolats sélectionnés sont présentés dans le tableau ci-après :

Tableau VIII : Résultats de l'activité enzymatique à différentes concentrations en NaCl en présence de l'extrait d'*Ulva lactuca*

Isolats	concentration	protéase	lipase	amylase	estérase	cellulase	chitinase
S6	0.5M	+++	++	-	+	+++	+++
	1M	++	+	-	+	++	++
	1.5M	+	+	-	+	++	++
	2M	+	+	-	+	++	++
S12	0.5M	++	-	-	-	+	-
	1M	+	-	-	-	+	-
	1.5M	+	-	-	-	-	-
	2M	-	-	-	-	-	-
S13	0.5M	+++	++	+++	+++	++	++
	1M	++	++	+	+++	++	++
	1.5M	+	++	+	++	+	+
	2M	+	++	+	+	-	-
S18	0.5M	+++	++	+	+++	+	+
	1M	++	++	+	+++	+	+
	1.5M	+	++	+	++	+	+
	2M	+	++	-	+	-	-
S23	0.5M	++	++	++	+++	-	-
	1M	++	++	++	+++	-	-
	1.5M	+	++	++	++	-	-
	2M	+	++	-	+	-	-
S24	0.5M	+++	+	+	-	-	+++
	1M	++	+	-	-	-	++
	1.5M	-	+	-	-	-	++
	2M	-	-	-	-	-	+
S26	0.5M	+++	+	++	-	++	+++
	1M	++	+	++	-	-	++
	1.5M	+	+	+	-	-	++
	2M	-	+	+	-	-	+
S32	0.5M	++	++	+	+	++	++
	1M	+	++	-	+	++	++
	1.5M	-	++	-	+	++	+
	2M	-	+	-	+	+	+
S36	0.5M	+++	++	+	+	+++	+++
	1M	++	++	-	+	+++	+++
	1.5M	+	++	-	+	+++	+
	2M	-	+	-	+	++	+

Il n'y a pas de grande différence entre ces résultats et les résultats des activités enzymatiques à différentes concentrations en NaCl sans ajout de l'extrait d'algue, toutefois une amélioration remarquable de l'activité estérasique est enregistrée et pour tous les isolats testés.

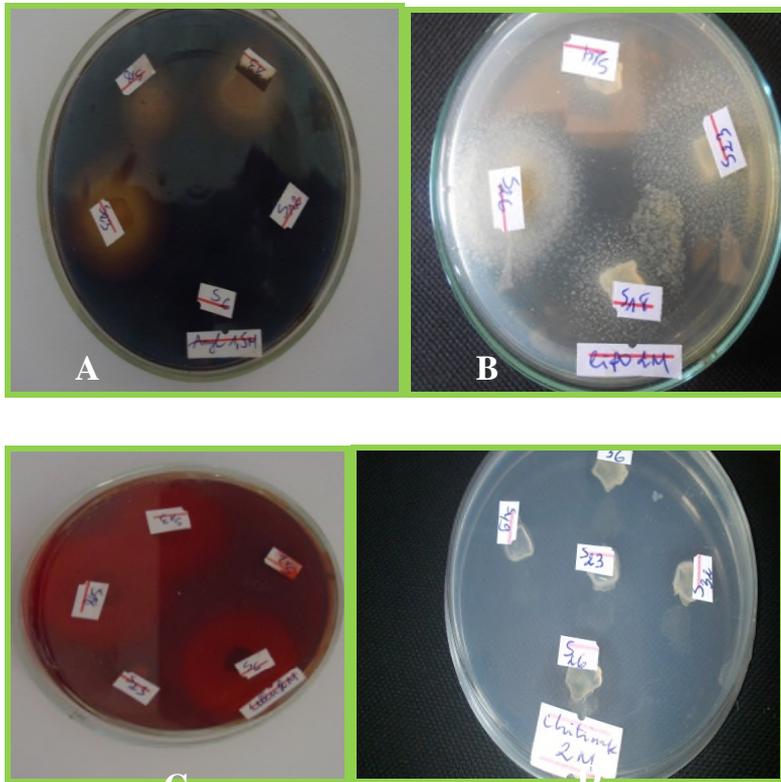


Figure 7 : Tests d'activités enzymatiques réalisés à différentes [NaCl] :

A : amylase ; B : lipase ; C : cellulase ; D : chitinase.

6. Effet de la concentration en NaCl sur la croissance bactérienne:

a) Sans extraits d'algue marine :

Le comportement des 9 isolats vis-à-vis de la concentration en NaCl est différent. Une croissance optimale est observée à 1,5M NaCl pour les isolats S6, S12, S13, S26 et S32. Alors que, la concentration optimale en NaCl enregistrée pour les deux isolats S18 et S36 est de 2,5M.

Les moyennes de la croissance en fonction de la concentration de NaCl sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau IX : Moyennes de la croissance en fonction de la concentration en NaCl

[NaCl]	La croissance bactérienne				
M	S6	S13	S26	S32	S12
0,5	0,30±0,06	0,26±0,08	0,13±0,03	0,41±0,06	0,53±0,05
1	0,13±0,01	0,24±0,03	0,22±0,13	0,39±0,05	0,39±0,08
1,5	0,39±0,04	0,56±0,02	0,25±0,01	0,48±0,02	0,37±0,02
2	0,08±0,03	0,49±0,04	0,07±0,11	0,18±0,07	0,11±0,06
2,5	0,06±0,01	0,39±0,03	0,06±0,06	0,15±0,06	0,07±0,00
3	0,05±0,02	0,36±0,03	0,04±0,03	0,11±0,03	0,06±0,06

[NaCl]	La croissance bactérienne			
M	S23	S24	S18	S36
0,5	0,52±0,14	0,59±0,06	0,68±0,01	0,52±0,04
1	0,63±0,10	0,47±0,13	0,65±0,02	0,62±0,03
1,5	0,47±0,11	0,66±0,10	0,55±0,02	0,63±0,09
2	0,33±0,08	0,78±0,03	0,52±0,03	0,66±0,20
2,5	0,20±0,03	0,64±0,08	0,75±0,05	0,82±0,09
3	0,16±0,01	0,47±0,09	0,65±0,02	0,59±0,06

Les courbes suivantes montrent la variation de la croissance des isolats en fonction de la concentration de NaCl.

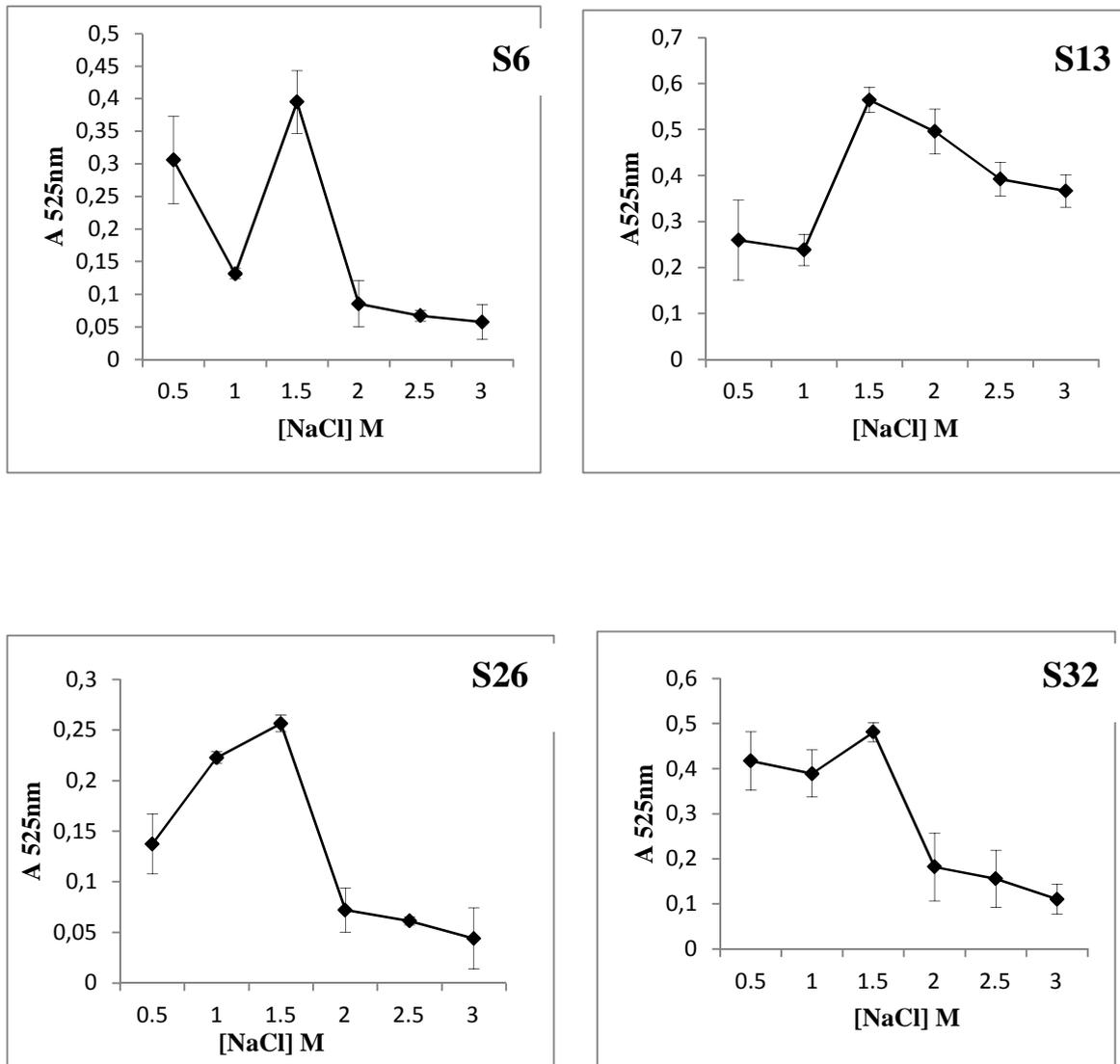


Figure 8-a : courbes de croissance des isolats (S6, S13, S26, S32) aux différentes concentrations en NaCl

D'après les deux courbes représentatives de la croissance des souches S6 et S13, on remarque que l'optimum de croissance est à 1,5M, puis on remarque une diminution de la croissance après cette concentration. Pour la souche S13, on remarque une bonne croissance jusqu'à 3M en NaCl, contrairement à la souche S6.

L'optimum de croissance est enregistré à 1,5M pour les deux isolats S26 et S32.

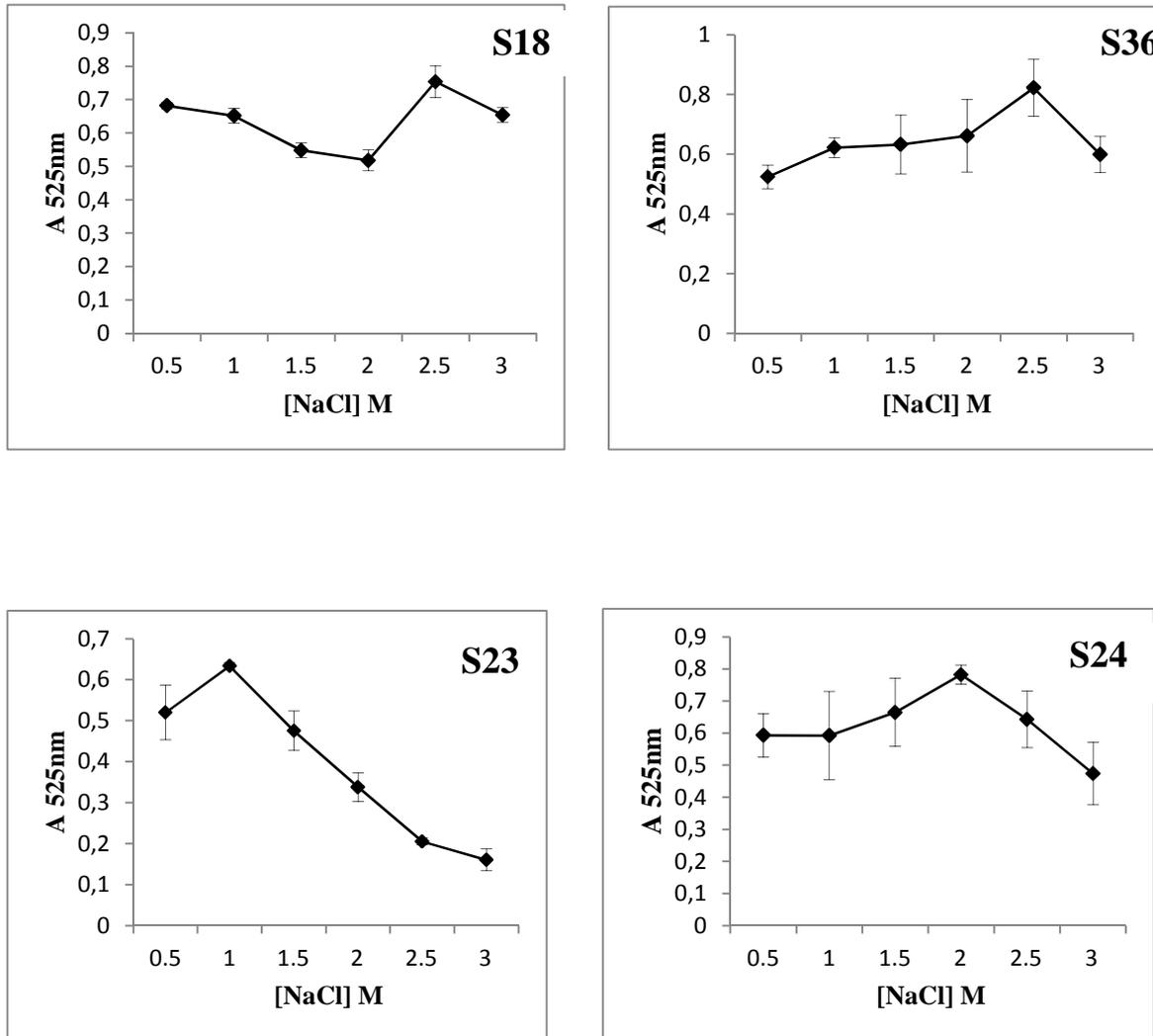


Figure 8-b : courbes de croissance des isolats (S18, S36, S23, S24) aux différentes concentrations en NaCl

D'après la (figure 8-b), l'optimum de croissance des deux souches est obtenu à 2,5M, comme en remarque une bonne croissance même à 3M en NaCl.

