

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب

Université–Ain-Temouchent-BelhadjBouchaib Faculté des Sciences et de  
Technologie Département de Biologie



Département de Biologie

Projet de Fin d'Etudes

Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie appliquée Domaine :  
SNV

Filière : Sciences biologiques Spécialité:  
Microbiologie appliquée Thème

Intitulé

# Étude et isolement des souches marines Le cas de Beni Saf et de Honaine

**Présenté Par:**

Melle.MAHROUZ Salima

Melle.BENHADDOU Randa

**Devant le jury composé de:**

Dr.BELAID.

MCAUAT.B.B(Ain Temouchent)

Président

Dr.LACHACHI.M

MCAUAT.B.B(Ain Temouchent)

Examinatrice

Dr.CHERIF.N

MCAUAT.B.B(Ain Temouchent)

Encadrant

Année Universitaire 2025/2026

# Remerciements

*Au terme de ce travail, nous remercions **ALLAH** de nous avoir donné son aide et la détermination, ainsi que la patience pour pouvoir franchir toutes les épreuves afin d'arriver à ce stade.*

*Notre profonde gratitude et sincères remerciements vont à notre promoteur monsieur **CHERIF Nadjib** Maitre De Conférences A à l'université BELHADJ Bouchaib de Ain Temouchent, d'avoir accepté de nous encadrer, et surtout pour nous avoir permis de travailler sur un thème de recherche aussi novateur, riche et passionnant.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements à monsieur **BELAID**. Maitre De Conférences A à l'université BELHADJ Bouchaib, de nous fait l'honneur de présider le jury de notre mémoire.*

*Nous tenons aussi à remercier madame **LACHACHI M** Maitre De Conférences A à l'université BELHADJ Bouchaib de Ain Temouchent, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Nos vifs remerciements vont à tous les enseignants du département de Biologie, particulièrement à ceux ayant contribué à notre formation, ainsi qu'aux techniciens et ingénieurs des laboratoires de microbiologie.*

*Enfin, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire. À vous tous, **un grand Merci**.*

## ***Dédicaces***

*Au nom d'ALLAH le Tout-Puissant qui nous a éclairés sur les chemins de la connaissance et de la sagesse, Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents à qui je dois ce que je suis Mes*

*grands-parents, qui sont partis trop tôt*

*Ma très chère sœur : Nassima Douaa*

*Mon très cher frère : Abdelkader Amine*

*Mes chers tantes : Salima , Farida , Rafika*

*Mes oncles : Bounoir, Nourine, Abdelhafid,*

*Abdelrahim*

*Mes proches et tous ceux que j'aime*

*Tous les gens de ma promotion 2025 enseignants et étudiants de microbiologie appliquée Merci.*

***Salima.***

## *Dédicaces*

### *J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail*

#### *A ma très chère mère :*

Celle qui aveillé à mes cotes depuis mon jeune âge jusqu'à aujourd'hui tu n'es pas seulement une mère pour moi mais une meilleure amie, ma sœur affectueuse et mon amie fidèle. Je la trouve toujours à mes côtés, celle qui est la sérénité de mon cœur, mon réconfort et mon plaisir dans la vie. Sa présence est ma source d'inspiration et ma force pour affronter les différents obstacles.

#### *A mon très cher père:*

Tu as été toujours mon soutien et ma sécurité dans la vie, mon courage, ma confiance et ma force. Tu cherches toujours mon confort et que rien ne m'empêche de terminer mes études. Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail reflète ma gratitude et mon affection.

#### *A mes très chers frères : Othmane et Omar*

Ma gratitude va également à mes frères qui m'ont accompagné au cours des différentes étapes de ma vie, et m'ont apporté aide et réconfort dans les moments heureux comme dans les épreuves

"Je vous souhaite un succès continu et des journées heureuses."

#### *A mes amis*

Je mesure pleinement le dévouement de mes camarades et la valeur de leurs contributions précieuses dans la réalisation de mes ambitions. C'est pourquoi je présente ma plus profonde reconnaissance à tous ceux qui ont activement participé à mon développement et à mon épanouissement.

ainsi qu'à toute personne ayant m'encouragé ou aidé au long de mes études. Je vous souhaite à tous un avenir rempli de joie, de réussite, et surtout, une santé durable

***Randa***

## Résumé

Les microorganismes marins, omniprésents dans les écosystèmes aquatiques, jouent un rôle fondamental dans les cycles biologiques et présentent un potentiel biotechnologique prometteur, notamment dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Ce travail a pour objectif l'isolement de souches bactériennes marines le long de la côte algérienne (Honaine et Béni Saf) et l'évaluation de leurs activités biologiques, en particulier enzymatiques et antimicrobiennes. Au total, 26 souches bactériennes ont été isolées à partir des cotes de Honaine et Béni Saf. Leur activité enzymatique a été testée à travers trois principales réactions: l'activité amylolytique, cellulolytique et protéolytique. Parallèlement, leur activité antimicrobienne a été évaluée contre cinq souches pathogènes (*Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), révélant que 7 % des isolats présentaient une action inhibitrice significative. L'identification des bactéries a été réalisée par des méthodes biochimiques a montré que les souches appartiennent à la famille des *Pseudomonadaceae*. En conclusion, cette étude met en évidence le potentiel biotechnologique des souches bactériennes marines isolées, notamment grâce à leurs activités enzymatiques variées et, dans une moindre mesure, antimicrobiennes. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour leur exploitation future dans divers secteurs industriels.

**Mots clés:** Microorganismes marins, Activités enzymatiques, Activité antimicrobienne, Pseudomonadaceae, Biotechnologie

## **Abstract**

Marine microorganisms, ubiquitous in aquatic ecosystems, play a fundamental role in biological cycles and hold promising biotechnological potential, particularly in the pharmaceutical and agri-food industries. This study aims to isolate marine bacterial strains along the Algerian coast (Honaine and Béni Saf) and evaluate their biological activities, with a focus on enzymatic and antimicrobial properties. A total of 26 bacterial strains were isolated from the coastal areas of Honaine and Béni Saf. Their enzymatic activity was assessed through three key reactions: amylolytic, cellulolytic, and proteolytic activities. Additionally, their antimicrobial activity was tested against five pathogenic strains (*Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*), revealing that 7% of the isolates exhibited significant inhibitory effects. Biochemical identification methods confirmed that the strains belong to the *Pseudomonadaceae* family. In conclusion, this study highlights the biotechnological potential of the isolated marine bacterial strains, particularly due to their diverse enzymatic activities and, to a lesser extent, antimicrobial properties. These findings open promising avenues for their future exploitation in various industrial sectors.

**Keywords:** Marine microorganisms, Enzymatic activities, Antimicrobial activity, Pseudomonadaceae, Biotechnology

## الملخص :

تُعد الكائنات الحية الدقيقة البحرية من المكونات الأساسية في النظم البيئية المائية، حيث تنتشر على نطاق واسع وتؤدي دورًا محوريًا في الدورات البيولوجية. وتبرز أهميتها البيوتكنولوجية المتزايدة، لا سيما في الصناعتين الصيدلانية والغذائية الزراعية، نظرًا لما تمتلكه من قدرات حيوية فريدة.

تهدف هذه الدراسة إلى عزل سلالات بكتيرية بحرية من منطقتين ساحليتين في الجزائر، هما حُنانة وبني صاف، وتقييم أنشطتها البيولوجية، مع التركيز على الخصائص الإنزيمية والنشاطات المضادة للميكروبات. تمكّن الباحثون من عزل 26 سلالة بكتيرية من المواقع المذكورة، وتم تقييم نشاطها الإنزيمي عبر ثلاثة اختبارات رئيسية: النشاط الأميلازي، النشاط السيليلولازي، والنشاط البروتيني.

كما خضعت هذه السلالات لاختبارات للكشف عن نشاطها المضاد للميكروبات ضد خمس سلالات ممرضة هي:

*Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Acinetobacter baumannii*، *Enterococcus faecalis* و *Pseudomonas aeruginosa*.

أظهرت النتائج أن 7% من العزلات تمتلك تأثيرًا مثبطًا ملحوظًا ضد هذه الممرضات.

أكدت التحاليل البيوكيميائية أن السلالات المعزولة تنتمي إلى عائلة *Pseudomonadaceae* وتسَلط هذه النتائج الضوء على الإمكانيات البيوتكنولوجية لهذه السلالات، لا سيما من حيث أنشطتها الإنزيمية المتنوعة، رغم محدودية النشاطات المضادة للميكروبات.

في الختام، تفتح هذه الدراسة آفاقًا واعدة لاستغلال السلالات البكتيرية البحرية في مجالات متعددة، بما في ذلك الصناعات الدوائية والزراعية والبيئية.

## الكلمات المفتاحية

الكائنات الحية الدقيقة البحرية، الأنشطة الإنزيمية، النشاط المضاد للميكروبات، عائلة البسودوموناداسي (*Pseudomonadaceae*)، التقنية الحيوية (البيوتكنولوجيا).

## Table de matière

Remerciements .....	Erreur ! Signet non défini.
Dédicaces .....	Erreur ! Signet non défini.
Résumé.....	Erreur ! Signet non défini.
Table de matière .....	Erreur ! Signet non défini.
Listes des tableaux.....	Erreur ! Signet non défini.
Listes des figures.....	Erreur ! Signet non défini.
Liste des abréviations.....	Erreur ! Signet non défini.
Introduction : .....	Erreur ! Signet non défini.
Partiel :Etude bibliographique.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Chapitre I : Biodiversité microbienne Du milieu marin .....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>I.1. Les Bactéries Marines .....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
I.1.1. Les cyanobactéries .....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.2. Les actinomycètes .....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.3. Les archeobacterias .....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.4. Les Pseudoalteromonas.....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.5. Roseobacter.....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.6. Les Bacteroidetes .....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.7. Les algues marines .....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.8. Shewanella .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Chapitre II : La Chimo-diversité Du milieu marin.....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>II.1. La Chimo-diversité issue des microorganismes marins.....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<i>II.2. Les enzymes extracellulaires sécrétées par des microorganismes marins</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
II.2.1. Protéase.....	Erreur ! Signet non défini.
II.2.2. Lipases.....	Erreur ! Signet non défini.
II.2.3. Chitinase .....	Erreur ! Signet non défini.
<i>II.3. La biotechnologie marine .....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
II.3.1 Définition de la biotechnologie marine .....	Erreur ! Signet non défini.
II.3.2. Application des microorganismes marins.....	Erreur ! Signet non défini.
II.3.2.1. Application antibiotique .....	Erreur ! Signet non défini.
II.3.2.2. Application anticancéreuse .....	Erreur ! Signet non défini.
II.3.2.3. Application anti-diabétique.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Chapitre III :Les facteurs qui influencent La croissance des souches marines.</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>III.1. Les facteurs qui influencent la croissance des souches marins</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
III.1.1. Salinité de l'eau .....	Erreur ! Signet non défini.
III.1.2. Température.....	Erreur ! Signet non défini.
III.1.3. Le pH.....	Erreur ! Signet non défini.
III.1.4. Pression hydrostatique.....	Erreur ! Signet non défini.
III.1.5. La teneur en oxygène .....	Erreur ! Signet non défini.
III.1.6. Source d'énergie.....	Erreur ! Signet non défini.
III.1.7. Source de carbone .....	Erreur ! Signet non défini.
III.1.8. Source d'azote .....	Erreur ! Signet non défini.
Partie 2 :Etude Expérimentale.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Chapitre IV : Matériels et Méthodes .....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

<i>IV.1. Prélèvement et échantillonnage.....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
IV .1.1.Zone de prélèvement.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.1.1.1. Prélèvements à Béni Saf (Aïn Témouchent) .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.1.1.2. Prélèvements à Honaine (Tlemcen) .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>IV.2. Isolement .....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
IV.2.1. Préparation des dilutions.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.2.2. Ensemencement et purification.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.2.3. Le choix de milieu de culture.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>IV.3. Identification des souches marines isolées .....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
IV.3.1. L'aspect microscopique : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.3.2. Tests biochimiques.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.3.2.1. Test de catalase.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.3.2.2. Test d'oxydase.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.3.2.3. Recherche du profil biochimique à l'aide de la galerie API®20E	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>non défini.</b>	
<i>IV.4. Criblage des souches à activité biologique.....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
IV.4.1. Recherche du pouvoir enzymatique.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.4.1.1. Recherche du pouvoir amylolytique:.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.4.1.2. Recherche du pouvoir cellulolytique: .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.4.1.3. Recherche du pouvoir protéolytique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.4.2. Recherche du pouvoir antimicrobien des isolats .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV.4.2.1. L'ensemencement en spot .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>chapitre V : Résultats et Discussions .....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>V.1. Isolement des souches marines.....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<i>V.2. Identification des souches bactérienne sélectionnées .....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
V .2.1. Aspect microscopique des colonies.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
V.2.2. Lagalerie API20 E .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>V.3. Sélection des bactéries marines à activités biologiques .....</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
V.3.1. Criblage des bactéries à activité enzymatique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
V.3.1.1. Les bactéries amylolytique.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
V.3.1.2. L'activité cellulolytique.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
V.3.1.3. L'activité protéolytique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
V .3.1.4. Criblage secondaire des souches isolées.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
V .3.2. Etude de l'activité antimicrobienne des isolats .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>conclusion .....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>References bibliographique : .....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

## listes des tableaux

N° Tableau	Page
<b>Tableau 01</b> : Les applications majeures des organismes marins	<b>11</b>
<b>Tableau 02</b> : des micro-organismes testés et des composés possibles responsables	<b>13</b>
<b>Tableau 3</b> : coloration de gram de deux régions.	<b>31</b>
<b>Tableau 4</b> : résultats des souches C et 6 par la galerie api 20E.	<b>32</b>
<b>Tableau 5</b> : test d'oxydase et catalase des trois souches.	<b>33</b>
<b>Tableau 6</b> : les souches sélectionnées présentant les activités enzymatiques	<b>38</b>
<b>Tableau 7</b> : Illustration des résultats de l'effet antibiotique en spot des souches de Honaine.	<b>39</b>

## Listes des figures

N° figure	page
<b>Figure 01 : La structure chimique de Dolastatine</b>	<b>12</b>
<b>Figure 02: Schéma du protocole expérimental mis en œuvre dans le cadre de notre étude.</b>	<b>18</b>
<b>Figure 03 :La localisation de région de Honaineet Béni Saf.</b>	<b>20</b>
<b>Figure 04: Echantillons collectés de l'eau demer (Honaine ,Tlemcen).</b>	<b>21</b>
<b>Figure 5 : Présentation de la bouteille Niskin employée pour le prélèvement d'échantillons d'eau de mer.</b>	<b>21</b>
<b>Figure 5 : Présentation de la bouteille Niskin employée pour le prélèvement d'échantillons d'eau de mer.</b>	<b>22</b>
<b>Figure 6: Préparation des dilutions.</b>	<b>22</b>
<b>Figure 7: Les étapes de purification.</b>	<b>24</b>
<b>Figure 8 : la galerie API20E.</b>	<b>27</b>
<b>Figure 9:Les étapes d'étudedepouvoir enzymatique (amidon;cellulose ;protéase) dessouches marins.</b>	<b>29</b>
<b>Figure 11: résultats d'isolements des échantillons de Honaine.</b>	<b>31</b>
<b>Figure 12: Résultats d'isolement des échantillons de Beni Saf</b>	<b>32</b>
<b>Figure 13: Aspect macroscopique de quelques colonies du l'eau de mer de Beni-Saf.</b>	<b>33</b>
<b>Figure 14: L'observation microscopique de trois souches</b>	<b>35</b>
<b>Figure 15 : résultats de la galerie api.</b>	<b>32</b>
<b>Figure 16 : Résultats de test de catalase.</b>	<b>33</b>
<b>Figure 17 :L'activité amylolytique dessouches bactériennes marines isolées</b>	<b>35</b>
<b>Figure 18:Diagramme comparatif dessouche samylolytiques obtenues des Échantillon étudiés.</b>	<b>35</b>
<b>Figure 19:L'activité cellulolytique des souches marines dans deux sites.</b>	<b>35</b>
<b>Figure20:Diagrammecomparatifdessouches cellulolytiquesobtenuesdesÉchantillonsétudiés.</b>	<b>36</b>
<b>Figure21:L'activitéprotéolytiquedessouchesdes bactéries marines.</b>	<b>36</b>
<b>Figure22 : L'activitécellulolytique des souches marines dans deux sites.</b>	<b>37</b>
<b>Figure 23:Diagrammecomparatifdessouchesprotéolytiquesobtenuesdes Échantillonsétudiés.</b>	<b>37</b>
<b>Figure 24 :Profil enzymatique de l'eau de mer dans deux régions distinctes.</b>	<b>37</b>

## **Liste des abreviations**

**AMP** : peptide antimicrobien

**ATB** : antibiotique

**DHA** : acide docosahexaénoïque

**FAO** :Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

**GM** : gélose marine

**GN** : gélose nutritive

**LB** :Luria–Bertani

**MH** : Muller Hinton

**OMS** : organisation mondiale de la santé

**SP** : souche pathogène

### **Unités et dimension**

**°C**:degréCelsius

**Min**: minute

**Sec**: second

**H**: heur

**Mg**:milligrammes

**L**: litre

**MI** : millilitre

**m**:mètre

**ng** : nanogramme

**µm**:micromètre

**Mpa** :mégapascale

# Introduction

---

## Introduction

La mer constitue un élément fondamental pour la survie de l'humanité, en fournissant des ressources alimentaires, des matières premières et en contribuant au bien-être global. Elle abrite une biodiversité exceptionnelle, dominée par des microorganismes invisibles à l'œil nu mais essentiels au fonctionnement et à l'équilibre des écosystèmes marins. Ces microorganismes jouent un rôle actif dans la régulation du climat mondial et renforcent la résilience des océans face aux effets du changement climatique (**Le Gal, 2004**).