L'optimum de croissance des souches S23 et S24 d'après leur courbes de croissance est obtenu à 1M et à 2M de NaCl respectivement.

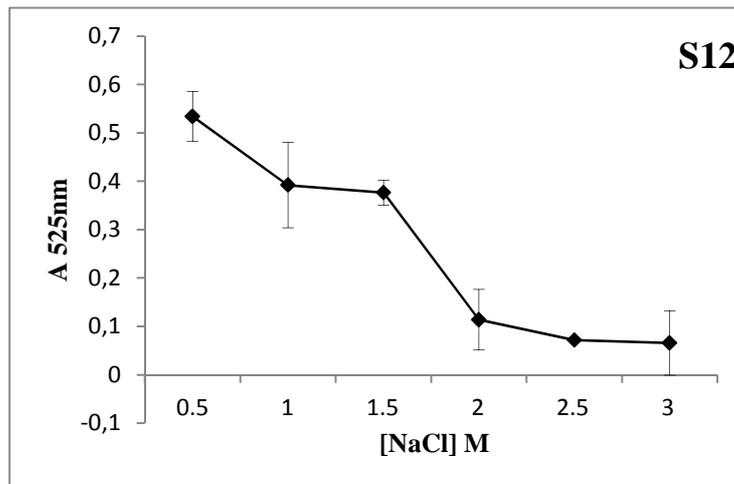


Figure 8-c : courbes de croissance de l'isolat (S12) aux différentes concentrations en NaCl

On remarque que l'optimum de croissance de la souche S12 est enregistré à 0,5M de NaCl, puis une diminution progressive de croissance.

b) En présence des extraits d'algue marine :

L'addition des extraits d'algue marine au milieu contenant différentes concentrations en NaCl, a engendré une légère amélioration de quelques isolats sur les 9 testés (S6, S12, S13, S26, S32), comme en remarque le changement de l'optimum de croissance pour tous les isolats, soit par augmentation (S12, S13, S26, S32) ou diminution (S6, S18, S23, S24, S36). Les moyennes de la croissance en fonction de la concentration de NaCl, avec ajout de l'extrait d'algue sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau X : moyennes de la croissance bactérienne en fonction de la concentration de NaCl en présence de l'extrait d'algue

[NaCl]	La croissance bactérienne				
M	S6	S12	S13	S26	S32
0,5	0,60±0,10	0,17±0,05	0,39±0,00	0,51±0,22	0,43±0,10
1	0,47±0,07	0,19±0,07	0,40±0,04	0,65±0,02	0,37±0,28
1,5	0,29±0,01	0,27±0,02	0,26±0,03	0,59±0,06	0,23±0,00
2	0,08±0,04	0,08±0,03	0,22±0,02	0,50±0,09	0,24±0,03
2,5	0,33±0,38	0,04±0,01	0,77±0,36	0,45±0,14	0,58±0,34
3	0,01±0,00	0,03±0,04	0,15±0,09	0,41±0,10	0,08±0,03

[NaCl]	La croissance bactérienne			
M	S23	S24	S18	S36
0,5	0,32±0,06	0,58±0,16	0,29±0,05	0,95±0,11
1	0,33±0,05	0,61±0,06	0,25±0,17	0,84±0,07
1,5	0,34±0,00	0,53±0,06	0,16±0,05	0,79±0,02
2	0,26±0,02	0,38±0,18	0,17±0,09	0,61±0,23
2,5	0,20±0,08	0,28±0,04	0,20±0,17	0,71±0,20
3	0,20±0,00	0,24±0,09	0,04±0,00	0,46±0,06

Les courbes illustrant ces résultats sont présentées ci-dessous.

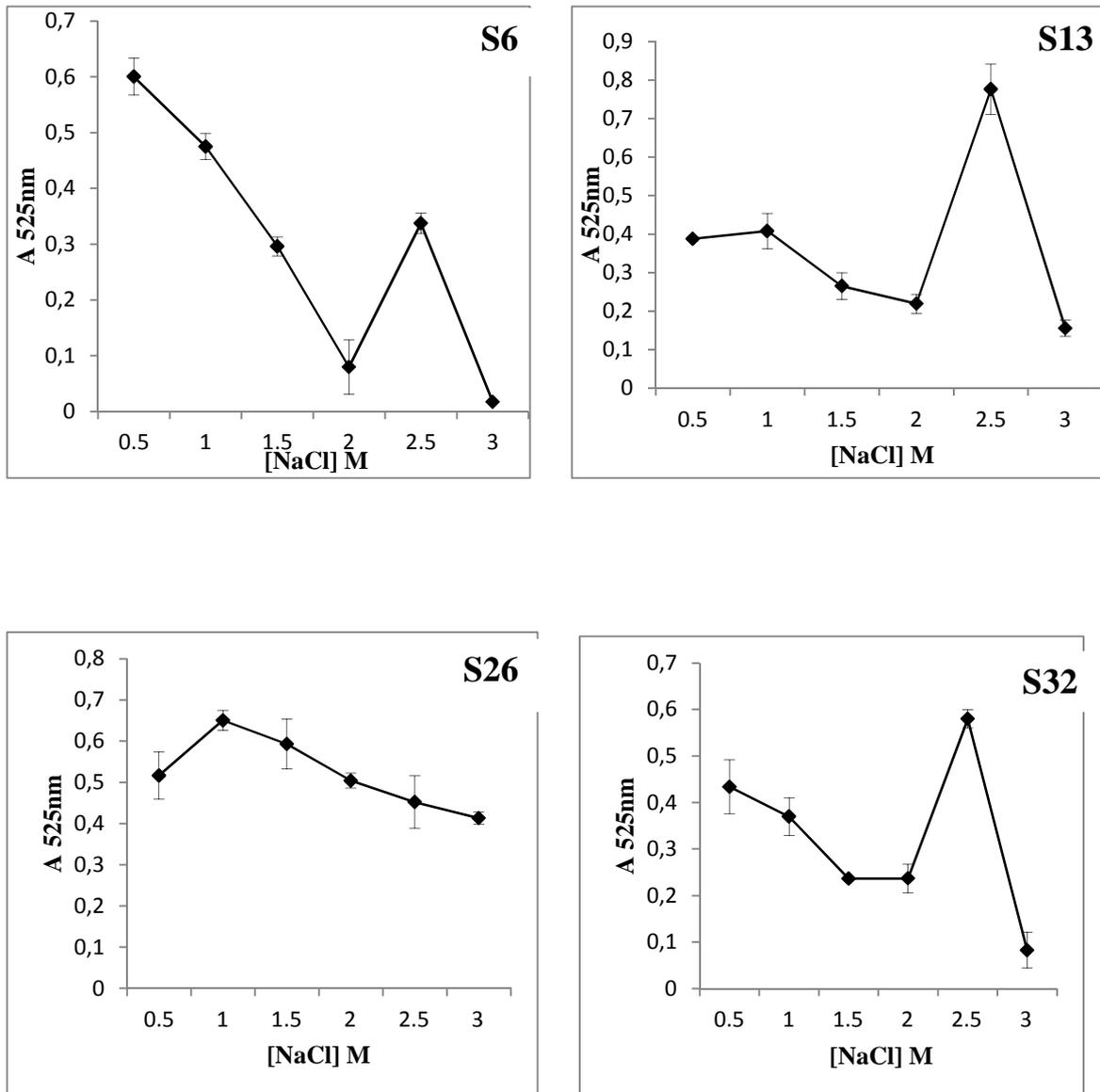


Figure 9-a : courbes de croissance des isolats (S6, S13, S26, S32) aux différentes concentrations en NaCl avec présence de l'extrait d'algue

D'après la (figure 9-a) l'optimum de croissance des isolats S6 et S13 est obtenu à 0,5M et à 2,5M de NaCl respectivement. L'optimum de croissance de l'isolat S26 est obtenu à 1M, par contre pour l'isolat S32, son optimum de croissance est obtenu à 2,5M après avoir été à 1,5M sans présence de l'extrait d'algue.

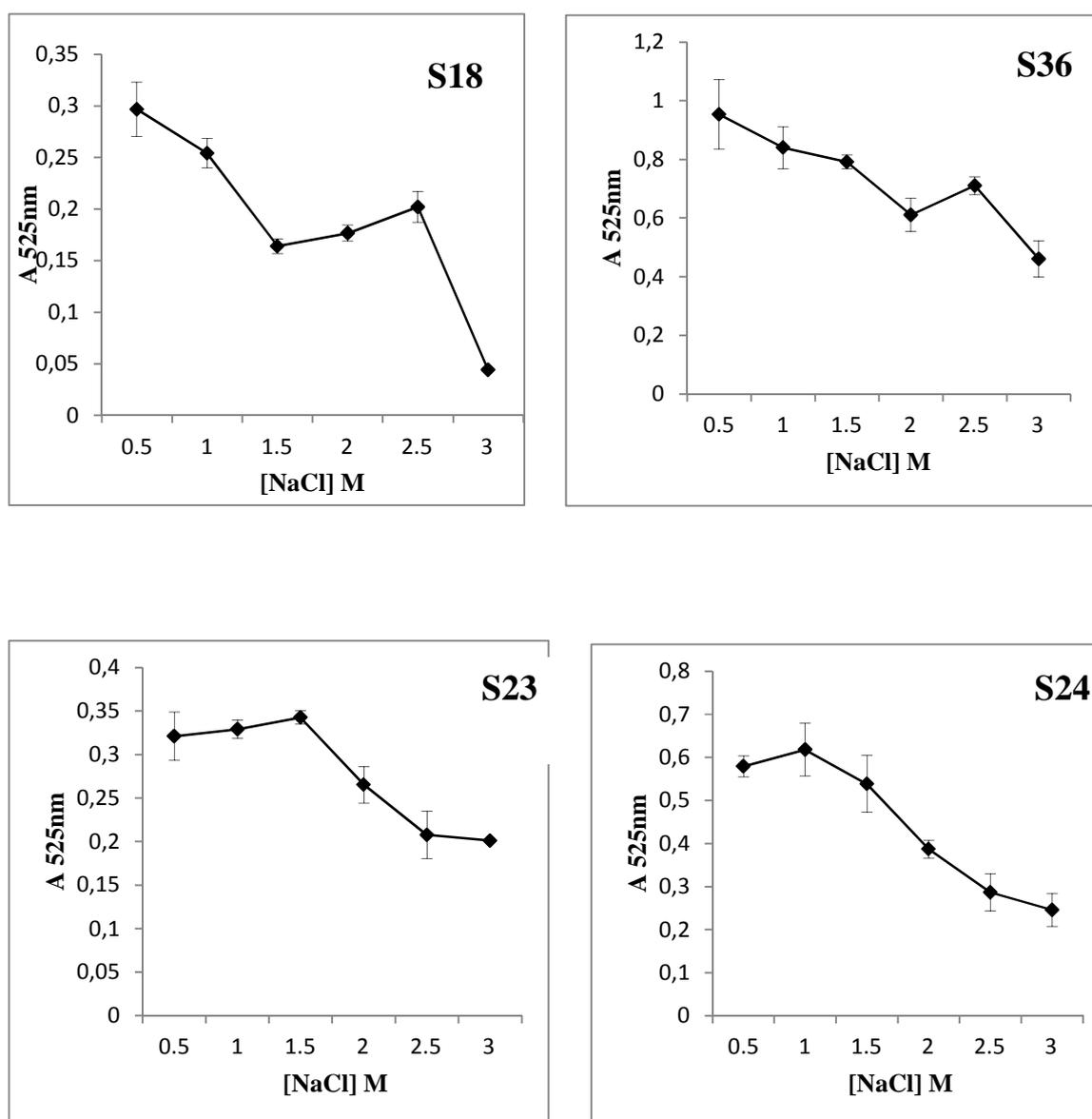


Figure 9-b : courbes de croissance des isolats (S18, S36, S23, S24) aux différentes concentrations en NaCl avec présence de l'extrait d'algue

D'après les courbes de croissance (figure 9-b), on remarque pour les deux isolats S18 et S36, une meilleure moyenne de croissance à 0,5M de NaCl, puis se diminue pour reprendre à 1,5M et 2M (pour S18 et S36 respectivement), après un pic à 2M de NaCl la croissance diminue à nouveau.

L'optimum de croissance des isolats S23 et S24 est enregistré à 1,5M et 1M respectivement, après cet optimum les moyennes de croissance diminuent progressivement.

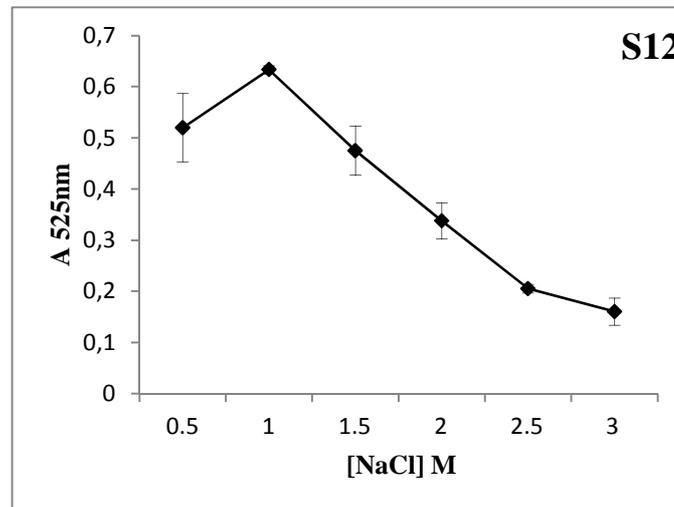


Figure 9-c : courbes de croissance de l'isolat (S12) aux différentes concentrations en NaCl avec présence de l'extrait d'algue

D'après la (figure 9-c), la croissance de l'isolat S12 est très améliorée par rapport à sa croissance en absence de l'extrait d'algue. Son optimum de croissance a changé de 0,5M à 1M de NaCl.

Cinq isolats (S12, S13, S26, S32, S36) de neuf ont réagi positivement en présence de l'extrait d'*Ulva lactuca* qui s'est traduit par une augmentation des moyennes de la croissance, par contre les isolats (S23, S24 et S18) ont une réaction négative à sa présence.

Dans la présente étude, 5 échantillons d'algues marines sont isolés en toute asepsie de la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat) dans le but d'isoler la flore bactérienne attachée à leur surface, ainsi que tester ultérieurement leur aptitude à produire les différentes classes d'enzymes hydrolytiques, à différentes concentration en NaCl et tester leurs osmotolérance jusqu'à 3M de NaCl avec et sans ajout de l'extrait d'algue.

Il est bien établi que la surface des organismes marins tels que les invertébrés et les algues sont fréquemment l'hôte de diverses populations bactériennes (Wahl, 1989). Ainsi le terme biofilm a été proposé pour la première fois par Costerton et *al.* (1978) pour suggérer que le mode de vie des microorganismes attachés à une surface serait le mode de vie naturel de la plupart des microorganismes dans les systèmes aquatiques (Salaün, 2009).

Pour la plupart des organismes marins peu est connu au sujet des populations microbiennes qui colonisent leurs surfaces, en termes de nombre, composition de la population ou interactions symbiotiques (Boyd et *al.*, 1999).

L'isolement des bactéries à partir des milieux aquatiques fut l'objet de plusieurs études ; 280 isolats de bactéries marines à partir de plusieurs algues marines ont été obtenus dans la culture pure. 60 sur 280 isolats (21%) ont montré une activité antimicrobienne (BOYD et *al.*, 1999). 35 souches bactériennes étaient isolées à partir de la surface des algues et l'identification moléculaire a montré qu'elles appartiennent aux phylums : *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria* (Villarreal-Gómez et *al.*, 2010). Kanagasabhapathy et *al* (2006) ont isolé 116 bactéries marines associées à la surface de neuf espèces des algues brunes. Plusieurs isolats bactériens marins affiliés à 41 genres différents, dont les plus abondants sont *Bacillus*, *Ruegeria*, *Micrococcus*, *Pseudovibrio* et *Staphylococcus*, sont isolés par Menezes et *al.* (2009).

Dans notre étude, 54 isolats bactériens sont isolés et séparés au départ sur la base de leurs caractères morphologiques, 9 isolats sont choisis par la suite sur la base de leurs activités enzymatiques pour les tests qui suit.

1. Recherche d'enzymes à intérêt agricole

La majeure partie de la matière organique des écosystèmes aquatiques se trouve sous forme des polymères. Ces derniers ne peuvent pas être assimilés directement par les bactéries, en raison de la perméabilité insuffisante de leurs membranes.

Grâce à l'activité des enzymes extracellulaires synthétisées par les bactéries, ces composés de grands poids moléculaire peuvent être clivés en monomère et petits oligomères appropriés pour être assimilés par la cellule bactérienne (Rath et *al.*, 1993 ; Arnosti et *al.*, 2009).

Il est connu que les communautés microbiennes marines sont responsables du changement de la distribution de certains éléments chimiques en mer. L'aptitude autonome de ces microorganismes marins pour produire des substances biologiquement actives qui s'accumulent et modifient la composition de milieu environnant est très critique pour eux (Mebs, 2000).

Mudryk et Skórczewski. (2006) ont isolé plusieurs bactéries marines productrices d'enzymes extracellulaires. Les bactéries capables d'hydrolyser les lipides ont présenté le pourcentage le plus élevé du nombre total de 810 souches de la flore bactérienne étudiée. Ceux capables d'hydrolyser les protéines et l'ADN sont également nombreuses, alors que les bactéries capables de décomposer l'amidon et la lécithine présentent un nombre inférieur. Cependant, ce sont les bactéries capables d'hydrolyser la cellulose qui les moins nombreuses.

Les carbohydrates dont les plus abondants sont : la cellulose, l'amidon et les xylanes, constituent une des formes principales de substrats organiques dans l'environnement aquatique, contribuant jusqu'à 80% de carbone organique dissout et 5-25% du carbone organique en particules, et représentent la plus grande source d'énergie renouvelable connue. 65% des isolats bactériens marins peuvent produire des enzymes dégradant les carbohydrates (amylase, cellulase, hémicellulase). La majorité de ces bactéries appartient au genre *Bacillus* suivi de *Vibrio*, *Marinobacter*, *Exiguobacterium*, *Alteromonas*, *Enterobacter* et *Aeromonas*. C'est les résultats obtenus par Khandeparker et *al.* (2011).

1.1. Activité cellulasique :

La dégradation de la cellulose joue un rôle clé dans le cycle de carbone (Lee et *al.*, 2007), elle est essentiellement convertie par les microorganismes en dioxyde de carbone dans des conditions aérobies et en méthane en anaérobiose.

Dans ce travail, la production de la cellulase est observée chez 75% des isolats collectés à partir des algues. Veiga et *al.* (1983) ont isolé 36 souches d'actinomycètes appartenant au genre *Streptomyces* à partir de sédiments marins, dont plus de 50% montrent une activité cellulasique. Les souches marines *Bacillus aquimaris* et *Bacillus* sp. H1666 productrices de cellulase sont isolées par Trivedi et *al.*(2011) et Harshvardhan et *al.*(2013) respectivement.

L'incorporation de paille est considérée une stratégie importante pour améliorer la qualité de sol et pour réduire la dépendance à l'égard des engrais minéraux.

Fontaine et *al.* (2004) montré que la cellulase exogène a accéléré la décomposition de la cellulose dans le sol. L'application de cellulase a favorisé la décomposition de paille, et les taux de décomposition de paille de riz et de blé sont augmentés de 6.3-26.0% et de 6.8-28.0%, respectivement, dans les expériences en sac de nylon. Dans les expériences en pot, la teneur en Azote et en Phosphore disponibles dans le sol et la croissance des plantes de riz sont augmentés (Han et He, 2010).

Par conséquent, employant la cellulase exogène peut être un moyens potentiel pour l'accélération de la décomposition de paille et de l'augmentation de la fertilité du sol. Ces dernières années, l'utilisation de la cellulase a devenu un des moyens importants d'améliorer la production de bétail et de volaille et l'utilisation d'aliments (Zhou et *al.*, 2013).

1.2 . Activité amylasique :

L'activité amylasique est observée chez 83,3 % des isolats obtenus. Les amylases sont parmi les enzymes industrielles les plus importantes, qui ont une large variété d'applications, s'étendant de la conversion de l'amidon en sirops de sucre, en production des cyclodextrines dans l'industrie pharmaceutique. Elles peuvent dériver de plusieurs sources comme les plantes, les animaux et les microorganismes. La synthèse des enzymes amylasique par ces bactéries permet une dégradation de la

matière organique dans la nature et ainsi fournir des éléments minéraux que les plantes vont utiliser pour leur croissance.

1.3. Activité protéasique :

Les protéases sont parmi les enzymes les plus importantes en industrie avec un pourcentage de 30 de la production mondiale des enzymes et environ 60% du total des enzymes vendues (Ningthoujamet *al.*, 2009 ; Gul et *al.*, 2008). 66,66% représentent le pourcentage de l'activité protéasique des isolats.

Abou-Elela et *al.* (2011) ont isolé 18 bactéries marines productrices de protéases dont la meilleure activité est détectée chez *Bacillus cereus*. Les protéases sont généralement produites par le genre *Bacillus* isolé à partir de différentes sources (Manandhar et shrestha, 1999). Les bactéries marines *Bacillus alveayuensis* CAS 5 et *Bacillus subtilis* AP-MSU 6 produisent de protéase (Annamalai et *al.*, 2013, Maruthiah et *al.*, 2013).

Par ailleurs, les études effectuées par Riley (1970) ont montré que la matière organique en particule en milieu marin est principalement composée de protéines (environ 50%), de polysaccharides (25%) et de l'hémicelluloses (25%). La chitine, l'acide urique et les lipides sont généralement moins abondants (Siuda et Chrost, 2001).

Les protéases extracellulaires hydrolysent des protéines en mono- ou oligomères, principalement les peptides et acides aminés. Ces composés organiques de faible poids moléculaire sont les précurseurs immédiats de la synthèse des protéines et rentrent dans beaucoup de voies métaboliques de la cellule (Manandhar et shrestha, 1999). L'activité protéasique peut avoir un effet plus poussé, elle influence indirectement la synthèse des auxines en libérant les acides aminés comme le tryptophane qui est le précurseur de la synthèse de l'acide indole acétique et d'autres substances appariées (Mansour et *al.*, 1994).

1.4. Activité chitinasique :

Les maladies des plantes provoquées par les champignons phyto-pathogènes sont l'un des soucis principaux pour la production alimentaire agricole dans le monde entier. Les champignons pathogènes qui se trouvent dans le sol tels que *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* et *Phytophthora* attaquent la plupart des plantes de grande

importance économique (les graines avant germination ou les racines des plantes après germination). Puisque les cuticules de plusieurs espèces d'insecte et la paroi cellulaire fongique, se compose principalement de la chitine, Les microorganismes produisant les enzymes Mycolytiques (chitinases, protéases et glucanase) sont considérés comme agents potentiels de contrôle biologique.

Il bien établi que les chitinases jouent un rôle protecteur contre les champignons phytopathogènes en raison de leur capacité d'interférer leurs constituants en chitine (GADELHAK *et al.*, 2005). Ces chitinases peuvent aussi libérer des oligo-N-acétyl glucosamines qui fonctionnent comme activateurs des réponses de défense dans les cellules de plantes (Gohel *et al.*, 2006). 75% des isolats possèdent une activité chitinasique, en outre, les isolats S6, S24, S32, S26, S36 ont montré l'activité de chitinase la plus élevée comparée aux autres isolats choisis et ont été identifiés comme : *Pseudoalteromonas*, *Acinetobacter* et *Bacillus*.

Plusieurs espèces du genre *Bacillus* sont connues par la production de chitinases, comme *B. circulans*, *B. licheniformis* et autres (Pleban *et al.*, 1997). Itoi *et al.* (2006) ont reporté que les bactéries marines sont une excellente source des chitinases, particulièrement les bactéries de la famille *Vibrionaceae* tel que : *Vibrio furnissii*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio campbellii*, *V. fisheri* et *Vibrio carchariae*. Itoi *et al.* (2007) ont isolé la souche *V. proteolyticus* productrice de chitinase.

1.5. Activité lipasique et estérasique :

La plupart des réactions catalysées par les lipases montrent une sélectivité et une efficacité très élevées, et elles se produisent dans des conditions moyennes ; avec des besoins bas en énergie et sans ajout de cofacteurs.

Le potentiel biotechnologique des lipases, dû à leur estérospecificité, est énorme et ils ont attiré un grand intérêt pour l'industrie alimentaire, agricole, chimique, pharmaceutique, médicale et cosmétique. (Senthilkumer et Selvakumar, 2008).

Dans cette étude, tous les isolats (100%) ont une activité lipolytique et 58% possèdent une estérase. La synthèse des lipases et des estérases par ces souches est une activité qui contribue à la dégradation de la matière grasse et par conséquent, les souches pourraient participer dans le recyclage, et fournissent les éléments minéraux nécessaires aux plantes.

De Guzmán et *al.* (2008) ont isolé 10 bactéries halotolérantes parmi 34 produisant des lipases à partir de lac salé Laguna Verde (Bolivie), dont l'activité maximale est enregistrée à 1.7M de NaCl. *Bacillus* sp, bactérie osmotolérante isolé de milieu marin productrice des estérases (Sana et *al.*, 2007).

Il est intéressant d'appuyer sur un point très important, que dans cette étude tous les isolats présentent au moins quatre activités enzymatiques de celles testées, donc elles sont porteuses d'un équipement enzymatique très riche. Il faut également signaler que les enzymes telles que les protéases, lipases, amylases et cellulases sont d'intérêt agricole remarquable à cause de leur implication dans la fertilisation des sols par la dégradation des polymères organiques.

2. Identification des isolats :

Pseudomonas, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Acinetobacter* sont les genres les plus rencontrés dans le milieu marin, en particulier dans les biofilms. La majorité des espèces marines sont mobiles et les bactéries Gram négatif dominant nettement (Hamadouche, 2003). Ces bactéries présentent à leur surface notamment sur leurs parois des structures comme les adhésines ou les pili permettant ainsi leur attachement (Jensen et Fenical, 1995).

Les résultats des tests effectués sur mini-galeries biochimiques permettraient d'affilier les isolats aux genres : *Pseudoalteromonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Vibrio* et *Micrococcus*. Ce qui montre une diversité bactérienne sur la surface des algues. Le genre le plus dominant est *Pseudoalteromonas*, puis *Bacillus* et *Acinetobacter*. Ces résultats corroborent avec ceux de la littérature scientifique qui stipulent que ces genres sont très rencontrés au le milieu marin, soit libres ou attachés à la surface des macro-organismes et sédiments marins.