Longtemps négligée, cette richesse microbienne est aujourd'hui mieux appréhendée grâce aux avancées récentes de la recherche scientifique, qui ont révélé une diversité bien supérieure à celle des organismes terrestres. Cette diversité remarquable s'explique notamment par l'ancienneté de la vie marine, qui remonte à plus de 3,5 milliards d'années, ainsi que par l'extraordinaire variété des niches écologiques présentes dans le milieu océanique. Les microorganismes marins se répartissent principalement en eucaryotes (tels que les microalgues, les champignons et les ciliés) et en procaryotes (bactéries et archées), qui présentent des métabolismes extrêmement diversifiés (**Gézenec, 2014**). Ils produisent une grande variété de métabolites secondaires originaux, souvent absents chez les espèces terrestres, présentant un fort potentiel pour le développement de nouvelles molécules à visée pharmaceutique : agents anti-inflammatoires, anticancéreux et antibiotiques (**Bhakuni et Rawat, 2005**). Par ailleurs, le milieu marin constitue une source importante d'enzymes innovantes et de composés bioactifs utilisés dans les secteurs cosmétique et biomédical (**Gézenec, 2014**).

Ces microorganismes jouent également un rôle essentiel dans la dégradation de la matière organique, qu'elle soit naturelle ou polluante, par la production d'enzymes extracellulaires spécialisées (**Perez et al., 2002**). Cette capacité de biodégradation confère à ces microorganismes un potentiel considérable pour des applications en bioremédiation.

En outre, leur utilisation s'étend aujourd'hui aux industries agroalimentaire, chimique, pharmaceutique et cosmétique, démontrant que ces organismes, encore relativement peu explorés, représentent une ressource précieuse pour le développement de nouvelles technologies et produits industriels.

L'objectif a pour but:

\*Réaliser l'isolement de microorganismes marins à partir d'échantillons collectés sur les côtes de

Béni-Saf et de Honaine.

\*Identifier certaines souches marines isolées.

\*Mettre en évidence l'activité antimicrobienne de chacune des souches.

\*Évaluer la production d'enzymes d'intérêt industriel par ces souches.

**Partiel :**  
**Etude bibliographique**

**Chapitre I :**  
**Biodiversité microbienne Du milieu marin**

## Chapitre I : Biodiversité microbienne Du milieu marin

---

La biodiversité marine est extrêmement riche et s'étend de l'échelle génétique jusqu'aux écosystèmes entiers (**Knapp et al., 2017**). Elle dépasse largement celle des milieux terrestres et continue de surprendre les scientifiques par sa complexité. Les organismes marins ont développé des adaptations physiologiques spécifiques qui leur permettent de vivre dans des conditions extrêmes, comme le froid intense, l'obscurité totale ou la haute pression. À ce jour, environ 200 000 espèces marines sont décrites, mais des millions d'autres restent probablement inconnues (**Campos, 2016**). Cette diversité est liée à la grande variété des habitats marins, des récifs coralliens aux profondeurs abyssales.

Les micro-organismes y occupent une place dominante, en particulier les bactéries marines, qui représentent plus de 10 % de la biomasse carbonée mondiale (**Gilles et Kornprobst, 2009**). Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques et les interactions écologiques marines. Ainsi, la biodiversité marine, encore largement inexplorée, offre un potentiel important pour de nouvelles découvertes scientifiques et des applications dans de nombreux domaines comme la santé, la biotechnologie ou l'environnement.

Les micro-organismes marins vivent dans des milieux salés comme les océans, les mers ou les estuaires côtiers (**Le Gal, 2004**). Ils sont très variés et représentent une grande partie de la biomasse des océans. On y retrouve des archées, des bactéries, des champignons, des protistes et même des virus. Ces micro-organismes peuvent vivre dans des environnements très différents, depuis la surface de l'eau jusqu'aux grandes profondeurs, voire sous plusieurs kilomètres de sédiments marins. Cette diversité leur permet de s'adapter facilement aux changements du milieu et de remplir des rôles écologiques importants.

Ils participent à de nombreux processus biologiques, comme la production ou la dégradation de matière. Ils jouent aussi un rôle central dans les cycles biogéochimiques, qui permettent de recycler les éléments nutritifs dans l'écosystème marin (**Pinnaka et Tanuku, 2019**). Grâce à eux, la vie marine est équilibrée et durable. Leur étude est donc essentielle pour comprendre le fonctionnement des océans et préserver leur biodiversité.

## Chapitre I : Biodiversité microbienne Du milieu marin

---

### I.1. Les Bactéries Marines

Les bactéries marines forment un groupe très vaste et varié de micro-organismes procaryotes. Leur taille est généralement de quelques micromètres, et elles peuvent avoir différentes formes : sphériques (cocci), en bâtonnets (bacilles) ou en spirales (spirochètes). On les retrouve dans tous les océans, y compris dans des milieux extrêmes comme les grandes profondeurs, les sources hydrothermales ou les eaux très froides. Grâce à leur grande capacité d'adaptation, elles survivent dans des conditions où peu d'autres organismes peuvent vivre.

Bien qu'elles soient très répandues, leur rôle dans les écosystèmes marins est encore peu connu. Pourtant, elles sont essentielles, notamment dans les cycles biogéochimiques : elles participent à la décomposition de la matière organique et à la production de nutriments. Certaines espèces peuvent même dégrader des substances toxiques, aidant ainsi à purifier l'eau. Leur diversité est impressionnante, allant de bactéries microscopiques à des espèces visibles à l'œil nu, comme *Thiomargarita namibiensis*, qui peut atteindre 0,75 mm de diamètre. Ces bactéries représentent un potentiel important pour la recherche, notamment en biotechnologie et en écologie marine (Guézennec, 2014).

#### I.1.1. Les cyanobactéries

Les cyanobactéries marines sont des micro-organismes procaryotes capables de faire la photosynthèse. Elles jouent un rôle crucial dans les écosystèmes marins, notamment en captant le CO<sub>2</sub> atmosphérique, ce qui aide à réguler le climat. Chaque année, elles peuvent fixer jusqu'à quatre gigatonnes de carbone (Biller *et al.*, 2015). Leur tolérance au sel et leur capacité à utiliser le CO<sub>2</sub> en fait des candidates idéales pour des applications biotechnologiques durables, surtout dans des procédés qui ne nécessitent pas beaucoup d'eau douce.

Ces bactéries vivent dans des milieux marins soumis à des variations constantes de température, de lumière, de salinité et de nutriments, ce qui leur confère une grande capacité d'adaptation (Ludwig et Bryant, 2012). Elles sont aussi parmi les premiers organismes à avoir produit de l'oxygène par photosynthèse, jouant un rôle fondamental dans l'oxygénation de l'atmosphère terrestre. La diversité des cyanobactéries est impressionnante, avec plus de 50 000 espèces identifiées à ce jour. Parmi les genres les plus connus figurent *Prochlorococcus*, *Synechococcus*, *Oscillatoria*, *Spirulina* ou encore *Trichodesmium*.

Leur grande diversité et leur robustesse font d'elles des modèles importants pour la recherche en

## **Chapitre I : Biodiversité microbienne Du milieu marin**

---

biotechnologie et en écologie marine (Pinnaka et Tanuku, 2019).

### **I.1.2. Les actinomycètes**

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positives, souvent filamenteuses, reconnues pour produire une grande variété de métabolites secondaires bioactifs. Elles sont à l'origine d'environ 75 % des antibiotiques découverts entre 1971 et 1980, ce qui montre leur rôle crucial en pharmacologie. En plus des antibiotiques, ces bactéries produisent des composés aux propriétés antitumorales, immunosuppressives et enzymatiques, utiles en médecine et en biotechnologie. Cependant, la découverte de nouveaux métabolites chez les actinomycètes terrestres a beaucoup diminué ces dernières années, ce qui pousse les chercheurs à explorer d'autres milieux.

Les environnements marins représentent une source prometteuse pour isoler de nouvelles souches capables de produire des molécules innovantes avec des applications thérapeutiques potentielles (Ravikumar *et al.*, 2011). Par ailleurs, les actinomycètes marins jouent un rôle écologique important en formant des relations symbiotiques avec des organismes comme les éponges, les coraux et les ascidies. Ces associations leur permettent de protéger leurs hôtes contre les agents pathogènes grâce à des substances bactéricides. Étudier ces actinomycètes marins peut ainsi enrichir la diversité des composés bioactifs et améliorer la compréhension des interactions microbiennes dans les écosystèmes marins (Klervi, C., 2016).

### **I.1.3. Les archeobacterias**

Les archées planctoniques jouent un rôle important dans les réseaux alimentaires marins, mais leurs interactions avec d'autres organismes, comme leurs prédateurs ou partenaires, restent peu connues (Danovaro *et al.*, 2005). On sait que la régulation par les prédateurs influence fortement la population et la composition des microbes marins (Pernthaler, 2005). Une hypothèse avance que leur petite taille pourrait les aider à échapper à la prédation. Par exemple, les Thaumarchaeota marins, qui sont parmi les plus petites cellules dans l'océan, pourraient être moins consommées par les organismes supérieurs (Massana *et al.*, 2009). Cependant, peu d'études ont mesuré précisément l'impact du pâturage sur ces archées et leurs habitats.

Les taux de pâturage semblent plus élevés dans les zones où les conditions chimiques changent rapidement, comme aux interfaces redox dans la colonne d'eau. Mais les méthodes actuelles, comme les expériences en bouteille à bord des navires, ne sont peut-être pas adaptées aux archées. En effet, ces micro-organismes sont sensibles à la température, à la pression et à la

## **Chapitre I : Biodiversité microbienne Du milieu marin**

---

concentration d'oxygène, et des changements dans ces paramètres peuvent fausser les résultats (**Pachiadaki et al., 2016**). Il est donc nécessaire de développer des méthodes plus spécifiques pour mieux comprendre leur rôle dans l'écosystème marin. Le schéma suivant illustre cette idée.

### **I.1.4. Les *Pseudoalteromonas***

Le genre *Pseudoalteromonas* regroupe des bactéries marines Gram négatives qui ont besoin d'ions sodium ( $\text{Na}^+$ ) pour se développer. Elles ont une forme de bâtonnets et peuvent se déplacer grâce à des flagelles situés sur les côtés ou aux pôles, parfois non recouverts de gaines.

Leur métabolisme est chimio-hétérotrophe et strictement aérobie, ce qui signifie qu'elles utilisent des composés organiques comme source d'énergie et nécessitent de l'oxygène pour vivre. Ce groupe bactérien, découvert récemment, suscite beaucoup d'intérêt à cause de ses particularités biologiques et écologiques (**Bowman, 2007**).

En effet, les espèces de *Pseudoalteromonas* sont souvent associées à des organismes eucaryotes marins. Étudier ces interactions permettrait de mieux comprendre les relations complexes entre microbes et hôtes dans les milieux marins. De plus, plusieurs espèces produisent des métabolites bioactifs capables d'agir sur une large gamme d'organismes. Ces composés présentent un fort potentiel pour des applications en biotechnologie, pharmacologie et écologie marine (**Holmström et Kjelleberg, 1999**). Ainsi, *Pseudoalteromonas* est un groupe bactérien important, tant pour son rôle dans les interactions microbiennes que pour la découverte de nouvelles molécules bioactives.

### **I.1.5. *Roseobacter***

Les océans contiennent une très grande diversité de bactéries, mais la plupart des bactéries marines connues appartiennent à neuf clades principaux, dont certains n'ont pas encore été cultivés en laboratoire. Les études basées sur les gènes de l'ARN ribosomique 16S montrent que le clade *Roseobacter* est l'un des groupes les plus abondants. Il représente plus de 20 % du bactérioplancton dans les zones côtières et environ 15 % des bactéries dans la couche superficielle des océans (**Brinkhoff et al., 2004**).

Les bactéries du groupe *Roseobacter* sont présentes dans divers milieux marins, y compris les eaux côtières, le large océanique, la glace marine et les sédiments profonds. Contrairement à d'autres bactéries marines souvent difficiles à cultiver, elles peuvent être isolées et étudiées plus

## **Chapitre I : Biodiversité microbienne Du milieu marin**

---

facilement en laboratoire, ce qui facilite la recherche sur leur écologie et leur fonctionnement.

En plus de leur vaste répartition, certaines espèces de Roseobacter produisent des métabolites secondaires bioactifs. Ces substances présentent un intérêt important pour leurs propriétés antimicrobiennes. Certaines souches sont même explorées comme probiotiques ou antibiotiques naturels en aquaculture, pour renforcer la santé des organismes marins (**Brinkhoff *et al.*, 2004**).

### **I.1.6. Les Bacteroidetes**

Les bactéroïdes marins jouent un rôle essentiel dans la dégradation de la matière organique complexe, comme la cellulose et la chitine. On les trouve principalement dans des environnements riches en débris organiques, souvent associés aux proliférations de microalgues. Leur activité est importante pour le recyclage des nutriments dans les écosystèmes marins.

Ces bactéries sont connues pour leur capacité à se fixer sur des surfaces, qu'il s'agisse de particules en suspension ou de cellules d'algues. Cette adhésion leur permet d'exploiter efficacement les sources de matière organique autour d'elles. L'étude du génome de plusieurs espèces de Bacteroidetes a montré qu'elles possèdent des adaptations spécifiques à ce mode de vie (**Fernández *et al.*, 2013**).

Parmi ces adaptations, on trouve des protéines spécialisées dans l'adhésion ainsi qu'un mode de déplacement appelé "gliding motility" (déplacement par glissement). En plus, elles produisent de nombreuses enzymes comme des peptidases, des glycosides hydrolases, des glycosylases et des transférases. Ces enzymes leur permettent de dégrader des polymères organiques complexes et de libérer des nutriments essentiels pour d'autres organismes marins (**Klervi, 2016**).

### **I.1.7. Les algues marines**

Les algues sont des organismes aquatiques capables de produire leur propre matière organique grâce à la photosynthèse (**Rivard-Sirois, 2005**). Elles ne possèdent ni racines, ni tiges, ni feuilles, mais contiennent des pigments comme la chlorophylle. On les trouve principalement dans les milieux aquatiques, bien que certaines puissent aussi pousser sur le sol ou sur les arbres (**Michel, 2000**).

La classification des algues repose sur cinq critères : trois biochimiques (type de pigments photosynthétiques, nature des réserves de sucres et des structures de soutien) et deux morphologiques (type de flagelles et structure cellulaire spécifique) (**Memory, 2006**). Grâce à

## **Chapitre I : Biodiversité microbienne Du milieu marin**

---

ces critères, on peut distinguer de nombreuses formes d'algues, qui peuvent être unicellulaires, multicellulaires, filamenteuses, coloniales ou même formées d'amas de cellules. Les microalgues sont particulièrement diversifiées, avec une estimation allant de 200 000 à plus d'un million d'espèces. Elles sont utilisées depuis l'Antiquité, notamment par les Aztèques et certains peuples africains pour leurs propriétés nutritionnelles (**Renaud et al., 2011**).

Aujourd'hui, elles ont de nombreuses applications dans les domaines de la pharmacie, de la cosmétique, de l'alimentation, de l'agriculture et de l'énergie (**Jean Guézennec, 2014**). Leurs lipides, riches en oméga-3, ont des effets anti-inflammatoires et permettent de réduire le cholestérol. Par exemple, *Cryptocodinium cohnii* produit du DHA, tandis que *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum* produisent de l'EPA (**Renaud et al., 2011**).

Les algues marines sont aussi étudiées pour leurs propriétés médicinales. Elles contiennent des polysaccharides, des lipides et des métabolites bioactifs comme des composés phénoliques ou terpéniques (**Deslandes et al., 2000**). Ces substances peuvent avoir des effets antimicrobiens, antipaludiques, antioxydants, anti-inflammatoires, cytotoxiques et antiviraux (**Etahiri et al., 2007**).

### **I.1.8. Shewanella**

*Shewanella* est une bactérie en forme de bâtonnet, à Gram négatif et capable de se déplacer. On la trouve dans les milieux marins du monde entier, en particulier dans les eaux chaudes. Parmi les différentes espèces, *Shewanella algae* est considérée comme la principale responsable des rares infections humaines connues. Ces infections touchent surtout les personnes dont le système immunitaire est affaibli.

Cependant, ces cas restent peu nombreux. Comme les infections à *Shewanella* ne sont pas à déclaration obligatoire et que les tests spécifiques ne sont pas toujours réalisés, il est difficile de connaître le nombre exact de cas. On sait seulement qu'ils sont rares (**Huot, 2010**).