La famille des *Vibrionaceae* constitue l'un des plus importants groupes bactériens dans l'environnement marin. Les membres de cette famille prédominent souvent dans la flore bactérienne de l'eau de mer, des algues, et des poissons (Damir et al., 2013). Une étude réalisée dans l'Ouest de l'océan Pacifique, a révélé la dominance du genre *vibrio* avec 80% de la population bactérienne totale de l'eau de mer en surface (Khandeparker et al., 2011).

Les espèces de genre *vibrio* sont des pathogènes humains et animaux marins. Plusieurs espèces sont reconnues comme pathogènes humains (*V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. mimicus*, *V. tapetis* et *V. hollisae*) qui ont été associés aux infections de blessure, infections d'oreille après exposition aux eaux polluées, et après consommation de nourriture souillée (Schets et al., 2011, Won et Park. 2008, Ji et al., 2011, Balboa et al., 2012, López et al., 2012, Damir et al., 2013, Hashem et El-Barbary. 2013, Yano et al., 2014).

Dans notre étude, l'isolat S13 appartenant au genre *vibrio*, n'est pas intéressant, car ce genre est connu comme pathogène, donc son utilisation présente un haut risque, en dépit de sa production d'enzymes et son halotolérance.

Les bactéries appartenant au genre *acinétobacter* (famille Moraxellaceae, classe γ -Proteobacteria) sont des Coccobacills à gram négatif, facilement isolés de sol, d'eau, d'eaux d'égout, de peau humaine et d'une grande variété de produits alimentaires (Guardabassi et al., 2000, Xia et al., 2008, Peix et al., 2009). On estime qu'au moins 0.001% de la population bactérienne totale de l'eau et de sol cultivable, hétérotrophes, aérobies sont *Acinétobacter spp* (Zhang et al., 2009).

Les espèces de genre *Acinétobacter* ont attiré un grand intérêt pour des applications environnementales et biotechnologiques en raison de leur implication dans la biodégradation de différents polluants et de la production extra- et intracellulaire des nombreux produits de grande valeur économique. Cependant, quelques espèces sont pathogènes, telles qu'*Ac. baumannii* agent pathogène humain, lié aux infections nosocomiales avec la capacité de formation de biofilm (Zhang et al., 2009, Hori et al., 2011, Zhan et al., 2012, Pirog et al., 2013).

Les souches *Acinétobacter calcoaceticus* peuvent accumuler des polyphosphates intracellulairement, ainsi elles solubilisent le phosphate de

l'environnement. Peix et *al.* (2009) ont isolé deux souches d'*Acinetobacter calcoaceticus* à partir de sol rhizosphérique, montrant une grande capacité de solubiliser le phosphate *in vitro*, des expériences d'inoculation de pois chiche et l'orge confirment qu'elles sont des souches promotrices de la croissance de plantes. Une grande capacité des souches d'*Acinetobacter* de solubiliser le phosphate et de coloniser les racines de l'*Oryza sativa* a été montrée par Islama et *al.* (2007). Quelques souches de ce genre ont été rapportés comme endophytes de la canne à sucre (Velazquez et *al.*, 2008). Sachdev et *al.* (2010) ont isolé plusieurs espèces d'*Acinetobacter* (*Ac. calcoaceticus*, *Ac. baumannii*, *Ac. lwoffii* et *Ac. baylyi*) de la rhizosphère de blé, promotrices de la croissance de plantes par la fixation d'azote, production de siderophores et solubilisation de minéraux.

Une souche d'*Acinetobacter* est considérée en tant agents potentiel de contrôle biologique contre la bactérie pathogène de la tomate, *Ralstonia solanacearum* et trois champignons phytopathogène de sol, vue sa grande activité antagoniste et son effet promoteur de la croissance de plantes enregistré après expérimentation dans la serre et sur champs, effectué par Xue et *al.* (2009).

Il est très important de déterminer que les isolats appartenant au genre *Acinetobacter* obtenus dans notre étude (S23 et S26) n'ont aucun effet pathogène sur les humains, pour pouvoir les utiliser comme inoculant des plantes, vue leur osmotolérance et production d'enzymes.

Le genre *Pseudoalteromonas* (famille Alteromonadaceae, ordre Alteromonadales, classe Gammaproteobacteria) inclut actuellement 26 espèces, sont des bactéries à Gram négatif très distribué dans le milieu marin, Ces bactéries aisément cultivables ont grande importance due à leur production de divers composés biologiquement actifs tels que : antibiotiques, enzymes, antitoxines, antitumoraux et antiviraux. Certains espèces comme *Pseudoalteromonas citrea*, ont une activité protéolytique et la capacité d'hydrolyser les protéines des poissons (Muldoon et *al.*, 2003, Silipo et *al.*, 2005, Li et *al.*, 2009, Chen et *al.*, 2010, Broekaert et *al.*, 2013).

Trivedi et *al.*(2013) ont isolé une souche de *Pseudoalteromonas* à partir de l'algue brune *Sargassum polycystum* C. Agardh, productrice de cellulase extracellulaire. *Pseudoalteromonas aliena* KMM 3562 et *Pseudoalteromonas*

atlantica IAM 14165 productrices de lipopolysaccharide sont isolées par Nordmark et *al.* (2005) et Perepelov et *al.* (2005) de milieu marin respectivement. Chen et *al.* (2012) ont rapporté l'isolement d'une souche de *pseudoalteromonas* productrice d'une nouvel ubiquinone (Pseudoalteromone A). *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC125 produit une substance anti-biofilm (Papa et *al.*, 2013).

Le genre *bacillus* se compose de plus de 222 espèces identifiées, distribué largement dans beaucoup d'habitats terrestres et aquatiques (Ki et *al.*, 2009). Il est bien connu comme un grand producteur d'enzymes (Sanchez-Porroet *al.*, 2002) et beaucoup des espèces appartenant à ce genre sont considérées comme bactéries promotrices de la croissance des plantes. Après inoculation des racines de la tomate par *Bacillus subtilis* BEB-13bs, le rendement et la qualité de fruit (le poids, la taille et la texture de fruit) sont amélioré par rapport au témoin non inoculé (Mena-Violante et Olalde-Portugal, 2007). La suppression de maladie et la promotion de la croissance de concombre induit par l'inoculation de *Bacillus subtilis* sont rapportées par une étude effectuée par Park et *al.* (2013). Une souche de *Bacillus licheniformis* isolé à partir de la rhizosphère d'une plante halotolerante *Suaeda fruticosa* de désert salin de l'Inde a montré un effet positif sur la biomasse fraîche, la longueur totale et la longueur de racine (28%, 24% et 17% respectivement) de l'Arachide, dans un sol salin (Goswami et *al.*, 2024). Bisht et *al.* (2014) ont isolé une souche de *Bacillus* productrice de l'acide indole acétique, de sidérophore, capable de solubiliser le phosphore et de métaboliser différents hydrocarbures polyaromatiques de sol, en plus son inhibition de la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes (*Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani*). La croissance de la plante *Pinus pinea* est améliorée après l'inoculation par les souches (*Bacillus licheniformis* CECT 5106 et *B. pumilus* CECT 5105) (Probanza et *al.*, 2002).

Micrococcus, bactéries Gram positif, strictement aérobie avec un contenu élevé de G+C, sphérique et habituellement trouvé en tétrade. Elles sont généralement isolées à partir de la peau, mais également à partir de sol, eau marine et eau douce (Dib et *al.*, 2010).

Dastager et *al.*(2010) ont isolé une souche de *Micrococcus* à partir de sol, promotrice de la croissance de plantes par la solubilisation de phosphore, production

d'auxin et siderophile. *Micrococcus luteus* DE2008 capable d'absorber le plomb et le cuivre, peut restaurer les environnements pollués par ces deux métaux (Puyen et *al.*, 2012). La souche *Micrococcus luteus* K-3 est capable de produire une glutaminase osmotolérante (Yoshimune et *al.*, 2006).

3. L'activité enzymatique à différentes concentrations de NaCl :

La majorité des microorganismes halophiles étudiés jusqu'à maintenant produisent des composés avec un grand potentiel dans les processus industriels et ils ont des propriétés physiologiques qui facilitent son utilisation dans les objectifs commerciaux. En outre, les enzymes produites par les microorganismes halophiles ont développé des moyens particuliers qui confèrent leur stabilité dans des concentrations élevées en sel, ainsi que en faible quantité de l'eau. Cependant, malgré l'intérêt croissant de l'utilisation des enzymes halophile dans des applications biotechnologiques, il y a relativement peu de rapports dans la littérature au sujet de leur production et caractérisation (De Guzmán et *al.*, 2008).

Les terres arides et semi arides représentent un tiers de la surface du globe. Dans ces zones, la salinité des sols et des eaux d'irrigation est l'un des majeurs inhibiteurs de la productivité végétale et du rendement agricole (Hamdia et Shaddad, 2010). Ce phénomène affecte près de 7% de la surface globale dans le monde. En Algérie, en plus des deux tiers de la surface représentant le désert, la moitié des terres agricoles (presque 3,2 millions d'hectares) est menacée par le phénomène de la salinité. Cette dernière affecte le rendement des différentes céréales cultivées (Hamdy, 1999).

Par conséquent, l'importance de l'inoculation du sol et des plantes avec les microorganismes salutaires qui améliorent la nutrition des plantes a été augmentée. Pour cette raison, il serait de grande importance d'avoir des enzymes disponibles d'intérêt agricole présentant des activités optimales à différentes valeurs des concentrations en sel et de la température. Les halophiles sont la source probable la plus importante de telles enzymes, parce que leurs enzymes sont non seulement sel-tolérantes, mais beaucoup sont également thermotolérantes. L'isolement des halophiles modérés

capables de produire les enzymes extracellulaires fournira la possibilité pour avoir des activités optimales à différentes concentrations en sel (Sanchez-Porro et *al.*, 2002).

Dans cette étude, différents isolats ont arrivé à produire plusieurs enzymes jusqu'à 2M de NaCl. Par contre, il y a d'autres isolats qui n'ont pas cette capacité, ils ne produisent pas certaines enzymes au-delà de 0,5M de NaCl. L'exposition des bactéries à des conditions d'hyperosmolarités a comme résultat une diminution de l'activité de l'eau cytoplasmique. Les protéines et d'autres macromolécules biologiques ont une activité optimale entre certaines limites de valeurs de l'activité de l'eau, en dehors desquelles celle-ci est perturbée. La plasmolyse entraîne la dénaturation des enzymes (Yancey et Coll, 1982) et donc l'inhibition de processus physiologiques tels que l'accumulation de nutriments ou la réplication de l'ADN (Meury, 1988)

4. L'activité enzymatique à différentes concentrations de NaCl, avec ajout de l'extrait d'algue :

Il n'y a pas de grande différence entre ces résultats et les résultats des activités enzymatiques à différents [NaCl] sans ajout de l'extrait d'algue, toutefois une amélioration remarquable de l'activité estérasique est enregistrée et pour tous les isolats testés.

Ce résultat peut être expliqué par l'absence des molécules actives dans l'extrait d'algue ajouté, qui aident les bactéries à produire mieux ces enzymes, à l'exception des estérases, ou peut être ces isolats n'utilisent pas les extraits d'algue, mais ils dépendent de l'algue à l'état vivant.

Il n'y a pas des études qui sont déjà effectuées dans cette optique.

5. La croissance bactérienne sur milieu salé :

Comme dans le cas de la température, les micro-organismes ont été classés en fonction de la salinité de leur milieu. Il existe des bactéries pour lesquelles le sel n'est pas indispensable et exigé à la croissance mais qui peuvent se développer dans des milieux modérément salés : elles sont dites halotolérantes par opposition aux bactéries

halophiles pour lesquelles la présence du sel est indispensable à leur survie et à leur croissance (HAMADOUCHE, 2003).

Les halotolérants et halophiles se distinguent des autres êtres vivants par leur croissance dans des conditions d'hyper-salinité. Par ailleurs, une classification selon la résistance à la salinité est établie selon les concentrations suivants en NaCl : (0,2-0,85M) correspond à une halophilie légère ; une halophilie modérée (0,85-3,4M) et l'extrême halophilie qui dépasse 3,4M à 5,1M de NaCl. En revanche les non halophiles possèdent un optimum de croissance au-dessous de 0,2M NaCl (Das Sarma et Arora, 2001).

D'après cette classification, tous les isolats testés (S6, S12, S13, S18, S23, S24, S26, S32, S36) sont modérément halophiles, qui ont un optimum de croissance dans l'intervalle [0,85-3,4M] de NaCl. Ces isolats marins possèdent les capacités endogènes d'équilibrer leur pression de turgescence et de résister au stress osmotique en dehors de toute osmoprotection externe. Elles portent donc l'information génétique et l'équipement enzymatique nécessaires à l'osmotolérance. Les cellules bactériennes possèdent des mécanismes qui leur permettent de maintenir une pression osmotique interne plus grande que celle du milieu environnant.

Les espèces marines sont adaptées à la haute salinité des océans, mais on constate que ces germes ne supportent pas de variations trop importantes du taux de chlorure de sodium auquel elles sont accoutumées. Les bactéries marines sont donc halophiles, mais non halorésistantes (Brisou, 1995). Le milieu marin, dominé par sa caractéristique essentielle à savoir la salinité, est un milieu vivant où les organismes rencontrés sont adaptés au stress osmotique.