**Chapitre 2 :**  
**La Chimo-diversité Du milieu marin**

## Chapitre II : Chimo-diversité Du milieu marin

---

L'évolution de la vie marine est plus avancée que celle du milieu terrestre et se caractérise par des interactions biologiques complexes, telles que la prédation, la symbiose, le parasitisme et la compétition inter et intra-espèces. Ces interactions favorisent une diversité chimique exceptionnelle, distincte de celle des environnements terrestres. Cette richesse chimique s'explique par des conditions physico-chimiques particulières, comme la pression élevée des abysses, l'absence de lumière en profondeur, la variabilité de la salinité et la forte présence d'halogènes. Ces facteurs influencent la production de métabolites spécifiques aux organismes marins, contribuant ainsi à leur adaptation et à leur survie (**Campos, 2016**).

### II.1. La Chimo-diversité issue des microorganismes marins

Les champignons et bactéries marins produisent des métabolites secondaires aux propriétés antimicrobiennes, antivirales et immunosuppressives (**Pandey, 2019**). Associés à divers hôtes, ils jouent un rôle clé dans la synthèse de composés bioactifs, notamment chez les micro-organismes liés aux éponges (**El Amraoui et al., 2014**). Leurs substances peuvent agir sur plusieurs systèmes biologiques, dont le système nerveux et cardiovasculaire. Certaines provoquent des effets locaux (douleur, œdème, nécrose), révélant leur intérêt pharmacologique. Ces découvertes ouvrent la voie à de nouvelles applications médicales (**Bhakuni et Rawat, 2005**).

### II.2. Les enzymes extracellulaires sécrétées par des microorganismes marins

Les micro-organismes marins, encore largement inexplorés, constituent une source précieuse d'enzymes aux applications multiples (**Zhang et Kim, 2010**). Leur richesse génétique et biochimique attire un intérêt croissant, car leurs enzymes se distinguent par une stabilité et une activité supérieures à celles issues des plantes ou des animaux. Elles sont exploitées dans divers secteurs, notamment la production chimique, la bioconversion et la biorestauration, offrant ainsi un fort potentiel pour les industries (**Gopinath et al., 2017**). Des chercheurs ont réussi à isoler plusieurs enzymes uniques à partir de micro-organismes marins, dont certaines sont déjà utilisées à des fins industrielles. Leur potentiel s'étend également aux applications médicales, avec plusieurs enzymes ayant conduit au développement de candidats-médicaments prometteurs (**Zhang et Kim, 2010**).

Certaines régions des océans abritent des micro-organismes extrêmement acidophiles ou alcalophiles, capables de survivre dans des conditions de pH extrêmes, allant de pH 5 à en

## Chapitre II : Chimo-diversité Du milieu marin

---

dessous de pH 1, ou au-delà de pH 9. Ces micro-organismes produisent des enzymes extracellulaires adaptées à ces milieux, avec des enzymes acidophiles ayant un pH optimal autour de 3,0 et des enzymes alcalophiles fonctionnant au-delà de pH 9,0. Par rapport aux enzymes neutres, ces enzymes présentent une stabilité accrue dans des environnements extrêmes.

Ces dernières années, les chercheurs ont isolé diverses enzymes aux propriétés spécifiques à partir d'actéries, d'actinomycètes, de champignons et d'autres micro-organismes marins. Certaines de ces enzymes ont déjà été utilisées dans des applications industrielles, tandis que d'autres ont conduit au développement de candidats-médicaments prometteurs (**Zhang et Kim, 2010**).

### II.2.1. Protéase

Depuis l'isolement de la première protéase alcaline en 1960, les micro-organismes sont devenus une source clé pour leur production (**Greene, Ret al ., 1996**). En 1972, une nouvelle protéase a été découverte chez *Psychrobacter marin*, suivie par d'autres issues de micro-organismes marins. Certaines ont été testées comme additifs de nettoyage, notamment une protéase extraite d'une bactérie symbiotique d'un mollusque. En 2007, une levure des marais salants chinois a montré une forte production enzymatique. En 2009, *Bacillus mojavensis A21* a permis d'isoler deux protéases stables et compatibles avec divers détergents (**Hmidet, N et al., 2009**).

### II.2.2. Lipases

Les lipases sont très recherchées pour leurs applications industrielles dans les détergents, cosmétiques et l'alimentation. Appréciables pour leur stabilité et efficacité, elles sont des biocatalyseurs essentiels (**David, 1935**). Depuis leur première isolation en 1935, plusieurs lipases microbiennes ont été découvertes, dont certaines adaptées aux environnements froids, comme celles de *Moraxella* en Antarctique (**Feller, G et al., 1990**). Des levures marines productrices de lipases ont été découvertes, certaines ayant un fort potentiel industriel grâce à leur capacité à hydrolyser diverses huiles (**Wang, Let al., 2007**). En 2009, une phospholipase C spécifique à la phosphatidylcholine a été isolée d'un streptomycète marin, offrant de nouvelles perspectives en biotechnologie (**Mo, Set al., 2009**).

## Chapitre II : Chimo-diversité Du milieu marin

---

### II.2.3. Chitinase

Des chitinases ont été identifiées chez diverses bactéries marines, notamment *Vibrio spp* et *Aeromonas hydrophila*. De nombreux gènes codant pour ces enzymes ont été isolés à partir de bactéries et de champignons marins (Suolow et Jones, 1988). Deux gènes de chitinase ont été insérés dans *Escherichia coli*, puis transférés à *Pseudomonas*, aboutissant à des souches à forte production. Par ailleurs, l'introduction d'un gène de chitinase dans des cellules de tabac a conféré à la plante une résistance à *Alternaria longipes* (Roberts et Cabib, 1982).

### II.3. La biotechnologie marine

#### II.3.1 Définition de la biotechnologie marine

La biotechnologie marine consiste en la conception de produits et de procédés innovants à partir d'organismes marins en appliquant des approches issues de la biotechnologie, de la biologie moléculaire et cellulaire ainsi que de la bioinformatique. Ce domaine scientifique explore les ressources océaniques afin de développer de nouveaux médicaments, produits chimiques, enzymes et autres innovations. Il contribue également à l'amélioration de la sécurité en aquaculture et des produits de la mer, à la bio remédiation ainsi qu'à la production de biocarburants, entre autres applications (ThakurNI et AN thakur, 2006)

#### II.3.2. Application des microorganismes marins

L'exploitation des ressources marines s'est historiquement concentrée sur la pêche, la récolte d'organismes marins, la production de sel et la navigation. Aujourd'hui, face à la crise énergétique, l'océan devient une source essentielle d'énergie renouvelable (éolienne, marémotrice, vagues, thermique).

Parallèlement, les avancées scientifiques renforcent la valeur économique des ressources marines, notamment grâce aux biotechnologies bleues, qui trouvent des applications en cosmétologie, agroalimentaire, énergie et pharmacologie (Reporton, 2018). L'utilisation des bioressources marines pour des applications biotechnologiques offre un fort potentiel d'innovation et de croissance économique (Jean Guézennec, 2014). Dans un contexte de changement climatique et de pression croissante sur les ressources naturelles, les biotechnologies marines connaissent un regain d'intérêt grâce aux avancées en bioprocédés et à une meilleure compréhension de la biodiversité marine. Ces ressources constituent une matière première

## Chapitre II : Chimo-diversité Du milieu marin

durable pour des applications variées : nutrition, santé, agriculture, aquaculture, énergie, cosmétologie et environnement.

✓ Outre les métabolites secondaires, d'autres approches biotechnologiques exploitent les bactéries marines, notamment:

Une utilisation directe de leur métabolisme, considérant la bactérie comme une « usine cellulaire » grâce à ses actions enzymatiques.

✓ La production de biomolécules et de biopolymères, tels que les exopolysaccharides (EPS) et les polyhydroxyalcanoates (PHA), transformant la bactérie en une « usine de production » via des procédés de fermentation (Guézennec, 2005).

**Tableau 01** : Les applications majeures des organismes marins (Jean Guézennec, 2014).

Aperçu très général des applications majeures des organismes marins		
Domaines d'application	Organismes considérés	Exemples de molécules et produits
Cosmétologie Dermo-cosmétologie	Macro- et microalgues, cyanobactéries, bactéries, champignons, crustacés...	Peptides, exopolymères, enzymes, composés antimicrobiens, pigments...
Environnement	Macroalgues, microalgues cyanobactéries, bactéries, crustacés	Molécules <i>antifouling</i> et antibiofilm bioremédiation : biopolymères (PS, EPS, PHA, polyphosphates)...
Industrie pétrolière	Bactéries	Exopolymères, glycolipides, biosurfactants...
Agroalimentaire	Tous organismes	Enzymes, biopolymères, pigments...
Pharmacologie/Santé	Tous organismes	Principes actifs...

PS : polysaccharide ; EPS : exopolysaccharide ; PHA : polyhydroxyalcanoate

### II.3.2.1. Application antibiotique

Les peptides antimicrobiens (AMP) sont des alternatives prometteuses aux antibiotiques en aquaculture, sans résistance observée (Tincu et Swtayfor, 2004).

Les vaccins, comme l'Apex-IHN, ont amélioré la prévention des maladies chez le saumon (Dejessuayson, 2011 ; Muktar et B. Tefesay, 2017). De nombreux composés bioactifs (alcaloïdes, polycétides, peptides, etc.) ont été isolés de microorganismes marins. La souche *Marinispora NPS008920*, issue des sédiments de Guam, produit des oxazolidinones aux effets comparables au linézolide (Pandey, 2019). Une autre souche, *Pseudomonas putida Mm3*, isolée d'une éponge brésilienne, est active contre des bactéries multirésistantes (Marinho *et al.*, 2009).

## Chapitre II : Chimo-diversité Du milieu marin

Le champignon *Nigrospora sp.* montre une forte activité contre *Staphylococcus aureus* résistant. D'autres composés fongiques isolés de *Pseudallescheria sp.*, comme la gliotoxine, présentent aussi une action puissante (Kano *et al.*, 2008). L'OMS a classé plusieurs pathogènes résistants aux antibiotiques en niveaux de priorité, dont *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, et *Staphylococcus aureus* (Pinnaka *et Tanuku*, 2019). Ces découvertes confirment le potentiel des ressources marines dans la lutte contre la résistance bactérienne.

### II.3.2.2. Application anticancéreuse

Les micro-organismes marins constituent une source prometteuse de composés anticancéreux en plus des antibiotiques. La bactérie *Micromonospora sp* produit la thiocoraline, un depsipeptide capable d'inhiber l'ADN polymérase- $\alpha$  cellulaire, étudié en recherche préclinique pour son potentiel dans le traitement du cancer (Newman *et Cragg*, 2004). Un champignon non identifié de l'ordre des *Pleosporales* (souche CRIF2) synthétise divers composés ayant une activité cytotoxique modérée contre les cellules tumorales (Prachyawarakorn *et al.*, 2008). De plus, *Pestalotiopsis sp.* isolé des feuilles de *Rhizophora mucronata*, produit une chromone appelée pestalotiopsone, qui montre une activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses murines L5178Y (Xu J *et al.*, 2009).

Les dolastatines, une série de peptides et depsipeptide modifiés cytotoxiques, ont été initialement isolées de cyanobactéries symbiotiques du lièvre de mer *Dolabella auricularia*, prélevé dans l'océan Indien. Ces composés sont actuellement en essais cliniques en tant qu'agents anticancéreux (figure 1) (Lueschet *et al.*, 2012).

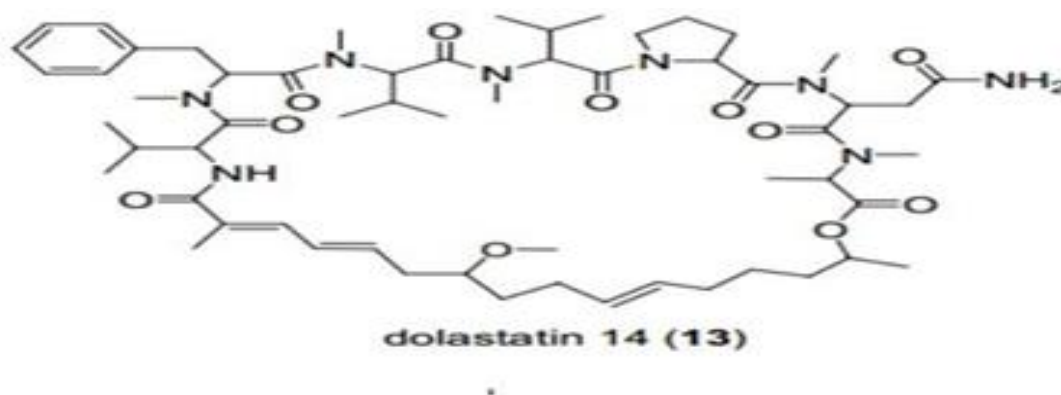


Figure 01 : La structure chimique de Dolastatine (Lueschet *et al.*, 2012).

## Chapitre II : Chimo-diversité Du milieu marin

---

### II.3.2.3. Application anti-diabétique

Le diabète est une maladie en forte progression dans le monde (**Pala et Mc Kumar, 2014**). Les traitements principaux incluent l'insuline et les médicaments oraux, mais leur usage prolongé entraîne des effets secondaires. Les produits naturels marins, riches en antioxydants, offrent une alternative prometteuse (**Unnikrishnan et Jayasri, 2018**).

Les champignons marins, comme *Cosmospora sp.* (SF-5060), produisent l'aquastatine A, un inhibiteur de la PTP1B impliqué dans la régulation de l'insuline (**Debbab et al., 2010**). *Penicillium sp.* (JF-55) synthétise la méthyléthylcétone, également inhibitrice de PTP1B. D'autres molécules marines, comme la penstyrylpyrone et la citromycétine, présentent une activité similaire (**Lee DS et al., 2013**). Leur bioactivité, encore peu explorée avant ce siècle (**De la Calle, 2009**), permet de réguler des enzymes impliquées dans le diabète de type 2 (**Hansen, 2002**). Enfin, des composés issus d'algues et de coraux, tels que la fucoxanthine et la dysidine, montrent un fort potentiel antidiabétique (**Debbab et al., 2010**).

**Tableau 02:** des micro-organismes testés et des composés possibles responsables  
Des propriétés anti-diabétiques (**Canneir. Jet al. 1987**).

Espèces	Activité testé
500 cyanobactéries d'eau douce et marines	Inhibition de $\alpha$ -glucosidase
Actinomycetes streptomyces corchorusii	Inhibition de $\alpha$ -amylase
Actinomycetes streptomyces sp	Inhibition de la N-acétyl-glucosaminidase

**Chapitre 3 :**  
**Les facteurs qui influencent La croissance**  
**Des souches marines.**

### **Chapitre III :Les facteurs qui influencent La croissance Des souches marines**

---

Les écosystèmes marins hébergent une biodiversité remarquable, comprenant aussi bien des micro-organismes tels que les bactéries et les algues unicellulaires que des organismes plus complexes comme les poissons, crustacés et mollusques. Parmi cette richesse biologique, les souches marines désignent des populations spécifiques d'espèces qui sont cultivées ou étudiées pour leurs propriétés écologiques, économiques ou biotechnologiques. Le développement de ces souches est étroitement lié à divers facteurs environnementaux. Des paramètres tels que la température de l'eau, la salinité, la pression hydrostatique, le pH, ainsi que la concentration en oxygène dissous, influencent directement leur croissance. À cela s'ajoutent des facteurs nutritifs, notamment la disponibilité des sources d'énergie, de carbone, d'azote, ainsi que de microéléments essentiels. Comprendre l'impact de l'ensemble de ces éléments est essentiel pour analyser la dynamique des environnements marins et promouvoir une gestion durable des ressources qu'ils abritent.

#### **III.1. Les facteurs qui influencent la croissance des souches marines**

La croissance des souches marines (comme les algues, les poissons, les mollusques, les crustacés, ou même les bactéries marines) peut être influencée par plusieurs facteurs. Voici les principaux :

**III.1.1. Salinité de l'eau:** La salinité correspond à la concentration en sels dissous et influence directement la répartition et le métabolisme des micro-organismes marins. Elle varie selon les milieux aquatiques, impactant les espèces selon leur tolérance : halophiles, halotolérants et non-halins (**Cahoon, 1999**). Dans les zones côtières, les variations de salinité sont accentuées par le changement climatique, affectant fortement certains organismes. Par exemple, la diatomée *Cylindrotheca closterium* montre une tolérance encore peu étudiée. La salinité est donc un facteur clé de la biodiversité marine, en particulier dans les estuaires. Ces variations peuvent perturber le métabolisme des algues, bien que les algues vertes y soient plus résistantes (**Brand, 1984**).