Une stratégie alternative à améliorer la tolérance au sel des récoltes peut présenter l'introduction des microorganismes sel-tolérants ce qui augmentent le rendement agricole (Lan et Francisco, 2012). L'identification et l'exploitation des micro-organismes du sol, qui agissent sur les plantes en allégeant le stress, ouvre de nouvelles solutions pour une stratégie contre la salinité, aussi bien que de nouvelles approches pour découvrir de nouveaux mécanismes impliqués dans la tolérance au stress. Les bactéries asymbiotiques fixatrices d'azote, y compris le genre *Azospirillum* sont considérées parmi les microorganismes les plus importants qui jouent un rôle

significatif dans la fertilité du sol dans les régions tropicales et tempérées du monde (Hamdia et Shaddad, 2010). L'inoculation de blé dur par la souche hémotolérante *Azospirillum brasilense* NH, a amélioré significativement leur croissance (taux de germination, taille de tige, poids sec de racines et de feuilles, le contenu en chlorophylle a et b, le contenu en proline et sucres...) sous les conditions de salinité (160 et 200 mM NaCl) (Nabti et al., 2010).

Yao et al. (2010) ont étudié l'effet de l'inoculation de *Pseudomonas putida* Rs-198 sur la croissance des jeunes plantes de Cotton sous le stress salin. Les résultats indiquent une augmentation de taux de germination, la taille des plantes et leur poids frais et sec par rapport au témoin non traité. Ainsi une amélioration de l'absorption de K^+ , Mg^{2+} et Ca^{2+} et diminution de l'absorption de Na^{2+} . L'inoculation des jeunes plantes du blé par *Bacillus circulans* (UBF 20 & 26) et *Bacillus Polymyxa* UBF 15 dans un sol salé, a augmenté le rendement de matière sèche des racines, des tiges et de la masse des racines adhérant au sol et la concentration de K^+ dans les racines et les tiges (Khodair et al., 2008). Barassi et al. (2006) ont montré dans une étude que les graines de laitue (*Lactuca sativa*) inoculées par *Azospirillum brasilense* Sp245 ont eu une meilleure germination et une croissance végétative par rapport à celles non inoculées après avoir été exposé aux concentrations en NaCl jusqu'à 80 moles m^{-3} .

6. La croissance bactérienne en milieu liquide avec différentes concentrations de NaCl avec ajout de l'extrait d'algue :

En général, les organismes répondent au stress osmotique en augmentant les concentrations d'un nombre limité de solutés qui n'ont aucun effet inhibiteur sur les processus cellulaires. Pour cette raison, ils sont appelés Solutés Compatibles. Les plus rencontrés chez les bactéries sont les ions K^+ , les acides aminés tels le glutamate, la glutamine, la proline, le γ -aminobutyrate et l'alanine, les sucres tels le saccharose et le tréhalose, le glucosylglycérol et les dérivés méthylés d'acides aminés tels la glycine bêtaïne (Yancey et al., 1982).

Les solutés compatibles sont accumulés par les bactéries soit par synthèse endogène ou par transport à partir du milieu de culture. Il faut distinguer deux classes de solutés compatibles ; Les uns n'ont aucun effet de stimulation sur la

croissance des cellules en milieu à forte osmolarité. Les autres, par contre, ont un important effet de stimulation sur le taux de croissance lorsqu'ils sont ajoutés au milieu de culture. Ce sont des osmoprotecteurs (Ghoul, 1990).

Les algues marines sont aussi à l'origine de différentes substances osmoprotectrices (Glycine-bétaine et Diméthyl-sulfonio-propionate –oxalate ou acétate) qui sont utilisées par plusieurs bactéries afin de challenger le stress salin (Ghoul et *al.*, 1995).

Plusieurs études sont menées sur l'utilisation de l'algue marine *Ulva lactuca* comme osmoprotecteur des bactéries dans des concentrations de salinité élevées, des résultats positifs sont enregistrés, comme le cas de l'étude de Nabti et *al.* (2007) sur la souche *Azospirillum brasilense* NH. La combinaison de cette souche avec l'extrait d'algue *Ulva lactuca* a un bon effet sur la promotion de la croissance de blé dans la condition de salinité.

L'utilisation pratique des enzymes microbiennes a développé un grand intérêt au sujet de l'amélioration des souches productrices et les propriétés biochimiques des enzymes synthétisées.

L'utilisation de ces microorganismes producteurs peut être une meilleure alternative de l'engrais chimiques. Ils sont économiques, non nocifs à l'environnement et pourraient facilement être trouvés (Babalola, 2010).

Les connaissances des méthodes d'amélioration des cultures et de valorisation des sols permettront une meilleure production végétale, pour répondre à une demande sans cesse en augmentation.

5 échantillons d'algues marines (*Enteromorpha intistinalis*, *Ulva lactuca*, *Scytosiphonlo mentaria*) sont isolés en toute asepsie de la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa, 54 isolats bactériens sont obtenus et séparés au départ sur la base de leurs caractères morphologiques.

Plusieurs tests d'activités enzymatiques comme : lipases, estérases, chitinases, cellulases, amylases, et protéases ont permis de choisir les 9 meilleurs isolats ayant le nombre le plus élevé d'activité enzymatique, qui ont été identifiés comme : *Pseudoalteromonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio* et *Bacillus*.

Ces 9 isolats sont par la suite testés pour leur pouvoir de croissance et de synthèse d'enzymes dans des concentrations élevées en NaCl en absence et en présence de l'extrait d'algue *Ulva lactuca*.

Notre étude montre que les isolats testés présentent au moins quatre activités enzymatiques de celles testées, donc elles sont porteuses d'un équipement enzymatique riche. Les meilleures activités obtenues jusqu'à 2M de NaCl pour la plus part des isolats testés sont celles de cellulase et chitinase.

Ces isolats marins sont modérément halophiles, dont l'optimum de croissance des 9 isolats en présence des différentes concentration en NaCl est : de 1,5M NaCl pour les isolats S6, S13, S26 et S32, et de 2,5M NaCl pour les isolats S18 et S36. Alors que, la concentration optimale en NaCl enregistrée pour les deux isolats S12 et 23est

de 0,5M et 1M respectivement. D'après ces résultats il s'est confirmé que ces isolats possèdent les capacités endogènes d'équilibrer leur pression de turgescence et de résister au stress osmotique en dehors de toute osmoprotection externe. Elles portent donc l'information génétique et l'équipement enzymatique nécessaires à l'osmotolérance.

Cinq isolats (S12, S13, S26, S32, S36) de neuf ont réagi positivement en présence de l'extrait d'*Ulva lactuca* qui s'est traduit par une augmentation des moyennes de la croissance, par contre les isolats (S23, S24 et S18) ont une réaction négative à sa présence. Concernant les activités enzymatiques en présence de cet extrait d'algue, il n'y a pas de grande différence entre ces résultats et celles des activités enzymatiques à différents concentrations en NaCl sans ajout de l'extrait d'algue, toutefois une amélioration remarquable de l'activité estérasique est enregistrée et pour tous les isolats testés. Donc, l'extrait d'*Ulva lactuca* a amélioré la croissance de certains isolats et la production de certains activités enzymatiques en condition de salinité.

Perspectives

Il serait souhaitable de poursuivre ce travail en effectuant d'autres tests, à savoir :

- ✓ Travailler sur d'autre algues (genre et espèces) ;
- ✓ Réaliser d'autres tests enzymatiques comme : phosphatase, xylannase, uréase, glucannase et autre ;
- ✓ Tester la capacité des isolats à produire ces enzymes sous l'effet de concentrations plus élevées de NaCl (>2 M) ;
- ✓ Passer à l'identification moléculaire des isolats ;
- ✓ Réaliser des tests d'inoculation *in vivo* (plantes), au laboratoire et sur champs pour voir leurs caractères de promotion de la croissance des plantes ;

- ✓ Réaliser des tests d'antagonisme *in vitro* et *in vivo*, sur les champignons phytopathogènes.

A

Abou-Elela, G. M., A. H. Ibrahim, S. W. Hassan, H. Abd-Elnaby, and M. K. El-Toukhy. 2011. Alkaline protease production by alkaliphilic marine bacteria isolated from Marsa-Matrouh (Egypt) with special emphasis on *Bacillus cereus* purified protease. *African Journal of Biotechnology*. 10: 4631-4642.

Acosta-Martinez, V., L. Cruz , D. Sotomayor-Ramirez ,L. Pérez-Alegria.2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*. 35: 35–45.

AINANE, T. 2011. Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Thèse de doctorat en chimie. Université Hassan II – Casablanca, MAROC. 201p.

Alabouvette, C., C. Olivain and C. Steinberg. 2006. Biological control of plant diseases. The European situation. *European Journal of Plant Pathology*. 114:329–341.

Annamalai, N., M. V. Rajeswari, T. Balasubramanian. 2013. Extraction, purification and application of thermostable and halostable alkaline protease from *Bacillus alveayuensis* CAS 5 using marine wastes. *food and bioproducts processing*. x x x: xxx–xxx.

Armstrong, E., L. Yan, K.G. Boyd, P. C. Wright, and J.G.Burgess.2001. The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. *Hydrobiologia*. 461: 37–40.

Arnosti, C., K. Ziervogel, L. Ocampo and S. Ghobrial.2009. Enzyme activities in the water column and in shallow permeable sediments from the northeastern Gulf of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 84: 202–208.

B

Babalola, O.O. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett* 32:1559–1570.

Barassi, C.A., G. Ayrault, C.M. Creus, R.J. Sueldo and M.T. Sobrero.2006. Seed inoculation with *Azospirillum mitigates* NaCl effects on lettuce. *Scientia Horticulturae*. **109:** 8–14.

Bhat, M.K. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances* **18:** 355–383.

Basharat A., N. S. Anjum, K. Ljung and S. Hasnain. 2008. Quantification of indole-3-acetic acid from plant associated *Bacillus* spp. and their phytostimulatory effect on *Vigna radiata* (L.). *World J Microbiol Biotechnol*. **25:**519–526.

Bach HJ. and JC.Munch. 2000. Identification of bacterial sources of soil peptidases. *Biol Fertil Soils* **31:** 219–224.

Balboa, S., A. L. Dieguez, A. Doce, J. L. Barja and J. L. Romalde. 2012. Evaluation of different culture media for the isolation and growth of the fastidious *Vibrio tapetis*, the causative agent of brown ring disease. *Journal of Invertebrate Pathology*. **111:** 74–81.

Beilen, J. B and Z. Li. 2002. Enzyme technology: an overview. *Current Opinion in Biotechnology*, **13:** 338–344.

Belanger, C., B. Desrosiers, and K. Lee.1997. Microbial extracellular enzyme activity in marine sediments: extreme pH to terminate reaction and sample storage. *Aquatic microbial ecology*. **3:** 187-196.

Bhavya, N.P., T. Prasad, C. Rajam and N. Rajendran.2012. Pharmaceutical Potential of Untapped Microbial Resources from Deep Sea. *Journal of Pharmacy Research*.**5:**1471-1475.

Bisht, S., P. Pandey , G. Kaur, H. Aggarwal, A. Sood, S. Sharma, V. Kumar and N.S. Bisht. 2014. Utilization of endophytic strain *Bacillus* sp. SBER3 for biodegradation of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in soil model system. *European Journal of Soil Biology*. **60:** 67-76.

Blunt, J.W; B.R. Copp, M.H.G. Munro, P.T. Northcote, and M.R. Prinsep. 2006. Marine natural products. *Natural Products Report*. **23:** 26–78.

Boyd, K. G., D. R. Adams and J. G. Burgess. 1999. Antibacterial and repellent activities of marine bacteria associated with algal surfaces. *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*. **14**: 227-23.

Brisou, J. F. 1995. Microbiologie du milieu marin. Edition Médicale Flammarion.

BRISSAC, M.T. 2009. Nature, Diversité et Spécificité de l'Association Lucinidae / Bactéries sulfo-oxydantes. These de doctorat en Microbiologie et Interactions durables. universite PIERRE et MARIE CURIE. 190p.

Broekaert ,K., B. Nosedá ,M. Heyndrickx, G. Vlaemynck and F. Devlieghere. 2013. Volatile compounds associated with *Psychrobacter spp.* And *Pseudoalteromonas spp.*, the dominant microbiota of brown shrimp (*Crangon crangon*) during aerobic storage. *International Journal of Food Microbiology*. **166**: 487–493.

Burtin, P.2003. nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. ISSN: 1579-4377.

C

Caldwell B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia* **49**, 637- 644.

Carlsson, A. S; J. B. V. Beilen, R. Möller, and D. clayton. 2007. micro- and macro-algae: utility for industrial applications. *Realising the Economic Potential of Sustainable Resources - Bioproducts .from Non-food Crops*. Université de York. 86p.

Carrim, A. J. I., E.C. Barbosa and V. J. Gonçalves. 2006. Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. **49** : 353-359.

Chen, W. M., C. Y. Lina, C. A. Chenb, J. T.Wang, S. Y. Sheu. 2010. Involvement of an l-amino acid oxidase in the activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas flavipulchra* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Enzyme and Microbial Technology*. **47**: 52–58.

Chen, Y., M. Lu, Y. Chang, T. Hwang, W. Wang, C. Weng, J. Kuo, P. Sung. 2012. Pseudoalteromone A: a novel bioactive ubiquinone from a marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. CGH2XX (*Pseudoalteromonadaceae*). *Tetrahedron Letters*. **53**: 1675–1677.

Cornish,L.M., and D.J.Garbary.2010. Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. *ALGAE*. **25**: 155-171.

D

Damir, K., V. S. Irena, V. Damir and T. Emin. 2013. Occurrence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Vibrio alginolyticus* in the Eastern Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin*. **75**: 46–52.

Dastager, S. G., C.K. Deepa, Ashok Pandey. 2010. Isolation and characterization of novel plant growth promoting *Micrococcus* sp NII-0909 and its interaction with cowpea. *Plant Physiology and Biochemistry*. **48**: 987-992.

De, T. K., Sarkar, T. K. De, M. Maity, T.K. Mukherjee, and S. Das. 2011. Abundance and occurrence of phosphate solubilizing bacteria and phosphatase in Sediment of Hooghly estuary, north east coast of Bay of Bengal, India. *Journal of Coastal Development*. **15**: 9-16.

de Guzmán, M. N., V. A. Vargas, H. Antezana, and M. Svoboda.2008. lipolytic enzyme production by halophilic/ halotolerant microorganisms isolated from laguna verde, Bolivia. *REVISTA BOLIVIANA DE QUÍMICA*. **25**: 1-10.

Dib , J. R., M. Wagenknecht , R. T. Hill , M. E. Farías and Friedhelm Meinhardt.2010. First report of linear megaplasmids in the genus *Micrococcus*. *Plasmid*. **63**: 40–45.

DORIGO.U.2010. diversité comparée des communautés bactériennes et virales dans les grands lacs alpins et étude des facteurs et processus impliqués dans la structuration de ces

communautés. Thèse de doctorat en Biologie des populations et des écosystèmes. UNIVERSITE DE SAVOIE. 382p.

Durand, J, C. Lévêque. 1980. Faune et flore aquatique de l'Afrique sahélo-saoudienne. IRD Editions, 873p.

F

FALLER. H.2011. les applications et la toxicité des algues marines. Thèse de doctorat en pharmacie. université de limoges. 132p.

FARID,Y., ETAHIRI, S. and O. ASSOBEI. 2009. Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc) : Criblage et optimisation de la période de la récolte. *Journal of Applied Biosciences* **24**: 1543 – 1552.

Faulkner, D.J. 2002. Marine natural products. *Natural Products Reports*. **19**: 1–48.

Fickers .P ; J. Destainand P Thonart. 2008. Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **12** : 119-130.

Fontaine, S., G. Bardoux, D.Benest, B.Verdier, A.Mariotti, L.Abbadie. 2004. Mechanisms of the priming effect in a savannah soil amended with cellulose. *Soil Sci. Am. J.* **68**: 125–131.

G

GADELHAKI, G. G., K. A. EL-TARABILY, AND F. K. AL-KAABI.2005. Insect Control Using Chitinolytic Soil Actinomycetes as Bio-control Agents. *International Journal of Agriculture and Biology*. **4**: 627–633.

Gao , Y., L. Mao, C. Miao, P. Zhou, J. Cao , Y. Zhi, W. Shi. 2010. Spatial characteristics of soil enzyme activities and microbial community structure under different land uses in Chongming Island, China: Geostatistical modelling and PCR-RAPD method. *Science of the Total Environment*. **408**: 3251–3260.

GARON-LARDIERE, S. 2004. Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de doctorat en chimie. Université de Bretagne occidentale. 332p.

GHOUL, M. 1990. halotolérance de *Escherichia coli*; Effet des osmoprotecteurs naturels. Thèse de doctorat en sciences biologiques et sante. Université de RENNES I. France. 173p.

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

Gianfreda, L and M. A. Rao. 2004. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and Microbial Technology.* 35: 339–354.

Gohel, V., A. Singh, M. Vimal, P. Ashwini and H.S. Chhatpar.2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. *African Journal of Biotechnology.* 5: 54-72.

Goswami, D., P. Dhandhukia, P. Patel and J. N. Thakker. 2014. Screening of PGPR from saline desert of Kutch: Growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiological Research.* 169: 66–75.

Guardabassi, L., A. Dalsgaard, M. Raffatellu and J. E. Olsen. 2000. Increase in the prevalence of oxolinic acid resistant *Acinetobacter* spp. observed in a stream receiving the effluent from a freshwater trout farm following the treatment with oxolinic acid-medicated feed. *Aquaculture.* 188: 205–218.

Gul, S., M.U. Rahman, A.K.Khan Achakzai and K.Khan.2008. Production of extracellular protease by locally isolated *Bacillus subtilis* IC-5 using agriculture by-products. *J.Chem.Soc.Pak.*30.

Gupta.S and N. Abu-Ghannam.2011. Bioactive Potential and Possible Health Effects of Edible Brown Seaweeds. *Trends in Food Science & Technology* xx: 1-12.

Hallsworth, J. E., M. M. Yakimov, and P. N. Golyshev. 2007. Limits of life in MgCl₂-containing environments: chaotropicity defines the window. *Environ. Microbiol.* **9**: 801–813.

HAMADOUCHE.N.2003. Interactions des bactéries marines responsables de la formation des biosalissures avec des matériaux biospécifiques.these de doctorat en Génie Biologique et Médical. Université Paris XIII. France. 235p.

Hamdia, M. A. and M. A. K.Shaddad. 2010. salt tolerance of crop plants. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* **6**: 64-90.

Hamdy, A.1999. Saline irrigation and management for a sustainable use. *In: Advanced Short Course on Saline Irrigation Proceeding, Agadir.* 152-227.

Han, W and M. He. 2010. The application of exogenous cellulase to improve soil fertility and plant growth due to acceleration of straw decomposition. *Bioresource Technology.* **101**: 3724–3731.

Harshvardhan, K., A. Mishra and B. Jha. 2013. Purification and characterization of cellulase from a marine *Bacillus* sp. H1666: A potential agent for single step saccharification of seaweed biomass. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.* **93**: 51–56.

Hashem, M and M. El-Barbary. 2013. *Vibrio harveyi* infection in Arabian Surgeon fish (*Acanthurus sohal*) of Red Sea at Hurghada, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research.* **39**: 199–203.

Hong, D. D., H. M. Hien and P. N. Son.2007. Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. *J Appl Phycol.* **19**: 817–826.

Hori, K., M. Ishikawa, M. Y. A. Higuchi,Y. Ishikawa and H. Ebi. 2011. Production of peritrichate bacterionanofibers and their proteinaceous components by *Acinetobacter* sp. *Tol 5* cells affected by growth substrates. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* **111**: 31–36.

Huang C.J., T.K. Wang, S. C. Chung and C. Y. Chen. 2005. Identification of an Antifungal Chitinase from a Potential Biocontrol Agent, *Bacillus cereus* 28-9. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology.* **38:** 82- 88.

I

Islama, M.T., A. Deora, Y. Hashidoko, A. Rahman, T. Ito and S. Tahara. 2007. Isolation and identification of potential phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of *Oryza sativa* L. cv. BR29 of Bangladesh, *Z. Naturforsch.* **62:** 103–110.

Itoi, S., T. Okamura, Y. Koyama and H. Sugita. 2006. Chitinolytic bacteria in the intestinal tract of Japanese coastal fishes, *Can. J. Microbiol.* **52:** 1158–1163.

Itoi, S., Y. Kanomata, Y. Koyama, K. Kadokura, S. Uchida, T. Nishio, T. Oku and H. Sugita. 2007. Identification of a novel endochitinase from a marine bacterium *Vibrio proteolyticus* strain No. 442. *Biochimica et Biophysica Acta.* **1774:** 1099–1107.

J

Jensen, P.R. and W. Fenical. 1995. The Relative Abundance and Seawater Requirements of Gram-Positive Bacteria in Near-Shore Tropical Marine Samples. *Microbial ecology.* **29:** 249-257.

Ji, H., Y. Chen, Y. Guo, X. Liu, J. Wen and H. Liu. 2011. Occurrence and characteristics of *Vibrio vulnificus* in retail marine shrimp in China. *Food Control.* **22:** 1935-1940.

K

Kamil, Z., M. Rizk, M. Saleh and S. Moustafa. 2007. Isolation and Identification of Rhizosphere Soil Chitinolytic Bacteria and their Potential in Antifungal Biocontrol. *Global Journal of Molecular Sciences.* **2:** 57-66.

KANAGASABHAPATHY, M., H. SASAKI, S. HALDAR, S. YAMASAKI and S. NAGATA.2006. Antibacterial activities of marine epibiotic bacteria isolated from brown algae of Japan. *Annals of Microbiology*. **56**: 167-173.

Khandeparker,R., P. Verma , R. M. Meena and D. D. Deobagkar. 2011. Phylogenetic diversity of carbohydrate degrading culturable bacteria from Mandovi and Zuari estuaries, Goa, west coast of India. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. **95**: 359-366.

Khodair,T.A., F. G.Gehan and T.S. El-Tayeb. 2008. Effect of Inoculating Wheat Seedlings with Exopolysaccharide-producing Bacteria in Saline Soil. *Journal of Applied Sciences Research*. **4**: 2065-2070.

Ki, J., W. Zhang and P.Y. Qian. 2009. Discovery of marine *Bacillus* species by 16S rRNA and rpoB comparisons and their usefulness for species identification. *Journal of Microbiological Methods*. **77**: 48–57.

Kopečný J., B. Hodrová and C. S. Stewart. 1996. The isolation and characterization of a rumen chitinolytic bacterium. *Lett. Appl. Microbiol*. **23**: 195-198.

Kuhad,R.C., R. Gupta, and A. Singh.2011. Microbial Cellulases and Their Industrial Applications. SAGE-Hindawi Access to Research. Enzyme Research Volume 2011, Article ID 280696, 10 p.

Won, K. M and S. Park. 2008. Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to cultured marine fishes in Korea. *Aquaculture*. **285**: 8–13.

L

Lan, C. D. and Francisco P.A.2012. Microbial amelioration of crop salinity stress. Review. *Journal of Experimental Botany*.1-14.

Lee, Y., B. Kim, B. Lee, K. Jo, N. Lee, C. Chung and J. Lee. 2007. Purification and characterization of cellulase produced by *Bacillus amyoliquefaciens* DL-3, utilizing rice hull Bioresour Technol, **98**: 288-297.

Li, Y., X. Xua, M. Dietrichb, V. B. Urlacherb, R. D. Schmid, P. Ouyanga and B. Hea. 2009. Identification and functional expression of a 9 fatty acid desaturase from the

marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. MLY15. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **56**: 96–101.

Lipp, J. S., Y. Morono, F. Inagaki, and K. U. Hinrichs., 2008. Significant contribution of Archaea to extant biomass in marine subsurface sediments. *Nature*. **454**: 991–994.

López, J.R., J.I. Navas , N. Thanantong , R. de la Herran and O.A.E. Sparagano. 2012. Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera *Tenacibaculum*, *Vibrio*, *Photobacterium* and *Pseudomonas* by reverse line blot hybridization. *Aquaculture*. **324–325**: 33–38.

M

Mamatha, S.S., A. Gobika, and P. Janani. 2012. Phosphate Solubilizing Bacteria and Alkaline Phosphatase Activity in Coastal Waters off Trivandrum. *Journal of Coastal Environment*. **3**: 90-100.

Manandhar, S.P. and A. Shrestha.1999. Prtease activity of mesophilic bacteria isolated from leather factory and slaughter house. *Tribhuvan university journal*. **XXII**: 24-34.

Mansour. F. A., H.S. Aldesuquy and H.A. Hamedo. 1994. Studies on Plant Growth Regulators and Enzymes Production by Some Bacterie. *Qatar Univ.Sci. J*. **14** : 281-288.

Maruthiah, T., P. Esakkiraj, G. Prabakaran,A. Palavesam and G. Immanuel. 2013. Purification and characterization of moderately halophilic alkaline serine protease from marine *Bacillus subtilis* AP-MSU 6. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. **2**: 116–119.

Martínez-Viveros¹, O., M.A. Jorquera, D.E. Crowley, G. Gajardo and M.L. Mora. 2010. Mechanisms and practical considerations Involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr*. **10**: 293 – 319.

Mebis, D. 2000. Toxicity in animals- Trends in evolution *Toxicol.* Elsevier Science, Ireland. **39**: 87-96.

Mena-Violante, H. G. and V. Olalde-Portugal. 2007. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. *Scientia Horticulturae*. **113**: 103–106.

Menezes.C.B., R. C. Bonugli-Santos, P. B. Miquelettoa, M.Z. Passarini, H.D. Silvaa, M.R. Justoa, R. R. Leal, F. Fantinatti-Garboggini, V. M. Oliveiraa, R.S. Berlinckb, L. D. Settea.2009. *Microbiological Research* **165** : 466-482.

MEURY, J. 1988. Glycine betaine reverses the effects of osmotic stress on DNA replication and cellular division in *E.coli*. *Arch. Microbiol.* **149** : 232-239.

MUDRYK, Z.J. and P. SKÓRCZEWSKI.2006. enzymatic activity and degradation of organic macromolecules by neustonic and planktonic bacteria in an estuarine lake. *polish journal of ecology*.**54**: 3-14.

Muldoon, J., A. V. Perepelov, A. S. Shashkov,E.L. Nazarenko, V. A. Zubkov, R. P. Gorshkova, E. P. Ivanova,N. M. Gorshkova,Y. A. Knirel and A. V. Savagea. 2003. Structure of an acidic polysaccharide from the marine bacterium *Pseudoalteromonas flavipulchra* NCIMB 2033. *Carbohydrate Research*. **338**: 459–462.

N

Nabti, E., M. Sahnoune, M. Ghoul, D.Fisher, A. Hofmann, M. Rothballer, M. Schmid and A. Hartmann. 2010. Restoration of Growth of Durum Wheat (*Triticum durum* var. waha) Under Saline Conditions Due to Inoculation with the Rhizosphere Bacterium *Azospirillum brasilense* NH and Extracts of the Marine Alga *Ulva lactuca*. *J Plant Growth Regul.* **29**:6–22.

Nabti, E., M. Sahnoune, S. Adjrad, A. Van Domme, M. Ghoul, M. Schmid, A. Hartmann.2007. A Halophilic and Osmotolerant *Azospirillum brasilense* Strain from Algerian Soil Restores Wheat Growth under Saline Conditions. *Eng. Life Sci.* **7**: 354–360.