**III.1.2. Température:** elle est un facteur majeur en microbiologie aquatique, influençant la répartition des bactéries bioluminescentes. En Californie, leur abondance est maximale au printemps et minimale en hiver (Ruby et Neilson, 1978). Elle agit aussi sur l'activité enzymatique, comme la luciférase de *P. phosphoreum*, inactive à 35 °C et présente en eaux froides (Ruby et al., 1980). En Méditerranée, *P. fischeri* se développe à 10 °C, alors que *V. harveyi* croît à 40 °C (Shilo et Yetinson, 1979). *P. phosphoreum* apparaît avec la baisse de

### Chapitre III : Les facteurs qui influencent La croissance Des souches marines

---

température en mer du Nord et dans le Pacifique (Ruby et Neilson, 1978). De même, *V. harveyi* diminue en hiver et augmente au printemps dans l'Atlantique Nord (Ruby et al., 1980).

**III.1.3. Le pH:** Le pH marin reflète la tolérance des micro-organismes classés en neutrophiles, acidophiles ou alcaliphiles (Skirrow, 1965). Il varie entre 7,5 et 8,5 grâce à un effet tampon dû aux ions et aux carbonates (Wetzel, 1983), et augmente sous l'effet de la photosynthèse, comme en mer de Beaufort. Les estuaires restent stables malgré les apports d'eau douce (Nijman et Swain, 1990). Les perturbations anthropiques proviennent de l'industrie, du trafic ou du drainage minier (McNeely et coll., 1979), affectant plusieurs espèces : *Penaeus monodon*, *Octopus dofleini*, ou certains bivalves (Bamber, 1987). Le faible pH réduit aussi la photosynthèse des zostères et macroalgues. Il influence la toxicité de l'ammoniac et la solubilité des métaux (Drever, 1988). Des normes limitent les variations à 0,2 unité pour protéger les espèces sensibles (State of Alaska, 1989 ; McKean et Nagpal, 1991).

**III .1.4. Pression hydrostatique :** La pression est un facteur essentiel pour la répartition des organismes marins profonds (Yayanos, 1995), augmentant de 0,1 MPa tous les 10 m jusqu'à 115 MPa dans des zones comme la fosse des Mariannes (Kato et al., 1998). Les piezophiles, mieux adaptés que les espèces de surface, appartiennent souvent aux genres *Colwellia*, *Moritella*, *Photobacterium*, *Shewanella*, et *Psychromonas* (Kato et al., 1995). L'un des mécanismes d'adaptation repose sur la modification des acides gras membranaires, notamment l'augmentation des insaturés sous pression (Kamimura et al., 1992) et des phosphatidylglycérols (Mangelsdorf et al., 2005). Chez *P. profundum* SS9, ces ajustements sont accentués en conditions extrêmes (Allen et al., 1999). La pression influence aussi la bioluminescence, l'augmentant à haute température mais l'inhibant à basse (Strehler et Johnson, 1954). La luciférase d'*A. fisheri* est plus sensible que *P. phosphoreum*, dont l'intensité lumineuse diminue au-delà de 22 °C (Johnson et al., 1977), avec des réponses variables selon la température (Ueda et al., 1994).

**III .1.5. La teneur en oxygène :** L'oxygène est l'accepteur d'électrons le plus favorable en milieu marin, mais sa faible concentration limite sa diffusion dans les sédiments (**Fenchel et al., 1998**). Ainsi, la dégradation du carbone y repose souvent sur des voies anaérobies utilisant d'autres accepteurs comme les nitrates ou les sulfates. La méthanogenèse peut aussi intervenir en absence totale d'oxydants. La consommation d'O<sub>2</sub> résulte à la fois de l'activité aérobie et de la réoxydation des composés réduits. Des tapis microbiens, comme ceux de *Beggiatoa*,

### Chapitre III : Les facteurs qui influencent La croissance Des souches marines

---

utilisent jusqu'à 90 % de l'O<sub>2</sub> pour oxyder les sulfures (**Jørgensen et Revsbech, 1983**). Les besoins en O<sub>2</sub> varient : les aérobies strictes nécessitent  $\geq 2$  mg/L, les anaérobies strictes le tolèrent mal, et les microaérophiles préfèrent des concentrations faibles. *Vibrio* et *Pseudoalteromonas* se développent bien entre 3 et 6 mg/L (**Jørgensen et Revsbech, 1983**).

**III.1.6. Source d'énergie** : Les souches marines montrent une grande flexibilité énergétique selon leur environnement : certaines sont chimioorganotrophes, d'autres chimiolithotrophes, exploitant H<sub>2</sub>S, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Fe<sup>2+</sup> ou CH<sub>4</sub>. Les phototrophes comme *Prochlorococcus* et *Synechococcus* utilisent la lumière pour la photosynthèse. Certaines bactéries marines peuvent oxyder le CO, un processus bien documenté dans les communautés océaniques (Conrad et Seiler, 1980), notamment chez les Rhodobacteraceae (Cordero et al., 2019). Cette capacité pourrait favoriser leur survie en période de pénurie de carbone organique. La dégradation du CO est induite en condition de famine (Eichner et al., 2019). Quant à l'H<sub>2</sub>, bien que des hydrogénases soient détectées, son utilisation par les bactéries pélagiques reste à confirmer (Cordero et al., 2019). *Trichodesmium* oxyde l'H<sub>2</sub> via un recyclage interne lié à la nitrogénase (Eichner et al., 2019).

**III.1.7. Source de carbone** : Les souches marines exploitent diverses sources de carbone selon leur type : les photoautotrophes fixent le CO<sub>2</sub> par photosynthèse, les chimiolithoautotrophes utilisent des composés inorganiques dans les zones obscures, et les hétérotrophes, comme *Vibrio* et *Pseudoalteromonas*, consomment du carbone organique dissous. Les mixotrophes combinent ces stratégies selon les conditions. Cette flexibilité métabolique permet une grande adaptabilité aux changements de l'environnement. Les micro-organismes marins jouent un rôle clé dans la séquestration du carbone via la pompe biologique, la pompe microbienne et la précipitation carbonatée. L'océan est un acteur majeur du cycle global du carbone et de la réduction du méthane. Les macrophytes marins, tels que les herbiers et les macroalgues, participent aussi au cycle des éléments nutritifs (**Egan et al., 2013**).

**III.1.8. Source d'azote** : L'azote est un élément clé du fonctionnement des écosystèmes marins et du climat, via ses liens avec le cycle du carbone (**Gruber, 2008**). Sa disponibilité limite souvent la productivité biologique et influence l'efficacité de la pompe biologique océanique (**Falkowski, 1997**). Présent sous plusieurs formes oxydées ou réduites, il joue un rôle central dans les réactions rédox marines. Les micro-organismes modulent ces formes par des processus tels que la fixation biologique, la dénitrification et l'anammox. Ils utilisent des sources d'azote variées, inorganiques (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>) ou organiques (urée, peptides,

### **Chapitre III :Les facteurs qui influencent La croissance Des souches marines**

---

amines). L'ammonium, facilement assimilable, est préféré, tandis que d'autres formes nécessitent des enzymes spécifiques. En milieux oligotrophes, les bactéries privilégient les sources simples, contrairement aux environnements eutrophes plus riches (**Gruber et Galloway, 2008**).

**Partie 2 :**  
**Etude Expérimentale**

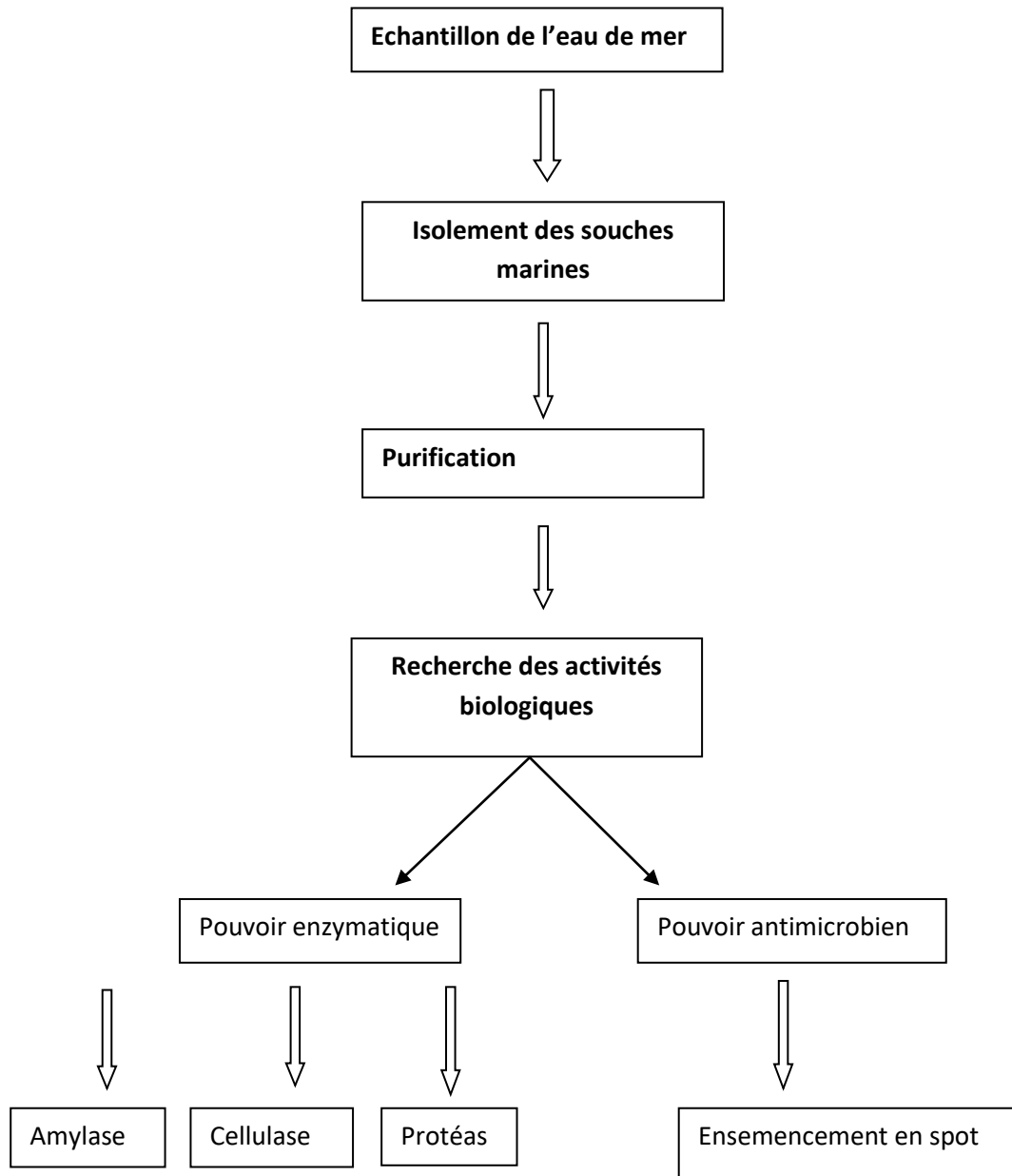
**ChapitreIV : Matériels et**  
**Méthodes**

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

---

### Présentation de travail

Ce travail de recherche a été mené du 28 janvier au 12 mai 2025 au sein des laboratoires pédagogiques de la Faculté des Sciences et de la Technologie, département de Biologie, à l'Université Belhadj Bouchaïb d'Ain Témouchent.



**Figure 02:** Schéma du protocole expérimental mis en œuvre dans le cadre de notre étude.

## **Chapitre IV : Matériel et Méthodes**

---

### **IV.1. Prélèvement et échantillonnage**

#### **IV .1.1.Zone de prélèvement**

Dans le cadre de cette étude, des échantillons d'eau de mer ont été prélevés sur deux sites côtiers situés respectivement dans les wilayas d'Aïn Témouchent (Béni Saf) et de Tlemcen (Honaine). Ces opérations avaient pour objectif d'évaluer la diversité microbienne marine locale en tenant compte des spécificités environnementales de chaque site, et d'analyser l'éventuelle variation de la composition microbienne en fonction de la profondeur de la colonne d'eau.

##### **IV.1.1.1. Prélèvements à Béni Saf (Aïn Témouchent)**

Le site de Béni Saf a nécessité l'application d'un protocole d'échantillonnage plus technique, en raison de son accès en mer et de l'objectif de recueillir des échantillons à différentes profondeurs. Les prélèvements ont été effectués à bord d'une embarcation grâce à une bouteille Niskin, un appareil standardisé en océanographie pour les prélèvements à profondeur contrôlée. Cette méthode permet d'éviter toute contamination externe, en capturant l'eau de mer à des niveaux bien définis à l'aide d'un système de fermeture étanche activé par un messenger.

Trois profondeurs ont été ciblées : 2 mètres, 5 mètres et 13 mètres. Ce choix visait à observer d'éventuelles différences dans la composition microbienne selon la stratification de la colonne d'eau, influencée par des facteurs tels que la lumière, la température, l'oxygène dissous et les nutriments. Les échantillons ont ensuite été transférés dans des flacons stériles, soigneusement étiquetés, et placés dans une glacière à 4 °C pour garantir la conservation des micro-organismes avant leur traitement en laboratoire.

Il est important de souligner que cette opération a été rendue possible grâce à la collaboration active de l'aquarium de Béni Saf. Le soutien logistique apporté par son directeur a joué un rôle déterminant dans le bon déroulement du travail de terrain, notamment pour la mise à disposition du matériel nautique et l'assistance lors des manœuvres de prélèvement en mer.

##### **IV.1.1.2. Prélèvements à Honaine (Tlemcen)**

Sur le second site, situé à Honaine, les échantillons ont été collectés de manière plus simple, directement depuis le littoral, au niveau de la zone intertidale. Les prélèvements ont été réalisés à l'aide de flacons stériles en plastique. Cette méthode, bien que plus rudimentaire, s'est révélée

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

adaptée aux conditions locales et suffisante pour recueillir des échantillons microbiens représentatifs de la surface marine.

Les prélèvements à Honaine ont été réalisés sous la supervision de mon encadrant de recherche, dans des conditions soigneusement contrôlées, en veillant à limiter au maximum toute source de contamination. Comme pour ceux de Béni Saf, les échantillons ont été conservés au froid dans des conditions stériles jusqu'à leur arrivée au laboratoire, afin de préserver leur intégrité microbiologique.

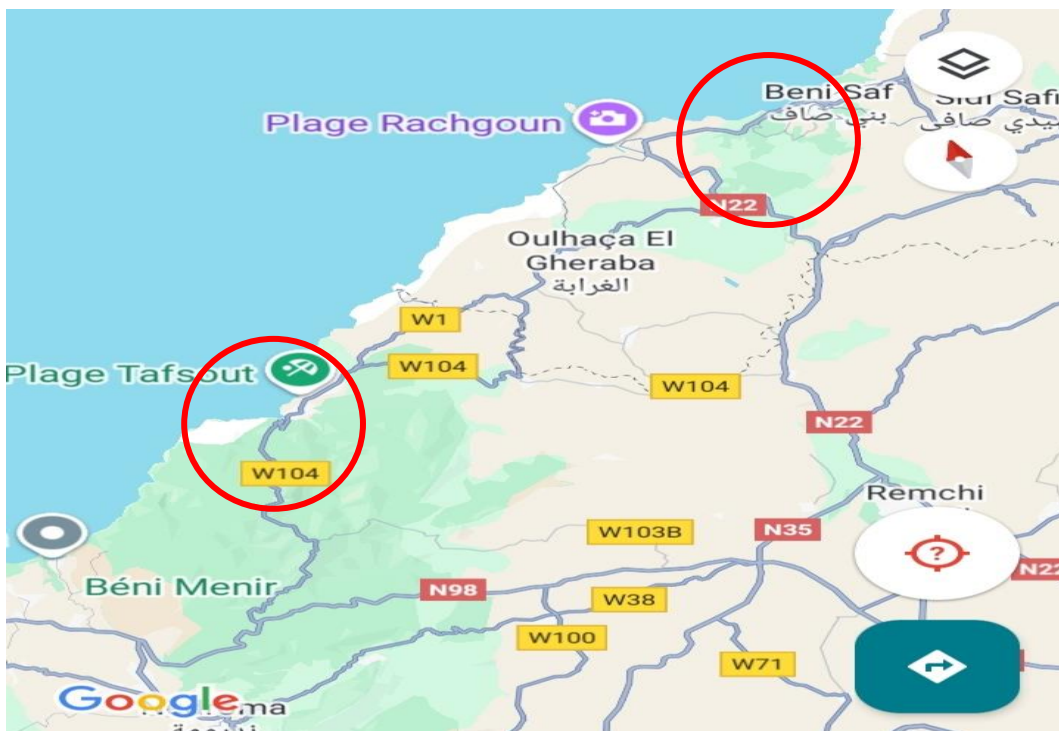


Figure 03 : La localisation de région de Honaine et Béni Saf.



M1

M2

M3

M4

M2 M4 : *Anemonia viridis*

M1 M3 : Algue brun du genre *Padina*

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Figure 04: Echantillons collectés de l'eau de mer (Honaine, Tlemcen).



Figure 5 : Présentation de la bouteille Niskin employée pour le prélèvement d'échantillons d'eau de mer.

### IV.2. Isolement

#### IV.2.1. Préparation des dilutions

Dans des tubes stériles, des échantillons de 1 ml de M1 et M2, M3, M4 et 1 ml d'eau de mer ont été respectivement introduites dans 9 ml de l'eau physiologique. Par la suite, des dilutions décimales successives (solution mère,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) ont été réalisées à partir de ces préparations initiales.

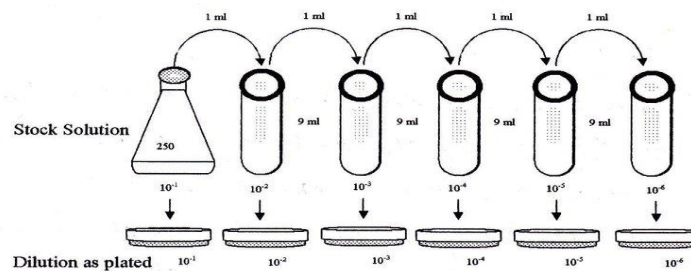


Figure 6: Préparation des dilutions.

#### IV.2.2. Ensemencement et purification

Pour isoler les différents microorganismes marins, les dilutions appropriées de (solution mère,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) de divers échantillons : M1 et M2, M3, M4, M5 ont été ensemencées sur une gélose pour favoriser la croissance des bactéries marines. De chaque dilution, un volume de 0,1 ml a été prélevé par une micropipette puis étalé sur la surface des boîtes de Pétri contenant la gélose à l'aide d'un râtelier stérile. Les boîtes ensemencées ont été incubées à une température de 30°C pendant 24 à 48 heures.

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

---

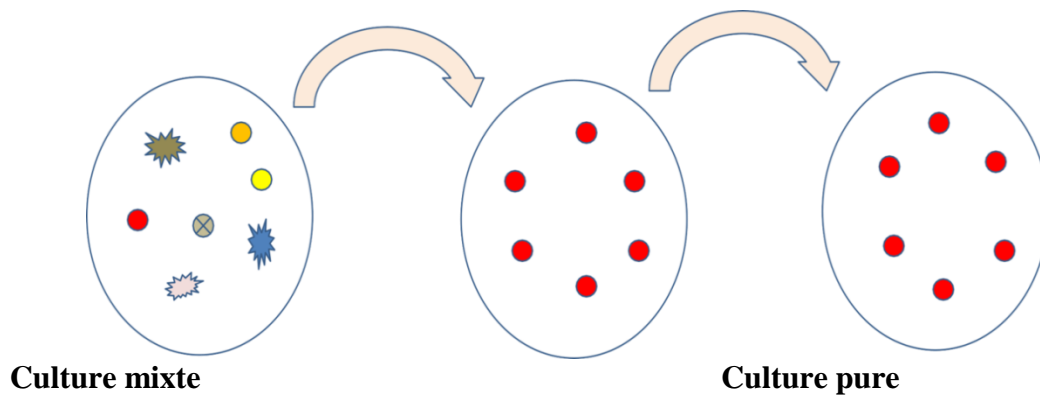


Figure 7: Les étapes de purification.

### IV.2.3. Le choix de milieu de culture

Trois types de milieux de culture Gélose nutritive GN, Gélose Marine GM et Gélose de l'eau de mer SWA ont été préparés pour l'isolement des différents microorganismes marins dont la composition de chaque milieu a été décrite sur l'annexe :

**SWA :** Le Sea Water Agar est un milieu de culture principalement utilisé pour l'isolement et la croissance de micro-organismes marins, qui nécessitent un environnement salin pour se développer. Ce milieu a pour objectif de reproduire les conditions naturelles de l'eau de mer.

Pour préparer un litre de ce milieu, on utilise en général 750 ml d'eau de mer naturelle, complétés par 250 ml d'eau distillée. À cette base liquide, on ajoute 10 g de peptone et 10 g d'extrait de levure (yeastextract) en tant que sources nutritives. La solidification est assurée par l'ajout de 21 g d'agar-agar. Enfin, le pH est ajusté autour de 6,6, afin de mimer au mieux les conditions marines naturelles.

### IV.3. Identification des souches marines isolées

#### IV.3.1. L'aspect microscopique :

La coloration de Gram est une méthode fondamentale permettant de distinguer les bactéries en fonction de la structure de leur paroi cellulaire. Elle différencie les bactéries à Gram positif, qui apparaissent violettes, des bactéries à Gram négatif, qui prennent une teinte rose, grâce à une série d'étapes de coloration. Cette technique permet également d'observer la morphologie bactérienne, notamment la forme, la taille et la disposition des cellules. L'observation des souches marines a été réalisée au microscope optique, afin de décrire leur aspect microscopique. Pour cela, un protocole précis de coloration de Gram a été suivi, débutant par la préparation d'un frottis bactérien sur une lame propre, puis une fixation par

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

---

passage rapide à la flamme d'un bec Bunsen. La coloration s'est déroulée en plusieurs étapes :

1. **Coloration au violet de gentiane** pendant une minute, suivie d'un rinçage à l'eau du robinet.
2. **Application de la solution de Lugol** (iode) pendant une minute, puis nouveau rinçage.
3. **Décoloration à l'éthanol**, étape cruciale pour différencier les bactéries selon la perméabilité de leur paroi.
4. **Contre-coloration à la fuchsine** pendant une minute, suivie d'un rinçage final et d'un séchage délicat entre deux feuilles de papier absorbant.

À l'issue de ces étapes, les bactéries à Gram positif retiennent la coloration violette du violet de gentiane, tandis que les bactéries à Gram négatif apparaissent roses grâce à la fuchsine.

### IV.3.2. Testes biochimiques

#### IV.3.2.1. Test de catalase

Les catalases sont des enzymes dont la fonction principale est la décomposition du peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau. Ces enzymes, présentes dans pratiquement tous les organismes aérobies.

Catalase



**\*Préparation de milieu :** Une goutte de peroxyde d'hydrogène a été déposée sur une lame sèche. Une colonie de la souche bactérienne marine est ensuite homogénéisée dans cette goutte à l'aide d'une anse de platine stérile. La formation de bulles indique la présence d'une activité catalasique. Ce test permet de détecter la capacité de la souche à dégrader le  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

**\*Lecture des résultats :**

❖ (Test positif) : lorsque l'on observe une effervescence immédiate, c'est-à-dire une formation rapide de bulles d'oxygène après le contact de la souche marine avec le peroxyde d'hydrogène. Cette réaction indique la dégradation enzymatique du  $\text{H}_2\text{O}_2$  par la catalase produite par la bactérie marine.

❖ (Test négatif) : lorsqu'aucune effervescence ou formation de bulles n'est observée après l'ajout de peroxyde d'hydrogène sur la souche marine. Cela signifie que la bactérie ne produit pas de catalase ou en produit en quantité insuffisante pour décomposer le  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

### IV.3.2.2. Test d'oxydase

L'oxydase est une enzyme qui transfère des électrons à l'oxygène, produisant de l'eau ou du peroxyde d'hydrogène, et joue un rôle clé dans la respiration aérobie. Elle fait partie de la chaîne respiratoire, notamment via les cytochromes. Cette enzyme sert également de marqueur pour identifier certaines bactéries aérobies.

**\*Préparation de milieu :** Une petite portion de la culture marine a été prélevée à l'aide d'une anse stérile, puis déposée sur un disque de test imprégné de réactive oxydase. Ensuite, quelques gouttes de réactive oxydase ont été ajoutées sur la culture.

**\*Lecture des résultats :**

- ❖ Test positif : Apparition d'une couleur bleu-violet indiquant la présence d'oxydase.
- ❖ Test négatif : Absence de changement de couleur, suggérant l'absence d'activité oxydase.

### IV.3.2.3. Recherche du profil biochimique à l'aide de la galerie API®20E

L'API 20 E est un système standardisé utilisé pour identifier les Entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif. Il se compose de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, permettant la réalisation de divers tests biochimiques.

Pour la préparation de la galerie API 20 E, 5 ml d'eau stérile ont été ajoutés dans la partie inférieure de la boîte afin de maintenir une atmosphère humide. À l'aide d'une micropipette, les tubes et cupules des tests CIT, VP et GEL ont été remplis avec la suspension bactérienne marine préalablement préparée. Les cupules des tests ADH, LDC, ODC, URE et H<sub>2</sub>S ont ensuite été recouvertes d'huile de paraffine stérile pour créer des conditions anaérobies.

Une fois la préparation terminée, la galerie a été refermée puis incubée à 30°C pendant 24 h. La lecture des résultats a été effectuée à l'aide d'un tableau de lecture, et l'identification bactérienne a été réalisée soit à partir d'un tableau d'identification, soit à l'aide d'un logiciel dédié.



Figure 8 : la galerie API20E.

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

---

### IV.4. Criblage des souches à activité biologique

Le criblage des souches constitue une étape clé dans la sélection de micro-organismes marins présentant un intérêt particulier. Il permet d'identifier, parmi les souches isolées, celles qui possèdent des propriétés spécifiques, comme la production d'enzymes telles que les amylases (dégradation de l'amidon), les cellulases (dégradation de la cellulose) ou les protéases (hydrolyse des protéines). Certaines souches peuvent également présenter une activité antibactérienne. Ce processus permet ainsi de repérer les micro-organismes les plus prometteurs pour des applications en biotechnologie, en pharmacie ou dans le domaine de l'environnement.

#### IV.4.1. Recherche du pouvoir enzymatique

##### IV.4.1.1. Recherche du pouvoir amylolytique:

Plusieurs étapes ont été mises en place pour évaluer l'activité amylolytique d'une souche marine.

- **Préparation du milieu :** Un milieu de culture spécifique a été préparé en ajoutant 1 % d'amidon au milieu LB, formant ainsi une gélose à l'amidon. Ce mélange a ensuite été stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 21 minutes. Ce milieu fournit une source d'amidon comme substrat, permettant aux micro-organismes marins de produire de l'amylase.
- **Ensemencement et incubation :** L'ensemencement a été réalisé sur des boîtes de Pétri contenant la gélose à l'amidon. Les souches purifiées ont été déposées à la surface du milieu de culture par la méthode des spots, à l'aide d'une pipette Pasteur. L'incubation a ensuite été effectuée à 30 °C pendant 24 h, dans des conditions favorables à l'activité bactérienne.
- **Lecture des résultats :** L'activité amylolytique a été mise en évidence en inondant la boîte de Pétri avec du lugol pendant une minute, puis en rinçant avec de l'eau distillée.
- ❖ **En cas de présence d'amylase,** une zone claire apparaît autour des colonies sur la gélose, indiquant la dégradation de l'amidon. Cette réaction confirme l'activité amylolytique des souches marines.
- ❖ **En cas d'absence d'amylase,** aucune zone claire ne se forme autour des colonies, ce qui indique que l'amidon n'a pas été dégradé. Cela signifie que la souche testée ne produit pas d'amylase ou présente une activité amylolytique insuffisante.

##### IV.4.1.2. Recherche du pouvoir cellulolytique:

Cette étape permet de détecter l'activité cellulolytique des micro-organismes marins à l'aide d'un test de coloration au Lugol.

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes

---

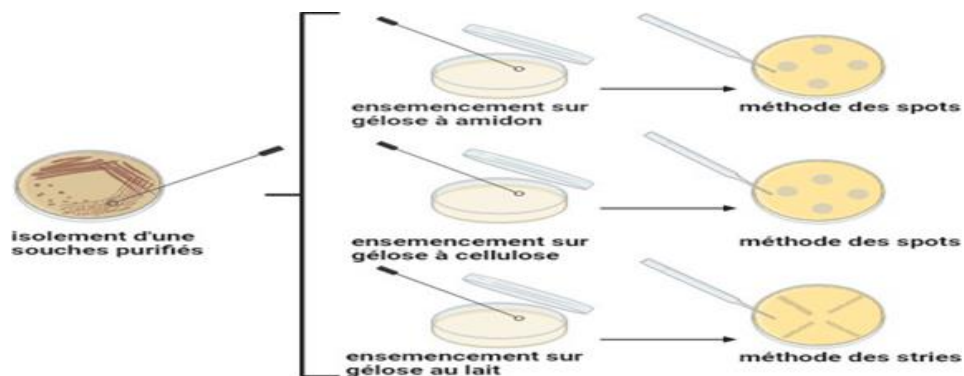
- **Préparation de milieu :** Ce milieu (gélose à la cellulose) a été préparé de la même manière que la gélose à l'amidon, en suivant les mêmes étapes, à la différence près qu'il est basé sur de la cellulose au lieu de l'amidon.
- **Ensemencement et incubation :** L'ensemencement a été effectué à la surface du milieu à l'aide de la méthode des spots, en utilisant une pipette Pasteur. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 30°C pendant 24 heures.
- **Lecture des résultats :** Après l'incubation, les boîtes de Pétri ont été examinées en inondant leur surface avec du Lugol pendant 1 minute, suivi d'un rinçage à l'eau distillée. Cela a permis de détecter la capacité des souches marines à dégrader la cellulose.
- ❖ **En cas de cellulase positive,** un changement de couleur a été observé lors de la lecture. La cellulose, imprégnée du réactif, gonfle et devient bleu intense. Ce changement de couleur indique la capacité de la souche marine à produire de la cellulase.
- ❖ **En cas de cellulase négatif,** aucune modification de couleur n'est observée autour des colonies, ce qui indique que la cellulose n'a pas été dégradée et que la souche ne produit pas de cellulase.

### IV.4.1.3. Recherche du pouvoir protéolytique

Le processus de dégradation des protéines par les micro-organismes marins est appelé activité protéolytique. Cette activité est souvent étudiée de la manière suivante :

- **Préparation de milieu :** Une gélose au lait a été préparée en ajoutant 2 ml de lait écrémé UHT, préalablement chauffé au bain-marie pendant 15 minutes, à 100 ml de gélose LB en surfusion. Le mélange a été réalisé dans des conditions aseptiques, puis versé dans des boîtes de Pétri.
- **Ensemencement et incubation :** Les mêmes souches purifiées ont été ensemencées à la surface de ce milieu gélosé à l'aide de la méthode des stries. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 30 °C pendant 24 h.
- **Lecture des résultats :**
  - ❖ (Test positif) : La lecture des résultats a été réalisée directement afin de détecter l'activité protéolytique des micro-organismes marins. La présence d'un halo clair autour des colonies indique l'hydrolyse des protéines, témoignant ainsi de la production de protéases par la souche.
  - ❖ (Test négatif) : En l'absence de protéases, aucun halo clair n'est observé autour des colonies. Cela indique que la souche ne possède pas d'activité protéolytique, c'est-à-dire qu'elle est incapable d'hydrolyser les protéines du milieu.

## Chapitre IV : Matériel et Méthodes



**Figure 9:** Les étapes d'étude de pouvoir enzymatique (amidon; cellulose ;protéase) des souches marines.

### IV.4.2. Recherche du pouvoir antimicrobien des isolats

Les souches marines peuvent produire diverses substances ayant un effet antimicrobien, notamment des antibiotiques. L'activité antimicrobienne peut être mise en évidence par la diffusion de ces molécules sur un milieu gélosé, entraînant une inhibition de la croissance d'autres micro-organismes. Ainsi, les souches obtenues après le criblage ont été sélectionnées et testées contre cinq souches pathogènes.

- *Enterococcus faecalis*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Staphylococcus aureus*
- *E. coli*
- *Pseudomonas Aeruginosa*.

Dans un tube stérile, une colonie a été prélevée à l'aide d'une anse de platine, puis suspendue dans de l'eau physiologique avec agitation afin d'obtenir une suspension bactérienne homogène. Cette suspension a ensuite été ensemencée sur une (MHA). L'activité antibactérienne a été évaluée à l'aide d'une seule méthode :

#### IV.4.2.1. L'ensemencement en spot

Il s'agit d'un dépôt en spots des pré-cultures des souches obtenues sur la gélose Mueller-Hinton, préalablement ensemencée avec les souches pathogènes. Après dépôt, les

## **Chapitre IV : Matériel et Méthodes**

---

boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h. Chaque spot a ainsi été testé pour son activité antibactérienne sur le milieu gélosé.

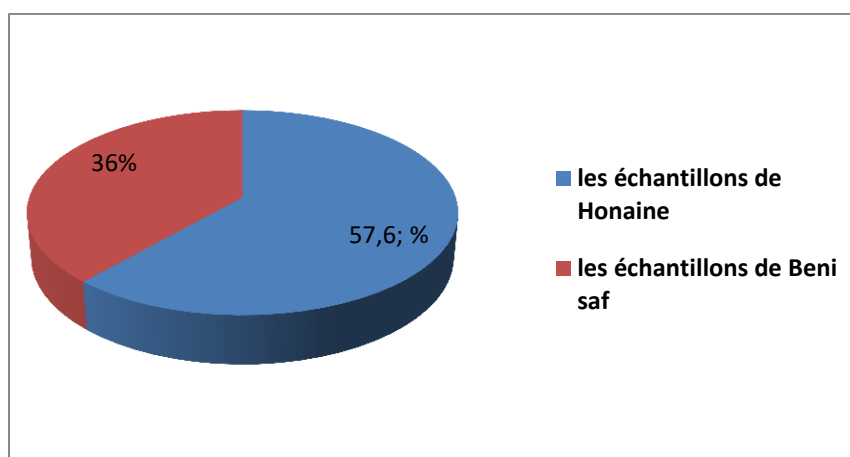
# **Chapitre V : Résultats et Discussions**

### V.1. Isolement des souches marines

Dans cette étude, les souches isolées proviennent de deux échantillons d'eau de mer distincts :

- Le premier prélevé à partir des eaux de mer de la région de Honaine.
- Le second, provenant de la cote de Beni Saf, collecté à différentes profondeurs (2m, 5m et 13m).