Nabti E. 2007. Restauration de la croissance de *Azospirillum brasilense* et de Blé dur et leur osmoprotection par *Ulva lactucaen* Milieux Salés.thèse de Doctorat en Science Biologique. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.147p.

Nannipieri, P., L. Giagnoni, L. Landi, G. Renella. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. In: Bunemann EK, Obreson A, Frossard E (eds) Phosphorus in action. Springer, Berlin, pp 215–243.

Ningthoujam, D. S., P. Kshetri, S. Sanasam and S. Nimaichand. 2009. Screening, Identification of Best Producers and Optimization of Extracellular Proteases from Moderately Halophilic Alkalithermotolerant Indigenous Actinomycetes. World Applied Sciences Journal. **7:** 907-916.

Nordmark, E., A. V. Perepelov, A. S. Shashkov, E. L. Nazarenko, R. P. Gorshkova, E. P. Ivanovac and G. Widmalm. 2005. Structure of an acidic polysaccharide from the marine bacterium *Pseudoalteromonas aliena* type strain KMM 3562T containing two residues of L L-serine in the repeating unit. Carbohydrate Research. **340:** 1483–1487.

P

Pace N. R. (2009). It's time to retire the prokaryote. *Microbiol. Today* **36:** 85–87.

Pandey, A., P. Nigam, C.R. Soccol, V.T. Soccol, D. Singh, and R. Mohan.2000. Advances in microbial amylases, *Biotechnol. Appl. Biochem.* **31:**135–152.

Park, K., J. Park, S. Lee and K. Balaraju. 2013. Disease suppression and growth promotion in cucumbers induced by integrating PGPR agent *Bacillus subtilis* strain B4 and chemical elicitor ASM. *Crop Protection.* **54:** 199-205.

Patel, A. K., V. K. Singh , R. P. Yadav , J.G. Moir and M. V. Jagannadhama. 2010. Purification and characterization of a new chitinase from latex of *Ipomoea carnea*. *Process Biochemistry* **45:** 675–681.

Papa, R., E. Parrilli, F. Sannino, G. Barbato, M. L. Tutino, M. Artini and L. Selan. 2013. Anti-biofilm activity of the Antarctic marine bacterium *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC125. *Research in Microbiology*. **164**: 450-456.

Peixa, A., E. Lang, S. Verborg, C. Sproer, R. Rivas, I. Santa-Regina and P. F. Mateos, E. Martinez-Molinac, C. Rodriguez-Barruecoa, E. Velazquez. 2009. *Acinetobacter* strains IH9 and OCI1, two rhizospheric phosphate solubilizing isolates able to promote plant growth, constitute a new genomovar of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Systematic and Applied Microbiology*. **32**: 334–341.

Perepelov, A. V., A. S. Shashkov, V. I. Torgov, E. L. Nazarenko, R. P. Gorshkova, E.P. Ivanova, N. M. Gorshkovac and G. Widmalma. 2005. Structure of an acidic polysaccharide from the agar-decomposing marine bacterium *Pseudoalteromonas atlantica* strain IAM 14165 containing 5,7-diacetamido-3,5,7,9-tetra-deoxy-L L-glycero-L L-manno-non-2-ulonic acid. *Carbohydrate Research*. **340** : 69–74.

PERSON. J. 2010. Algues, filières du futur. LIVRE TURQUOISE. Édition Adebitech – Romainville – Juillet 2011.

Pérez–Matos, A. E., W. Rosado, N.S. Govind. 2007. Bacterial diversity associated with the Caribbean *Tunicate Ecteinascidia turbinata*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. **92**: 155-164.

Petit J. and Jobin P. 2005. La fertilisation organique des cultures *Les bases*. Fédération d’agriculture biologique du Québec.

Piroga, T., A. Sofilkanycha, A. Konona, T. Shevchukb and S. Ivanov. 2013. Intensification of surfactants’ synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* K-8 on fried oil and glycerol containing medium. *Food and Bioprocess Technology*. **91**: 149–157.

Pleban, S., L. Chernin and I. Chet. 1997. Chitinolytic activity of an endophyte strain of *Bacillus cereus*. *Letters in Applied Microbiology*. **25**: 284-288.

Prim, N., Sánchez, M. Ruiz, C. Pastor, and P. Díaz. 2003. Use of methylumbeliferyl-derivative substrates for lipase activity characterization.

Probanza, A., J.A. Lucas Garcia, M. Ruiz Palomino, B. Ramos and F.J. Gutiérrez Mañero.2002. Pinus pinea L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR Bacillus (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). Applied Soil Ecology. **20**: 75–84.

Puyen, Z. M., E. Villagrasa, J. Maldonado, E. Diestra, I. Esteve and A. Solé. 2012. Biosorption of lead and copper by heavy-metal tolerant *Micrococcus luteus* DE2008. Bioresource Technology. **126**: 233–237.

R

Raj.S. V., A. K. Raja, A. B. Vimalanathan, M. G. Tyagi, N. H. Shah, N.A. Johnson Amala Justin, B. I. Santhose, K. Sathiyaseelan.2009. STUDY OF STARCH DEGRADING BACTERIA FROM KITCHEN WASTE SOIL IN THE PRODUCTION OF AMYLASE BY USING PADDY STRAW. Recent Research in Science and Technology, **1**(1): 008–013.

Rath. O., C. Schiller, G. J. Herndl.1993. Ectoenzymatic activity and bacterial dynamics along a trophic gradient in the Caribbean Sea. MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES.**102**: 89-96.

Reyes-Ramírez, A., B.I. Escudero-Abarca, G. Aguilar-Uscanga, P.M. Hayward-Jones and J. E. Barbozacorona. 1994. Antifungal Activity of Bacillus thuringiensis Chitinase and Its Potential for the Biocontrol of Phytopathogenic Fungi in Soybean Seeds. Food Microbiology and Safety. **69**.

RILEY, G. A. 1970. Particulate matter in seawater. Adv. .Mar.Biol. **8**.

Roesijadi, G., S.B. Jones, L. J. Snowden-Swan, Y. Zhu.2010. Macroalgae as a Biomass Feedstock: A Preliminary Analysis. Pacific Northwest National Laboratory. 19944.

S

Sachdeva, D., P. Nema, P. Dhakephalkar, S. Zinjarde and B. Chopadea. 2010. Assessment of 16S rRNA gene-based phylogenetic diversity and promising plant growth-promoting traits of Acinetobacter community from the rhizosphere of wheat. *Microbiological Research*. 165: 627-638.

Salaun, S. 2009. Interactions entre la macroalgue brune *Laminaria digitata* et ses épibiontes bactériens : Etudes moléculaire et spectroscopiques, et capacité d'adhésion et de formation de biofilm. These de doctorat en biologie santé. Université de Bretagne sud. 265p.

Samarakoon, K. and Y. Jeon. 2012. Bio-functionalities of proteins derived from marine algae -A review. *Food Research International*. 48: 948–960.

Sana, B., D. Ghosh, M. Saha and J. Mukherjee. 2007. Purification and characterization of an extremely dimethylsulfoxide tolerant esterase from a salt-tolerant *Bacillus* species isolated from the marine environment of the Sundarbans. *Process Biochemistry*. 42: 1571–1578.

Sanchez-Porro, C., S. Martin, E. Mellado and A. Ventosa. 2002. Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. *Journal of Applied Microbiology*. 94: 295–300.

Schetsa, F.M., H.H.J.L. van den Berga, A. Marcheseb, S. Garbomc and A.M. de Roda Husmana. 2011. Potentially human pathogenic vibrios in marine and fresh bathing waters related to environmental conditions and disease outcome. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 214: 399– 406.

Sharma, A.D., M. Thakur, M. Rana and K. Singh. 2004. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphatase activities in Sorghum bicolor (L.) Moench seeds. *Afr. J. Biotech*. 6:308-312.

Silipo, A., R. Lanzetta, M. Parrilli, L. Sturiale, D. Garozzo, E. L. Nazarenko, R. P. Gorshkova, E. P. Ivanovac and Antonio Molinaro. 2005. The complete structure of the core carbohydrate backbone from the LPS of marine halophilic bacterium *Pseudoalteromonas carrageenovora* type strain IAM 12662T. Carbohydrate Research. **340**: 1475–1482.

Singh, M., K. Saurav, N. Srivastava, and K. Kannabiran. 2010. Lipase Production by *Bacillus subtilis* OCR-4 in Solid State Fermentation Using Ground Nut Oil Cakes as Substrate. Current Research Journal of Biological Sciences. **2**: 241-245.

Siuda, W. and R. J. Chrost. 2002. Decomposition and Utilization of Particulate Organic Matter by Bacteria in Lakes of Different Trophic Status. Polish Journal of Environmental Studies. **11**: 53-65.

Sukumaran, R.K., R.R. Singhanian and A.Pandey. 2005. Microbial cellulases-Productions and challenges. Journal of Scientific and Industrial Research. **64**: 832-844.

T

Thakur, N. L., A. C. Anil, W. G. Müller. 2004. Culturable epibacteria of the marine sponge *Ircinia fusca*: temporal variations and their possible role in the epibacterial defense of the host. AQUATIC MICROBIAL ECOLOGY. **37**: 295–304.

Trivedi, N., V. Gupta, M. Kumar, P. Kumari, C.R.K. Reddy and B. Jha. 2011. Solvent tolerant marine bacterium *Bacillus aquimaris* secreting organic solvent stable alkaline cellulose. Chemosphere. **83**: 706–712.

Trivedi, N., V. Gupta, C.R.K. Reddy and B. Jha. 2013. Detection of ionic liquid stable cellulase produced by the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. isolated from brown alga *Sargassum polycystum* C. Agardh. Bioresource Technology. **132**: 313–319.

V

Veiga M., Esparis A., and Fabregas. J. 1983. Isolation of Cellulolytic Actinomycetes from Marine Sediments. Applied and Environment Microbiology. **46**: 286-287.

Velazquez, E., M. Rojas, M.J. Lorite, R. Rivas R, J.L. Zurdo-Pineiro, M. Heydrich and E.J. Bedmar. 2008. Genetic diversity of endophytic bacteria which could be find in the apoplastic sap of the medullary parenchym of the stem of healthy sugarcane plants, *J. Basic Microbiol.* **48:** 118–124.

Villarreal-Gómez. L J., I. E. Soria-Mercado¹, G. Guerra-Rivas¹ and N/ E. Ayala-Sánchez. 2010. Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacteria associated with their surface. *Revista de Biología Marina y Oceanografía.* **45:** 267-275.

Vidyalakshmi, R., R. Paranthaman and J. Indhumathi. 2009. Amylase Production on Submerged Fermentation by *Bacillus spp.* *World Journal of Chemistry.* **4:** 89-91.

Vinoth, R. S., R. A. Kanikkai, V. A. Babu, G. T. Manoj, H. S. Naman, A. J. Johnson, S.B. Infant and K. Sathiyaseelan.2009. Study of starch degrading bacteria from kitchen waste soil in the production of amylase by using paddy straw. *Recent Research in Science and Technology.* **1:** 008–013.

Villarreal-Gómez, L. J., I. E. Soria-Mercado¹, G. Guerra-Rivas¹ and N. E. Ayala-Sánchez. 2010. Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacteria associated with their surface. *Revista de Biología Marina y Oceanografía.***45:** 267-275.

W

Wahl, M. 1989. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. *Mar Ecol Prog Ser* **58:**175-189.

Wang, X., Z. Lia,J. Su, Y. Tian, X. Ning , H. Hong , and T. Zheng. 2010. Lysis of a red tide causing alga, *Alexandrium tamarense*, caused by bacteria from its phycosphere. *Biological Control* .**52:**123–130.

Wiese, J., V. Thiel, K. Nagel, T. Staufenberger, and J. F. Imhoff. 2009. Diversity of Antibiotic-Active Bacteria Associated with the Brown Alga *Laminaria saccharina* from the Baltic Sea. *Mar Biotechnol.* **11:** 287–300.

Wijesekaraa, I; R. Pangestuti, and S.K. Kima. 2010. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*. **84**: 14–21.

WOO., CHEOL-JOO, U.YUN and H. PARK. 1996. Isolation of chitin- utilizing bacterium and production of its extracellular chitinase. *Journal of microbiology and biotechnology*. **6**: 439-444.

X

Xia, L., D. Xiong, Z. Gu, Z. Xu, C. Chen, J. Xie and P. Xu. 2008. Recovery of *Acinetobacter baumannii* from diseased channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in China. *Aquaculture*. **284**: 285–288.

Xue ,Q., Y. Chen , S. Li , L. Chen , G. Ding , D. Guo and J. Guo. 2009. Evaluation of the strains of *Acinetobacter* and *Enterobacter* as potential biocontrol agents against *Ralstonia* wilt of tomato. *Biological Control*. **48**: 252–258.

Y

YANCEY, P.H., M.E. CIARK, S.C. HAND, R.D. BOWLUS, and G.N. SOMERO. 1982. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science*: **217**: 1214-1227.

Yano, Y., K. Hamano, M. Satomi, I. Tsutsui, M. Ban ,D. Aue-umneoy. 2014. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species related to food safety isolated from shrimp cultured at inland ponds in Thailand. *Food Control* **38**: 30-36.

Yoshimune, K., Y. Shirakihara, A. Shiratori, M. Wakayama, P. Chantawannakul, M. Moriguchi. 2006. Crystal structure of a major fragment of the salt-tolerant glutaminase from *Micrococcus luteus* K-3. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **346**: 1118–1124.

Z

Zbakh, H., H. Chiheb, H. Bouziane, V. M. Sánchez and H. Riadi. 2012. antibacterial activity of benthic marine algae extracts from the mediterranean coast of morocco. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. **2**: 219-228.