Les solutions mères ont été préparées à partir de ces échantillons, respectivement pour chaque site. Ensuite, des dilutions décimales successives ( $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ) ont été réalisées et utilisées pour l'isolement des bactéries marines. Ce procédé a permis d'isoler 16 souches aux caractéristiques macroscopiques variées à Honaine, et 10 souches dans la région de Beni Saf. Ce procédé a permis d'isoler 16 souches aux caractéristiques macroscopiques variées à Honaine, et 10 souches dans la région de Beni Saf.



**Figure 10:** Nombre des souches bactériennes isolées à partir des eaux de mer de la région de Honaine et de Beni-Saf.

Selon les résultats obtenus lors de l'isolement des souches bactériennes, un taux d'isolement de 57,6 % a été observé dans les échantillons prélevés sur le site de Honaine, ce qui représente une valeur nettement supérieure à celle enregistrée dans les échantillons issus du site de Beni Saf, où le taux d'isolement atteint 36 %. Cette différence significative pourrait refléter des variations locales des conditions environnementales (telles que la salinité, la charge en nutriments, ou le degré de pollution), qui influencent directement la composition et l'abondance des communautés bactériennes présentes dans ces écosystèmes côtiers

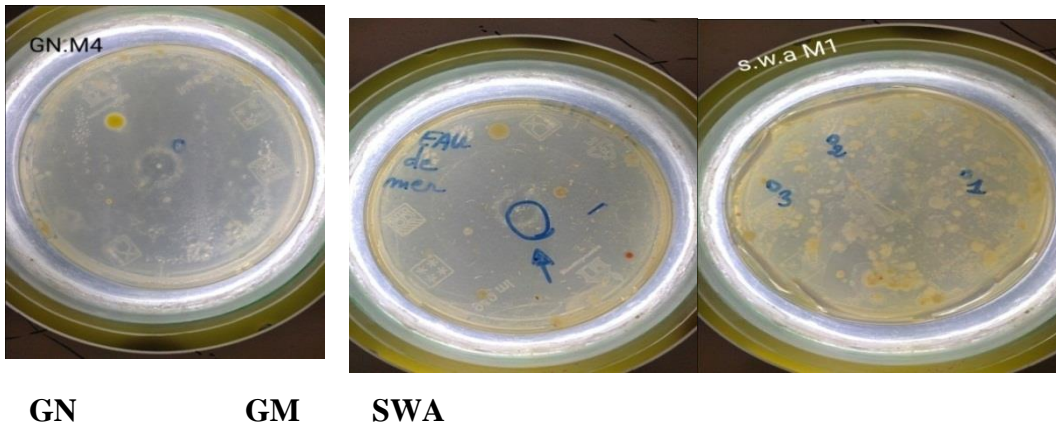


Figure 11: résultats d'isollements des échantillons de Honaine.

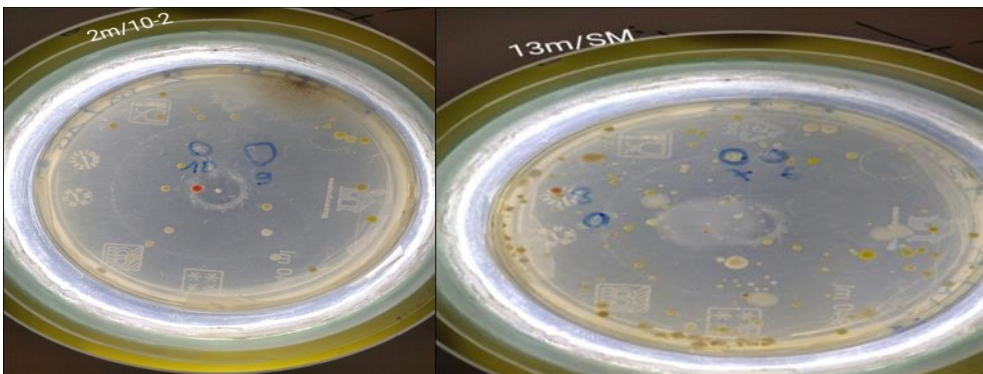


Figure 12: Résultats d'isolement des échantillons de Beni Saf

La figure 11 illustre les résultats de l'isolement des échantillons d'eau de mer de Honaine, ensemencés sur les milieux GN, GM et SWA, après 24 heures d'incubation à 32 °C.

La figure 12 illustre les résultats de l'isolement des échantillons d'eau de mer de Beni Saf, ensemencés sur gélose de l'eau de mer, après 24 heures d'incubation à 30 °C.

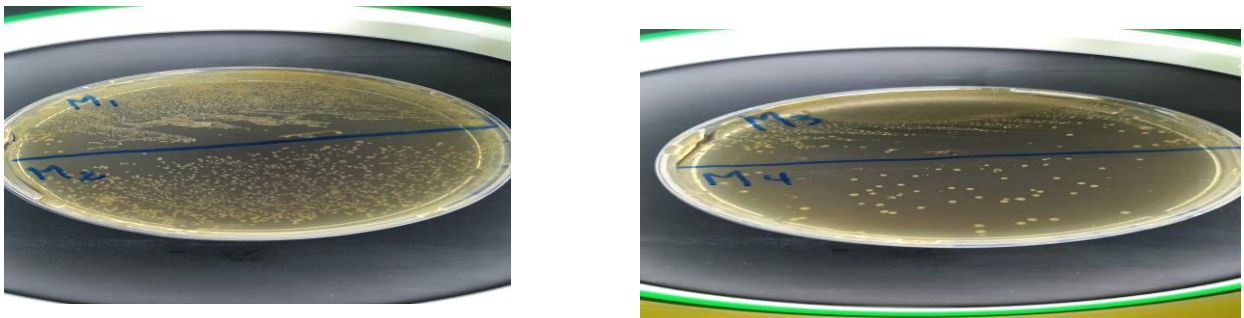
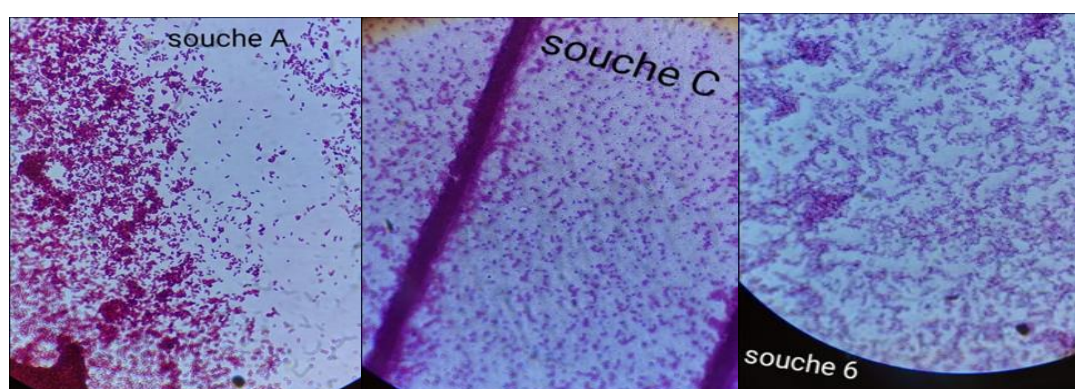


Figure 13: Aspect macroscopique de quelques colonies du l'eau de mer de Beni-Saf.

## V.2. Identification des souches bactérienne sélectionnées

### V.2.1. Aspect microscopique des colonies

L'examen microscopique nous aide à observer la forme, la taille, le groupe de et le mode de regroupement est représenter soit en amas, en chainettes, ou même isolées. La plupart des bactéries isolées observées ont présenté une paroi à Gram positif, elles ont des formes des bacilles. Le tableau 3 présent l'observation microscopique de trois bactéries.



**Figure 14:** L'observation microscopique de trois souches

**Tableau 3 :** coloration de gram de deux régions.

Les souches	Gram	Forme
A	-	Bacille
C	-	Bacille
6	-	Bacille

### V.2.2. La galerie API 20 E

Le système API 20E est une version miniaturisée des tests biochimiques traditionnels, utilisée pour l'identification des Entérobactéries. Après 24 heures d'incubation, la lecture des résultats s'effectue en se référant au tableau de lecture. L'interprétation des réactions observées, basée sur l'utilisation des substrats par la bactérie, permet d'obtenir un code numérique à 7 chiffres facilitant son identification.



Figure 15 : résultats de la galerie api.

Tableau 4: résultats des souches C et 6 par la galerie api 20E.

Souche	ONPG	Adh	Lcd	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TD	IND	VP	GE	GLU	M	IN	SO	RH	SA	M	A	AR
<b>C</b>	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+
<b>6</b>	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-		+	-	+	+	-

**A. Test de catalase**

Ce test constitue une méthode essentielle pour l'identification des bactéries marines. En déposant une colonie bactérienne dans une goutte de peroxyde d'hydrogène, l'apparition immédiate de bulles accompagnée d'un dégagement de dioxygène traduit une réaction positive. Les souches montrant cette effervescence sont ainsi considérées comme catalase positives.

Dans ce cas, les souches A, C et 6 présentent cette activité enzymatique, indiquant qu'elles possèdent l'enzyme catalase.



Souche A      Souche C      Souche 6

**Figure 16** : Résultats de test de catalase.

### B. Test d'oxydase :

Le test de l'oxydase détecte la présence de l'enzyme cytochrome c oxydase, impliquée dans la respiration aérobie. En présence de cette enzyme, le réactif devient bleu-violet, indiquant un résultat positif. Dans ce cas, les souches A et 6 montrent une activité enzymatique positive, ce qui indique qu'elles produisent l'enzyme oxydase.

**Tableau 5** : test d'oxydase et catalase des trois souches.

Souche	Oxydase	Catalase
A	+	+
C	-	+
6	+	+

D'après les résultats obtenus, l'analyse combinée des observations macroscopiques (morphologie des colonies), microscopiques (forme, taille et arrangement cellulaire), ainsi que les profils biochimiques déterminés par une série de tests standardisés (tests d'oxydase, catalase, fermentation des sucres, production de pigments, mobilité, etc.), a permis d'identifier les souches bactériennes isolées à partir des différents sites des côtes de Béni Saf et de Honaïne comme appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*. Ces résultats suggèrent une large répartition écologique des bactéries de ce groupe dans les environnements marins de cette région.

Leur présence pourrait être liée à leur capacité bien connue d'adaptation aux conditions

fluctuantes des milieux côtiers, ainsi qu'à leur potentiel métabolique élevé, qui leur confère des avantages compétitifs en termes de survie et de colonisation. Par ailleurs, cette identification ouvre la voie à des investigations plus approfondies sur les rôles écologiques et les éventuelles applications biotechnologiques des souches isolées.

### V.3.Sélection des bactéries marines à activités biologiques

Cette étape a été réalisée dans le but de cribler les souches bactériennes marines pour leur potentiel de production enzymatique, en ciblant plus particulièrement les activités amylolytique, cellulolytique et protéolytique.

Par ailleurs, l'évaluation de leur activité antibactérienne a également été menée afin d'identifier des souches présentant un double intérêt : d'une part, pour leur capacité à dégrader des macromolécules complexes, et d'autre part, pour leur aptitude à inhiber la croissance de bactéries pathogènes. Ce criblage constitue une étape clé en vue de la sélection de candidats potentiels pour des applications biotechnologiques, notamment dans les domaines de la bioremédiation, de l'industrie enzymatique, et du développement de nouveaux agents antimicrobiens.

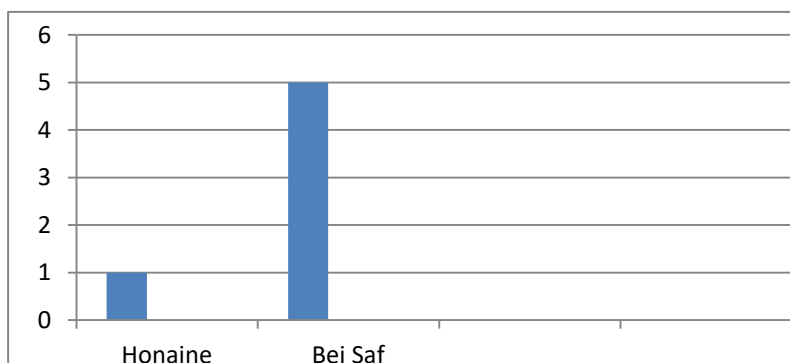
#### V.3.1. Criblage des bactéries à activité enzymatique

##### V.3.1.1. Les bactéries amylolytiques

L'activité amylolytique des bactéries marines a été évaluée par ensemencement de la gélose LB à base d'amidon, utilisant la méthode des spots. Cette approche a permis d'isoler 6 souches amylolytiques à partir des échantillons de Honaine et Beni Saf.

La formation d'une zone claire autour des colonies, après traitement avec le lugol, indique l'absence d'amidon, ce qui l'activité de l'enzyme amylase en hydrolysant l'amidon. Cela démontre que les microorganismes marins produisent l'enzyme amylase.



**Figure 17 :** L'activité amylolytique des souches bactériennes marines isolées.**Figure 18:** Diagramme comparatif des souches amylolytiques obtenues des Échantillons étudiés.

### V.3.1.2. L'activité cellulolytique

L'activité cellulolytique des bactéries marines a été évaluée par ensemencement en spots à la surface d'une gélose LB contenant de la cellulose. Cette méthode a permis d'isoler sept souches cellulolytiques : une souche à partir des échantillons de Honaine et six à partir de ceux de Beni Saf. La formation d'une zone claire autour des colonies indique que la souche est positive à la cellulase. L'absence de coloration autour des cultures signifie l'hydrolyse de la cellulose, ce qui prouve que le microorganisme marin produit l'enzyme cellulase.

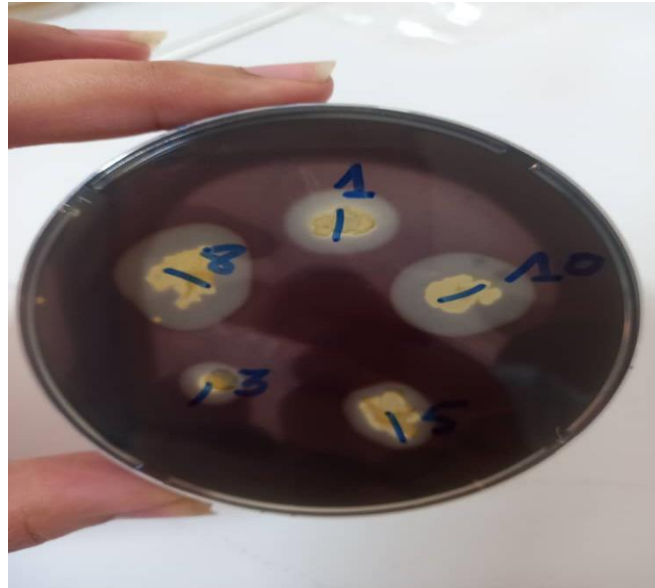


Figure 19: L'activité cellulolytique des souches marines dans deux sites.

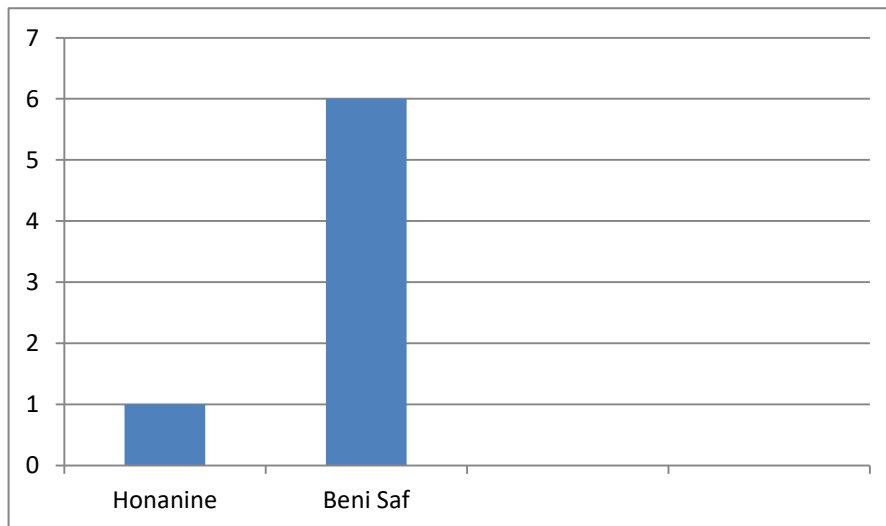


Figure 20: Diagramme comparatif de souches cellulolytiques obtenues des Échantillons étudiés.

### V.3.1.3. L'activité protéolytique

L'activité protéolytique des microorganismes marins a été évaluée par ensemencement en spots sur une gélose LB contenant de la caséine, une protéine du lait. Cette méthode a permis d'isoler trois souches protéolytiques : une à partir des échantillons de Honanine et deux à partir de ceux de Beni Saf. La formation d'une zone claire autour des colonies indique un test positif, traduisant l'hydrolyse de la caséine. L'absence de coloration autour des cultures témoigne de la dégradation de la protéine, ce qui confirme que les bactéries marines produisent l'enzyme

protéase.

Figure 21: L'activité protéolytique des souches des bactéries marines.

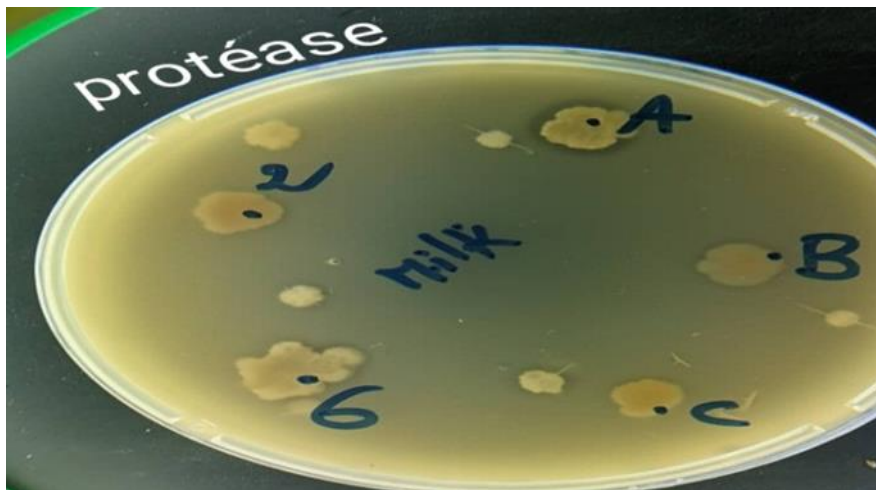


Figure 22 : L'activité cellulolytique des souches marines dans deux sites.

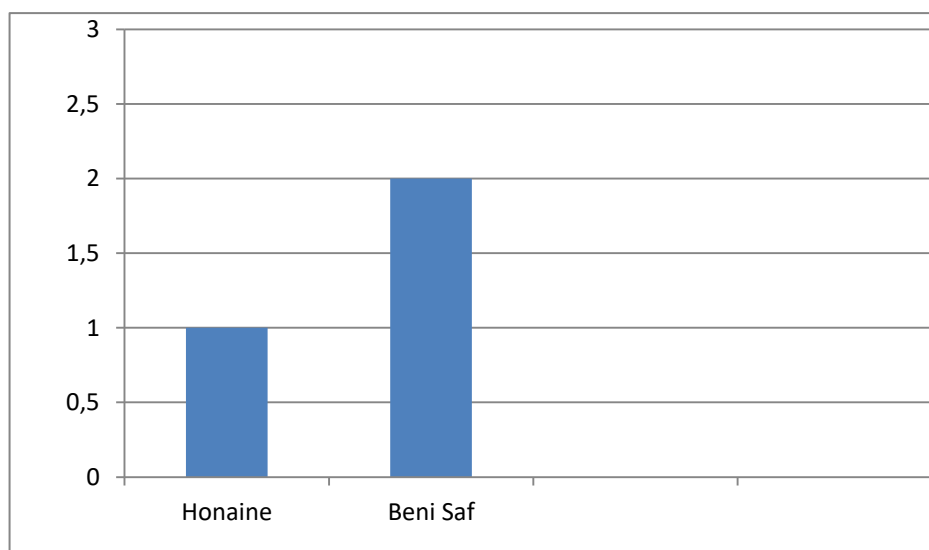


Figure 23: Diagramme comparatif des souches protéolytiques obtenues des Échantillons étudiés.

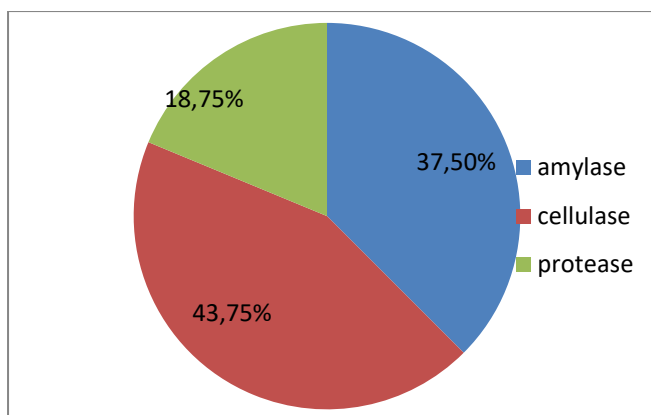


Figure 24 : Profil enzymatique de l'eau de mer dans deux régions distinctes.

Les souches marines étudiées montrent une spécialisation marquée vers la dégradation des protéines, l'amidon et de la cellulose, reflétant probablement les conditions de leur habitat d'origine. Ces résultats ouvrent des perspectives pour des applications biotechnologiques ciblées, tout en soulignant l'adaptation métabolique unique de ces micro-organismes à leur environnement. Des études complémentaires pourraient explorer la diversité génétique sous-jacente à ces traits enzymatiques

#### V .3.1.4. Criblage secondaire des souches isolées

Cetableau montre les 02 souches qui ont un pouvoir enzymatique important parmi les 26 isolats précédents.

Tableau 6: les souches sélectionnées présentant les activités enzymatiques.

Souche	Amylase	Cellulase	Protéase
A	+	+	+
6	+	+	+

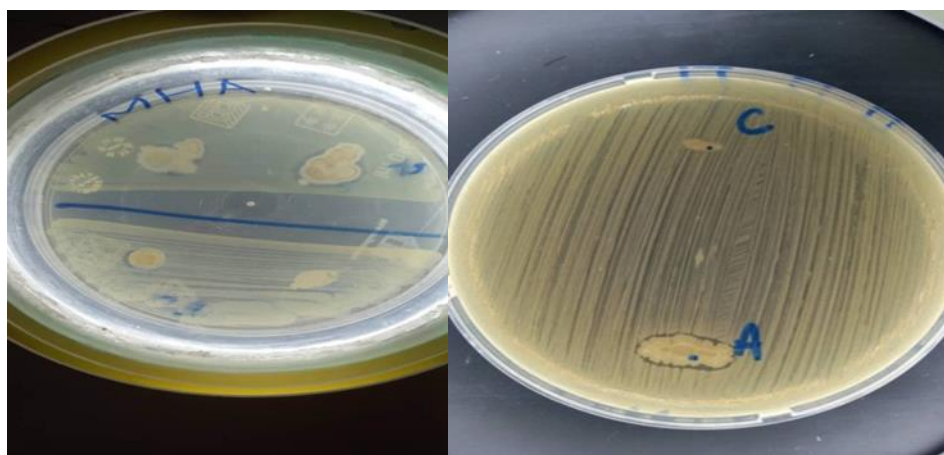
- + **Souche A** : La souche A produit l'amylase, la cellulase et la protéase, révélant un profil enzymatique complet. Cette polyvalence la rend prometteuse pour des applications industrielles ou environnementales.
- + **Souche 6** : La souche 6 exprime toutes les enzymes testées, comme la souche A, ce qui lui confère un fort potentiel pour la dégradation de matériaux organiques complexes.

## V.3.2. Etude de l'activité antimicrobienne des isolats

Dans cette étude, l'activité antimicrobienne a été évaluée à l'aide de la méthode d'ensemencement en spot. Trois souches présentant un potentiel antibiotique ont été sélectionnées et testées contre cinq souches pathogènes : *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli* et *Pseudomonas Aeruginosa*.

La technique consistait à déposer les souches d'intérêt sous forme de spots sur une gélose Muler-Hinton ensemencée au préalable avec les souches pathogènes. Après 24 heures d'incubation à 32 °C, la formation d'un halo d'inhibition autour des spots traduisait une activité antimicrobienne effective.

Une activité antibactérienne marquée a été observée pour les souches A et C, isolées de la région de Beni Saf, ainsi que pour la souche 6, provenant de Honaine. Ces souches ont démontré un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des agents pathogènes testés.



**Figure 25:** Résultat d'étude de l'activité antimicrobienne des souches sélectionnées.

- **Souche A** : zone d'antibiogramme n°1 correspondant au disque PA (DSM 22644), isolée à partir de l'eau de mer de Beni Saf.
- **Souche C** : isolée à 5 mètres de profondeur, à partir de la solution mère, testée avec le disque DSM 22644, provenant de l'eau de mer de Beni Saf.
- **Souche 6** : isolée à partir de l'échantillon M2 SWA, provenant de l'eau de mer de

Honaine.

**Tableau 7 :** Illustration des résultats de l'effet antibiotique en spot des souches de Honaine.

Souches pathogènes testées	<i>S.aureus MRSA</i>	<i>E.coli</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. Baumannii</i>
6	+++	-	+	++

++:présenced'unezone d'inhibition.

-- :absenced'unezone d'inhibition.

✚ Une activité antimicrobienne a été observée pour la souche marine A vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (MRSA) et *Pseudomonas aeruginosa*, tandis que la souche C n'a montré aucun effet inhibiteur. Ces résultats suggèrent que la souche A possède un potentiel antimicrobien à explorer davantage, notamment par l'identification des composés bioactifs responsables.

**Discussion**

Dans le cadre de notre étude menée dans les zones marines de Honaine et Béni Saf, nous avons procédé à l'isolement de microorganismes présents dans l'eau de mer. Les échantillons ont été prélevés dans deux sites distincts : Honaine (wilaya de Tlemcen) et Béni Saf (wilaya d'Aïn Témouchent). À Honaine, les prélèvements ont été réalisés à l'aide de flacons, à proximité de diverses espèces marines et sur les rochers côtiers. En revanche, à Béni Saf, une bouteille de type Niskin a été utilisée pour collecter l'eau à différentes profondeurs (2 m, 5 m et 13 m), afin d'évaluer la variation de la composition microbienne selon la colonne d'eau.

Au total, 26 souches bactériennes marines ont été isolées : 16 à partir des échantillons de Honaine et 10 de ceux de Béni Saf. Ces résultats s'inscrivent dans la continuité des travaux menés le long du littoral algérien. Par exemple, **Benamara et al. (2013)** ont isolé 24 souches de sédiments marins sur la côte ouest, avec une prédominance des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. De manière similaire, **Touati et al. (2017)** ont identifié 29 souches dans des échantillons d'eau de mer au large d'Oran, en mettant en évidence une diversité influencée par le niveau de pollution. **Tazir et al. (2011)**, quant à eux, ont rapporté l'isolement de 22 souches halophiles dans différents sites de la Méditerranée occidentale, dont certaines présentaient un potentiel antimicrobien. Nos résultats confirment ainsi la richesse de la flore microbienne marine algérienne, en particulier dans des zones encore peu explorées comme Honaine et Béni Saf.

Concernant les activités enzymatiques, 23 % des souches ont produit de l'amylase, une enzyme impliquée dans l'hydrolyse de l'amidon. Ce taux reste inférieur à ceux observés dans d'autres études. **Veras et al. (2018)**, par exemple, ont noté que 53 % des souches isolées d'environnements marins tropicaux riches en matière organique présentaient une activité amylolytique. De même, **Andriyono et al. (2012)** ont rapporté 40 % de souches amylolytiques issues de sédiments marins indonésiens. **Lim et al. (2005)** ont isolé une souche marine identifiée comme *Pontibacillus sp. ZY*, présentant une activité amylolytique importante, attribuée à son adaptation à un environnement salin. L'écart observé dans notre étude pourrait s'expliquer par une moindre richesse en polysaccharides dans les milieux échantillonnés, réduisant la pression de sélection pour les bactéries amylolytiques. Pour ce qui est de l'activité

cellulolytique, 27 % des souches isolées ont montré une production de cellulase, un résultat comparable à celui d'**Andriyono et al. (2012)**.

Toutefois, ce taux est inférieur à celui observé par **Veras et al. (2018)**, qui ont également trouvé 53 % de souches cellulolytiques, probablement en lien avec la forte présence de matière végétale dans les récifs tropicaux étudiés. **Dodd et al. (2010)** ont mis en évidence la capacité de *Vibrio harveyi* à produire des cellulases actives en milieu salin, avec une activité enzymatique atteignant 3,5 U/mL. D'autres genres, tels que *Bacillus* et *Pseudomonas*, se sont également distingués par leur activité cellulolytique élevée et leur efficacité dans des conditions extrêmes.

En ce qui concerne l'activité protéolytique, seuls 11 % des souches ont produit des protéases, un taux bien inférieur à ceux rapportés par **Veras et al. (2018)** (67 %) et **Andriyono et al. (2012)** (33 %). **Chen et al. (2003)** ont montré que les protéases produites par les bactéries marines sédimentaires présentent des propriétés particulières telles qu'une bonne tolérance au sel et une activité à basse température. **Zhao et al. (2012)** ont décrit plusieurs enzymes produites par *Pseudoalteromonas sp.*, comme MCP-01 et la pseudoaltérine, caractérisées par leur efficacité en milieu marin. La faible activité observée dans notre étude pourrait être attribuée à une disponibilité réduite en substrats protéiques dans l'environnement étudié.

Malgré la faible proportion de souches à activité enzymatique, notre étude révèle une diversité fonctionnelle intéressante. Les souches A et 6 se distinguent par leur capacité à produire simultanément de l'amylase, de la cellulase et de la protéase. Cette polyvalence est précieuse pour des applications biotechnologiques, comme le soulignent également **Veras et al. (2018)** et **Andriyono et al. (2012)**, qui ont mis en évidence des souches marines multi-enzymatiques. À l'inverse, la souche C n'a exprimé aucune activité enzymatique dans les conditions expérimentales appliquées. Cette observation est cohérente avec les travaux de **Tizon et al. (2012)**, qui ont montré que certaines bactéries n'expriment leur potentiel enzymatique qu'en réponse à des paramètres spécifiques tels que le pH ou la température.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a révélé que la souche 6 exerce une inhibition modérée contre plusieurs agents pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecium* et *Acinetobacter spp.*, bien qu'elle reste inefficace contre *Escherichia*

*coli*. Cette absence d'activité contre *E. coli* suggère une possible résistance naturelle, ce qui rappelle partiellement les observations de **Galaviz-Silva et al. (2018)**.

La souche A a également montré une activité inhibitrice contre *S. aureus* (MRSA) et *P. aeruginosa*, résultats en accord avec ceux de **Sivaperumal et al. (2018)**. En revanche, la souche C n'a présenté aucune activité antimicrobienne, ce qui pourrait, là encore, être lié à des conditions de culture inadéquates pour l'expression de ses métabolites bioactifs.

Ces résultats confirment le potentiel des bactéries marines en tant que source d'agents antimicrobiens, comme l'ont souligné **Kuo et al. (2019)**, **Zhanget al. (2019)** et **Singh et al. (2020)**. Ces auteurs ont mis en évidence la capacité de genres tels que *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Streptomyces* à produire des métabolites secondaires à fort pouvoir antibactérien. **Wang et al. (2021)** ont, par ailleurs, insisté sur l'importance des peptides antimicrobiens marins, qui agissent selon divers mécanismes, incluant l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire et la perturbation membranaire.

L'analyse morphologique de **Ben Slama et al., 2012** a permis de classer la souche A comme un bacille Gram négatif, probablement affilié aux genres *Pseudomonas*, fréquemment rencontrés dans les milieux côtiers (). Les souches C et 6 sont des coccobacilles Gram positifs, probablement proches des genres *Micrococcus*, *Arthrobacter* ou *Bacillus*, connus pour leur robustesse en milieu marin et leur rôle dans la dégradation de la matière organique, conformément aux observations de **Bourrain et al. (1999)** et **Gómez et al. (2003)**. Ces résultats confirment que la diversité bactérienne marine est fortement influencée par des facteurs locaux, tels que la salinité, la disponibilité en nutriments et la nature du substrat.

Les souches bactériennes isolées des côtes de Béni Saf et de Honâine ont été identifiées comme appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*. Ces résultats confirment ceux de **Tirumalai et al. (2019)**, qui décrivent leur diversité et leur large répartition en milieu marin. Des espèces telles que *P. putida* et *P. fluorescens* sont connues pour leur capacité à produire des biosurfactants et à dégrader les hydrocarbures (**Mnif et al., 2011**). Ces propriétés les rendent utiles pour la bioremédiation. Par ailleurs, certaines souches montrent une activité antimicrobienne (**Holmström et Kjelleberg, 1999**).

# Conclusion

---

## Conclusion

Les océans abritent une diversité microbienne remarquable, encore largement méconnue et sous-exploitée. Cette biodiversité comprend non seulement des eucaryotes tels que les microalgues, les champignons, les ciliés et d'autres hétérotrophes, qui jouent des rôles clés dans la photosynthèse et les réseaux trophiques (Sunagawa *et al.*, 2015), mais également une vaste communauté de procaryotes incluant des bactéries photosynthétiques, (photo)hétérotrophes et des archées. Ces dernières sont impliquées dans de nombreux cycles biogéochimiques essentiels, tels que le cycle de l'azote et du carbone (Falkowski *et al.*, 2008). Les microorganismes marins occupent ainsi une grande variété de niches écologiques et remplissent des fonctions fondamentales dans le maintien des équilibres des écosystèmes océaniques. Cependant, malgré leur importance écologique et biotechnologique potentielle, leur diversité fonctionnelle reste encore insuffisamment explorée (Salazar et Sunagawa, 2017).