Zhan, Y., Y. Yan, W. Zhang, M. Chen, W. Lu, S. Ping and M. Lin. 2012. Comparative analysis of the complete genome of an *Acinetobacter calcoaceticus* strain adapted to a phenol-polluted environment. *Research in Microbiology*. **163**: 36-43.

Zhang, Y., C. F. Marrs, C. Simon and C. Xi. 2009. Wastewater treatment contributes to selective increase of antibiotic resistance among *Acinetobacter spp.* *Science of the Total Environment*. **407**: 3702–3706.

Zheng, L., X. Han, H. Chen, W. Lin and X. Yan. 2005. Marin bacteria associated with marin macroorganisms: the potencial antimicrobial ressources. *Annals of Microbiology*. **55**: 119-124.

Zhou, Y. X. Yuan, X. Liang, L. Fang, J. Li, X. Guo, X. Bai, S. He. 2013. Enhancement of growth and intestinal flora in grass carp: The effect of exogenous cellulose. *Aquaculture* **7**: 416–417.

Annexes

Annexe I. Composition de milieu ZoBell (pour un litre de milieu) :

Agar.....	15g
Tryptone.....	5g
Extrait de levure.....	1g
Eau de mer artificielle.....	750ml
Eau ultra pure	qsp 1L
pH.....	7

Eau de mer artificielle

Nacl.....	30g
Kcl.....	7g
Mgcl ₂ 6H ₂ O.....	10,8g
MgSO ₄ 7H ₂ O.....	5,4g
Cacl ₂ 2H ₂ O.....	1g
L'eau distillée.....	1000m

Annexe II

Tab. I : Quantités en NaCl correspondantes à la concentration (M)

Concentration en NaCl (M)	Quantité de NaCl (g)
0,5	29,25
1	58,44
1,5	87,66
2	116,88
2,5	146,1
3	175,32

Annexes

Annexe III :

Tab 2 : Résultats des différents tests des activités enzymatiques

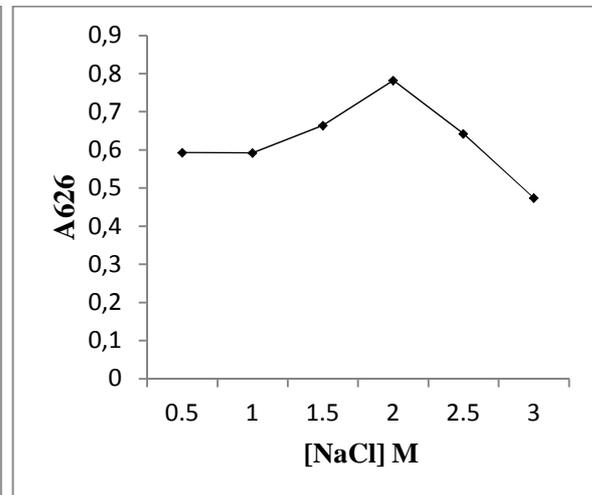
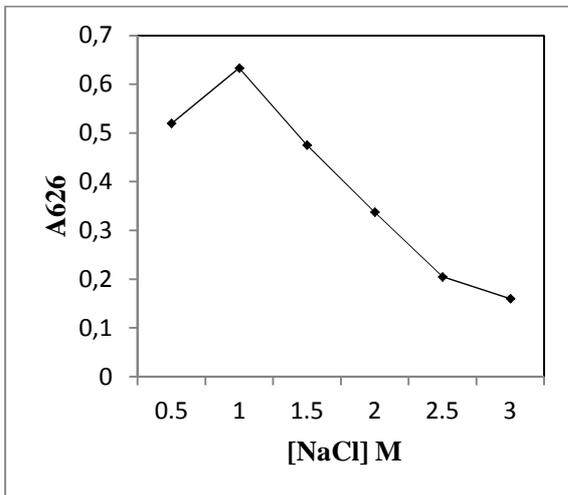
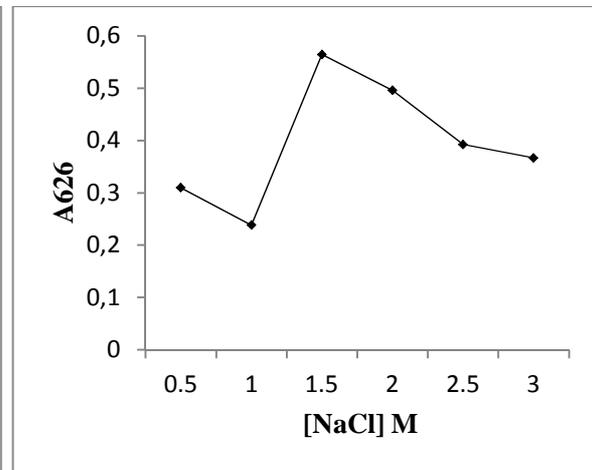
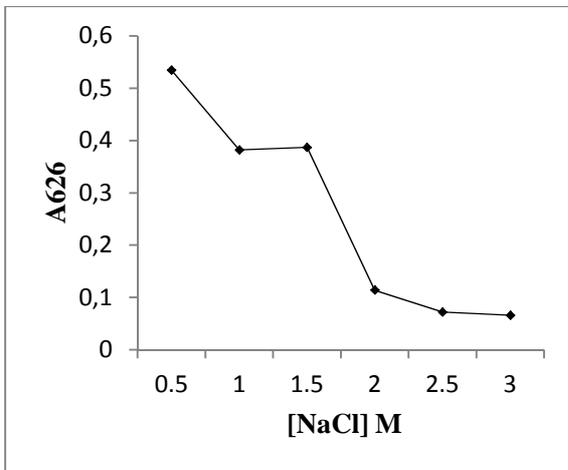
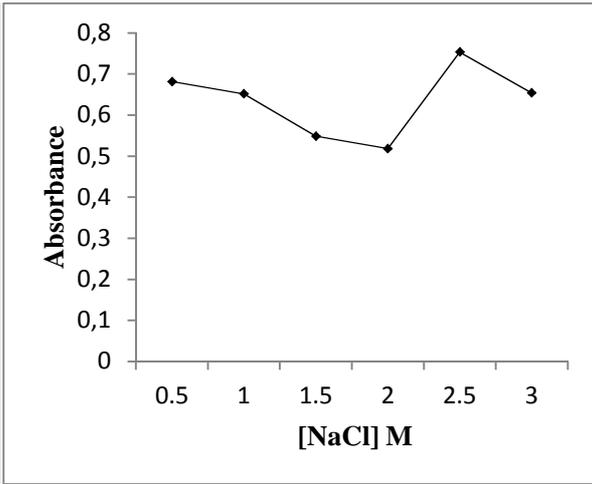
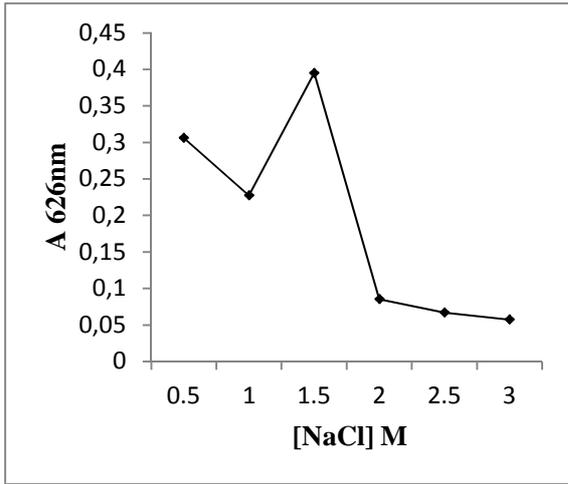
Souche	Cellulase	Lipase	Estérase	Protéase	Chitinase	Amylase
S2	+++	+	-	-	-	-
S3	-	-	++	++	-	-
S4	-	++	-	+++	-	-
S5	-	-	+	+	-	-
S7	-	-	+	++	-	+
S8	-	++	-	+	-	-
S9	-	-	+++	-	-	+++
S10	-	++	++	-	-	-
S14	-	++	+	++	+	-
S15	-	++	-	+++	-	-
S16	-	++	-	+	-	-
S17	-	++	+++	-	-	-
S19	-	++	-	+	++	-
S20	-	++	-	+	-	-
S21	-	+	-	-	-	-
S22	+		+	-	-	-
S25	-	++	+	-	-	+
S27	-	++	-		-	-
S28	+++	++	-	+	-	-
S29	-	-	-	+	-	-
S30	-	+	+	++	-	-
S31	-	++	+	++	-	-

Annexes

S33	-	++	-	++	+	+++
S34	+++	+	-	+	-	-
S37	-	+++	-	-	+	+++
S38	-	+	-	+++	-	-
S39	+	+	+	-	-	-
S40	-	-	-	-	+	-
S41	+++	+	+	-	+	-
S42	-	++	-	++	-	-
S43	-	+	+	-	-	-
S44	-	+++	+		-	-
S45	-	++	-	+++	-	-
S46	-	+++	-	-	+	-
S47	-	-	+	++	-	+++
S48	-	+++	-	+	+	-
S49	-	++	-	+	+	+++
S50	-	+	-	-	-	-
S51	-	+++	+++	-	-	-
S52	-	+	+	-	-	++
S53		+	+	-	-	
S54		+	-	-	-	

6. l'effet de la concentration de NaCl sur la croissance bactérienne:

Annexes



ملخص

في هذه الدراسة، تم جمع خمس (5) عينات من الطحالب البحرية في ظروف معقمة من الساحل الغربي لولاية بجاية (Boulimat)، وذلك من أجل عزل البكتيريا الموجودة على سطحها، وقد تم عزل 54 مستعمرة بكتيرية على أساس خصائصها المورفولوجية، وقد اختبرت تسعة (9) منها في وقت لاحق على أساس أنشطتها الأنزيمية لاختبار قدرتها على إنتاج أصناف مختلفة من الأنزيمات في تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (0.5، 1، 1.5، 2 ت)، وكذلك قدرتها على تحمل الملح من خلال نموها في الوسط السائل حتى 3ت من كلوريد الصوديوم مع وبدون إضافة مستخلص الطحالب البحرية *Ulva lactuca*.

أكدت نتائج الدراسة المورفولوجية والبيوكيميائية من انتماء هذه السلالات التسعة إلى (S6، S32، S6، S32، *Pseudoalteromonas* (S24،S18)، *Bacillus* (S26، S23)، *Acinetobacter* (S12) *Micrococcus* (S13)، *Vibrio* (S13)، هذه الأخيرة تنتج العديد من الأنزيمات في الظروف العادية وتحت تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم، في غياب أو وجود مستخلص الطحالب البحرية، وأظهرت أيضا نموًا جيدًا في الوسط المالح (إلى 3ت من كلوريد الصوديوم) الذي سمح بتصنيفها بالمحبة للملوحة المعتدلة، وذلك أيضا في وجود وغياب مستخلص الطحالب البحرية *Ulva lactuca*.

كلمات مفتاحية : البكتيريا البحرية ، الطحالب البحرية ، الأنزيمات، الزراعة، المحبة للملوحة.

Résumé:

Cinq (05) échantillons d'algues marines sont prélevés en toute asepsie de la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat) dans le but d'isoler la flore bactérienne attachée à leur surface, 54 isolats bactériens sont isolés et séparés au départ sur la base de leurs caractères morphologiques, 9 isolats sont choisis par la suite sur la base de leurs activités enzymatiques pour tester ultérieurement leur aptitude à produire les différentes classes d'enzymes hydrolytiques, à différentes concentrations en NaCl (0.5, 1, 1.5, 2M) et tester leurs osmotolérance en milieu liquide jusqu'à 3M de NaCl avec et sans ajout de l'extrait d'algue marine *Ulva lactuca*.

Une identification morphologique et biochimique de ces 9 isolats a permis de les affilier aux genres *Pseudoalteromonas* (S6, S32, S6) ; *Bacillus* (S18, S24) ; *Acinetobacter* (S23, S26) ; *Micrococcus* (S12) ; *Vibrio* (S13). Ces derniers synthétisent plusieurs enzymes aux conditions normales et aux différentes concentrations en NaCl, soit en absence ou en présence de l'extrait d'algue, ils ont montré aussi une bonne croissance en milieu salin (jusqu'à 3M de NaCl) ce qui permis de leur classer comme modérément halophiles, encore en présence et en absence de l'extrait d'algue *Ulva lactuca*.

Mots clés : bactéries marines, algues marines, enzymes, agriculture, osmotolérance.

Abstract:

Five (05) samples of marine algae were isolated from the west region (Boulimat, W. Bejaia) with aseptic conditions, with an aim of isolating the bacteria attached to their surface, 54 bacterial isolates are isolated and separated at the beginning on their morphological forms, 9 isolates are thereafter selected on the basis of their enzymatic activity to test their aptitude to produce the various classes of hydrolytic enzymes, in different concentration of NaCl (0.5, 1, 1.5, 2M) and to test their osmotolerance in liquid medium until 3M of NaCl with and without addition of the marine algae extract of *Ulvalactuca*.

A morphological and biochemical identification of these 9 isolates made it possible to affiliate them with the genera *Pseudoalteromonas* (S6, S32, S6); *Bacillus* (S18, S24); *Acinetobacter* (S23, S26); *Micrococcus* (S12); *Vibrio* (S13). This latter synthesize several enzymes in normal conditions and with the various concentrations of NaCl, in absence and in presence of the algae extract, they also showed a good growth in saline medium (3M NaCl) what allowed to classify them like moderately halophiles, still in presence and absence of the algae extract of *Ulvalactuca*.

Key words: marine bacteria, marine algae, enzymes, agriculture, salt tolerance.

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I

Chapitre II

Partie pratique

Matériel et méthodes

Résultats

Discussion

Conclusion

Annexes

Références bibliographique