Dans ce contexte, notre étude a porté sur les microorganismes présents dans l'eau de mer, avec pour objectif de caractériser les souches isolées à différents niveaux : macroscopique, microscopique et biochimique. En complément, nous avons évalué leur potentiel antimicrobien en testant leur activité contre plusieurs souches bactériennes de référence, à savoir *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par ailleurs, nous avons examiné la capacité de ces microorganismes à produire des enzymes d'intérêt industriel telles que l'amylase, la cellulase et la protéase.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence plusieurs points clés :

- Les 26 souches isolées appartiennent à une grande diversité de genres microbiens.
- 7 % de ces souches présentent une activité antimicrobienne notable, avec une efficacité particulièrement marquée pour les souches 6 et A contre les bactéries testées.
- La majorité des souches montrent une activité enzymatique significative et variée, révélant un fort potentiel pour des applications industrielles.
- Parmi les enzymes produites, la cellulase est la plus représentée (27 % des souches), suivie de l'amylase (23 %) et de la protéase (11 %).

Ces résultats confirment que les communautés microbiennes marines représentent une ressource précieuse pour la découverte de nouvelles molécules bioactives et d'enzymes d'intérêt industriel, soulignant l'importance de poursuivre l'exploration fonctionnelle de cette biodiversité encore largement inexploitée.

# Conclusion

---

## Perspectives

Dans le but de valoriser pleinement les résultats obtenus et d'approfondir la compréhension des souches isolées, plusieurs axes de recherche sont à privilégier :

- ✚ **Identification précise des souches** : Il est fondamental d'affiner l'identification des souches jusqu'au niveau spécifique, en s'appuyant sur une combinaison d'analyses physiologiques, chimiotaxonomiques et, surtout, d'outils moléculaires tels que le séquençage génétique.
- ✚ **Caractérisation génétique** : Les outils de biologie moléculaire permettent de confirmer l'identification des souches et d'analyser leur capacité à produire des métabolites d'intérêt.
- ✚ **Étude approfondie de la production enzymatique**: Il est important de focaliser les recherches sur la production ciblée d'enzymes (amylase, protéase, cellulase) à haute valeur ajoutée, en suivant des étapes précises d'optimisation et de sélection :
  - Sélection des souches les plus prometteuses ;
  - Optimisation des conditions de culture (pH, température, composition du milieu, durée d'incubation, etc.) afin d'améliorer les rendements enzymatiques.

## **Références Bibliographiques**

## Référence Bibliographique

---

### References Bibliographique :

**Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S., & Al-Sabri, A. E. (2015).** Biodegradation of diesel fuel hydrocarbons by mangrove fungi from the Red Sea coast of Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.005>

**Andriyono, A. G., Sunaryo, A., & Sihombing, D. (2012).** Production of industrial enzymes by bacteria isolated from marine sedentary organisms. *ResearchGate*. [https:// www. Rese arch gate.net/publication/XXXXX](https://www.Researchgate.net/publication/XXXXX)

**Avils, E., & Rodríguez, A. D. (2010).** *Monamphilectine A*, a potent antimalarial  $\beta$ -lactam from marine sponge *Hymeniacidon* sp.: Isolation, structure, semi-synthesis, and bioactivity. *Organic Letters*, 12, 5290–5293.

**Attia, M. S., Ali, G. M., & Ahmed, H. G. M. D. (2023).** Enhancing tomato plant growth using *Chlorella vulgaris* microalgae and their extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(5), 1170026. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.1170026>

**Bamber, R. N. (1987).** The effects of acidic sea water on young carpet-shell clams *Venerupis decussata* (L.) (Mollusca: Veneracea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 108, 241–260. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(87\)90025-6](https://doi.org/10.1016/0022-0981(87)90025-6)

**Benamara, S., Bensoltane, A., & Khelil, O. (2013).** Isolation and characterization of marine bacteria from Algerian west coast. *African Journal of Microbiology Research*, 7(48), 5482–5488. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5907>

**Ben Slama, H., et al. (2012).** Isolation and characterization of marine bacteria from the Algerian coast. *African Journal of Microbiology Research*, 6(12), 2982–2990.

**Bhatia, S. K., Kim, J. H., & Kim, H. J. (2023).** Marine biopolymers for sustainable agriculture: Advances and prospects. *Materials*, 16(3), 591. <https://doi.org/10.3390/ma16030591>

**Biller, S. J., Berube, P. M., Lindell, D., & Chisholm, S. W. (2015).** Prochlorococcus: The structure and function of collective diversity. *Nature Reviews Microbiology*, 13, 13–27. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3378>

**Bourrain, M., Achouak, W., & Heulin, T. (1999).** Diversity of bacterial communities in coastal sediments of the Mediterranean Sea. *FEMS Microbiology Ecology*, 28(3), 307–318. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00550.x> (if DOI available)

**Brand, L. E. (1984).** The salinity tolerance of forty-six marine phytoplankton isolates. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 18, 543–556. [https://doi.org/10.1016/0272-7714\(84\)90080-7](https://doi.org/10.1016/0272-7714(84)90080-7) (if DOI available)

**Brinkhoff, T., Bach, G., Heidorn, T., Liang, L., Schlingloff, A., & Simon, M. (2004).** Antibiotic production by a Roseobacter clade-affiliated species from the German Wadden Sea and its antagonistic effects on indigenous isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2560–2565. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2560-2565.2003>

## Référence Bibliographique

---

**Bultel-Ponce, V. V., Berge, J. P., Debitus, C., Nicolas, J. L., & Guyot, M. (1999).**Metabolites from the sponge-associated bacterium *Pseudomonas* species.*Marine Biotechnology*, 1(4), 384–390. <https://doi.org/10.1007/PL00011792>

**Conrad, R., & Seiler, W. (1980).**Photooxidative production and microbial consumption of carbon monoxide in seawater.*FEMS Microbiology Letters*, 9, 61–64. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1980.tb05748.x> (if available)

**Cannell, R. J., Kellam, S. J., Owsianka, A. M., & Walker, J. M. (1987).**Microalgae and cyanobacteria as a source of glycosidase inhibitors.*Journal of General Microbiology*, 133(7),

**Cordero, P. R. F., et al. (2019).** Atmospheric carbon monoxide oxidation is a widespread mechanism supporting microbial survival. *ISME Journal*, 13, 2868–2881. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0460-7>

**Cahoon, L. B. (1999).**The role of benthic microalgae in neritic ecosystems.*Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 37, 47–86.1701–1705. <https://doi.org/10.1099/00221287-133-7-1701>

**Campos, P. E. (2016).***Recherche de molécules naturelles bioactives issues de la biodiversité marine de la zone sud-ouest de l'océan Indien* [Doctoral dissertation, Emmanuel Pichon]. (Add repository or URL if available)

**Chen, X. L., Zhang, Y. Z., Gao, P. G., & Luan, X. W. (2003).**Two different proteases produced by a deep-sea psychrotrophic bacterial strain, *Pseudoalteromonas* sp. SM9913. *Marine Biology*, 143, 989–993. <https://doi.org/10.1007/s00227-003-1128-2>

**Croué, J. (2016).***Éponges marines et micro-organismes associés : Sources de métabolites bioactifs* [Unpublished doctoral dissertation or thesis, if applicable]. (Include institution or URL if available)

**Crenn, K. (2016).***Interactions entre microalgues et bactéries dans l'environnement marin* [Master's thesis, Université de Bretagne Occidentale].

**Danovaro, R., Rastelli, E., Corinaldesi, C., Tangherlini, M., & Dell'Anno, A. (2017).**Marine archaea and archaeal viruses under global change.*F1000Research*, 6, 1241. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11686.1>

**David, K. (1935).**Lipase production by *Penicillium oxalicum* and *Aspergillus flavus*.*Botanical Gazette*, 97, 321. <https://doi.org/10.1086/334487> (DOI added)

**Debbab, A., Aly, A. H., Lin, W. H., & Proksch, P. (2010).** Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. *Microbial Biotechnology*, 3(5), 544–563. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00179.x>

**De Jésus-Alyson, E. G. (2011).**Trends in aquaculture and fisheries biotechnology: Current applications in the Philippines. In *Selected reviews in biotechnology: Livestock, forestry, and fisheries* (p. 246). ISAAA and BCP.

## Référence Bibliographique

---

**De la Calle, F. (2009).** Marine genetic resources: A source of new drugs – The experience of the biotechnology sector. *International Journal of Marine and Coastal Law*, 24, 209–220. <https://doi.org/10.1163/157180809X421743>

**Deslandes, E., Pondaven, E., Auperin, T., Roussakis, C., Guézennec, J., Stiger, V., & Payri, C. (2000).** Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6). *Journal of Applied Phycology*, 12(3–5), 257–262. <https://doi.org/10.1023/A:1008136319594> (DOI added)

**Dominique, B., Dominique, D., Patrick, D., & Marie-Christine. (2005).** Algues et alimentation animale. *Algo Rythme*, 3, [page numbers if available].

**Dodd, D., Christophersen, C. T., Williams, R. B., Cook, G. M., & Morrison, M. (2010).** The marine bacterium *Vibrio harveyi* produces cellulolytic enzymes for cellulose degradation. *Journal of Applied Microbiology*, 109(2), 522–530. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04686.x>

**Drever, J. I. (1988).** *The geochemistry of natural waters* (2nd ed.). Prentice Hall.

**El Amraoui, B., El Amraoui, M., Cohen, N., & Fassouane, A. (2014).** Antifungal and antibacterial activity of marine microorganisms. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 72, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2013.12.001>

**Ernthaler, J., DeLong, E. F., & Amann, R. (2002).** Comparison of fluorescently labeled oligonucleotide and polynucleotide probes for the detection of pelagic marine bacteria and archaea. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 661–667.

**Etahiri, S., El Kouri, A., Bultel-Poncé, V., Guyot, M., & Assobhei, O. (2007).** Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*. *Natural Product Communications*, 2, 749–752.

**Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., & Thomas, T. (2013).** The seaweed holobiont: Understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(3), 462–476. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12011>

**Eichner, M. J., Basu, S., Gledhill, M., de Beer, D., & Shaked, Y. (2019).** Hydrogen dynamics in *Trichodesmium* colonies and their potential role in mineral iron acquisition. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1565. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01565>

**Falkowski, P. G. (1997).** Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of CO<sub>2</sub> in the ocean. *Nature*, 387, 272–275. <https://doi.org/10.1038/387272a0>

**Fenchel, T., King, G. M., & Blackburn, T. H. (1998).** *Bacterial biogeochemistry: The ecophysiology of mineral cycling* (p. 307). Academic Press.

**Feller, G., Thiry, M., Arpigny, J. L., Mergeay, M., & Gerday, C. (1990).** Lipases from psychrotrophic Antarctic bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 66, 239–244. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb04086.x>

## Référence Bibliographique

---

**Feling, R. H., Buchanan, G. O., Mincer, T. J., Kauffman, C. A., Jensen, P. R., & Fenical, W. (2003).** Salinosporamide A: A highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora*. *Angewandte Chemie International Edition*, 42, 355–357. <https://doi.org/10.1002/anie.200390123>

**Galaviz-Silva, M., López-Ordaz, A., Aranda-Ruiz, J., & Sánchez-Flores, A. (2018).** Bioactive compounds from marine bacteria. *Marine Drugs*, 16(11), 429. <https://doi.org/10.3390/md16110429>

**Géraldine, C. L. (2009).** *Les algues: Le trésor de la mer* (pp. 1–6). Haute école de santé Genève (Heds).

**Gorajana, A., Kurada, B. V., Peela, S., Jangam, P., Vinjamuri, S., Poluri, E., & Zeeck, A. (2005).** 1-Hydroxy-1-norresistomycin, a new cytotoxic compound from a marine actinomycete, *Streptomyces chinaensis* AUBN1/7. *Journal of Antibiotics*, 58, 526–529. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.72>

**Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983).** Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37, 189–216. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.37.100183.001201>

**Gopinath, S. C. B., Anbu, P., Arshad, M. K. M., Lakshmipriya, T., Voon, C. H., Hashim, U., & Chinni, S. V. (2017).** Biotechnological processes in microbial amylase production. *BioMed Research International*, 2017, 1272193. <https://doi.org/10.1155/2017/1272193>

**Gómez, F. (2003).** Bacterial diversity in deep-sea sediments of the western Mediterranean. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), 3451–3458. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3451-3458.2003>

**Greene, R. V., Griffin, H. L., & Cotta, M. A. (1996).** Utility of alkaline protease from marine shipworm bacterium in industrial cleansing applications. *Biotechnology Letters*, 18, 759–764. <https://doi.org/10.1007/BF00140066>

**Gruber, N. (2008).** The marine nitrogen cycle: Overviews and challenges. In D. G. Capone, D. A. Bronk, M. R. Mulholland, & E. J. Carpenter (Eds.), *Nitrogen in the marine environment* (2nd ed., pp. 1–50). Elsevier.

**Gruber, N., & Galloway, J. N. (2008).** An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 451, 293–296. <https://doi.org/10.1038/nature06592>

**Gupta, S., Thakur, M., & Saxena, R. K. (2023).** Marine fungi: An untapped source of bioactive compounds. *Marine Drugs*, 21(5), 277. <https://doi.org/10.3390/md21050277>

**Haddar, A., Agrebi, R., Bougatef, A., Hmidet, N., Sellami-Kamoun, A., & Nasri, M. (2009).** Two detergent stable alkaline serine-proteases from *Bacillus mojavensis* A21: Purification, characterization, and potential application as a laundry detergent additive. *Bioresource Technology*, 100, 3366–3373. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.041>

**Haton, C. (2005).** *Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale* [Doctoral dissertation, Université de Paris VI].

## Référence Bibliographique

---

**Holmström, C., & Kjelleberg, S. (1999).** Marine *Pseudoalteromonas* species are associated with higher organisms and produce biologically active extracellular agents. *FEMS Microbiology Ecology*, 30(4), 285–293. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00656.x>

**Huot, A. (2010).** Eau et santé. *La revue Bio contact*, (200).

**Goswami, M., Deka, S., & Deka Boruah, H. P. (2023).** Plant growth-promoting rhizobacteria from coastal saline soil improve growth and salt tolerance in chickpea (*Cicer arietinum*). *Frontiers in Plant Science*, 14, 1067380. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1067380>

**Guézennec, J. (2014).** *Bactéries marines et biotechnologies*. Quae.

**Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2002).** Phenotypic identification of bacteria and fungi in the clinical microbiology laboratory: A review of current techniques. *Clinical Microbiology and Infection*, 8(12), 711–726. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00452.x>

**Jiao, N., Herndl, G. J., Hansell, D. A., Benner, R., Kattner, G., & Wilhelm, S. W. (2010).** Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: Long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Reviews Microbiology*, 8(8), 593–599. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2386>

**Jia, L., Wang, Y., & Zhang, Y. (2023).** Chitosan-alginate modified biochar for improving acidic soil and immobilizing cadmium. *Environmental Pollution*, 320, 121301. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.121301>

**Jørgensen, B. B., & Revsbech, N. P. (1983).** Colorless sulphur bacteria, *Beggiatoa* spp. and *Thiovulum* spp. in O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>S microgradients. *Applied and Environmental Microbiology*, 45, 1261–1270.

**Johnson, F. H., Eyring, H., & Stover, B. J. (1977).** Reaction rate theory in bioluminescence and other life phenomena. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, 6, 111–133. <https://doi.org/10.1146/annurev.bb.06.060177.000551>

**Kamimura, K., Fuse, H., Takimura, O., Yamaoka, Y., Ohwada, K., & Hashimoto, J. (1992).** Pressure-induced alteration in fatty acid composition of barotolerant deep-sea bacterium. *Journal of Oceanography*, 48, 93–104. <https://doi.org/10.1007/BF02234028>

**Kanoh, K., Okada, A., Adachi, K., Imagawa, H., Nishizawa, M., Matsuda, S., Shizuri, Y., & Utsumi, R. (2008).** Ascochyatin, a novel bioactive spirodioxynaphthalene metabolite produced by the marine-derived fungus, *Ascochyta* sp. NGB4. *Journal of Antibiotics*, 61(11), 706–709. <https://doi.org/10.1038/ja.2008.104>

**Kato, C., Sato, T., & Horikoshi, K. (1995).** Isolation and properties of barophilic and barotolerant bacteria from deep-sea mud samples. *Biodiversity and Conservation*, 4, 1–9. <https://doi.org/10.1007/BF00115308>

**Kato, C., Li, L., Nogi, Y., Nakamura, Y., Tamaoka, J., & Horikoshi, K. (1998).** Extremely barophilic bacteria isolated from the Mariana Trench, Challenger Deep, at a depth of 11,000 meters. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4), 1510–1513. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.4.1510-1513.1998>

## Référence Bibliographique

---

**Kelecom, A. (2002).**Secondary metabolites from marine microorganisms.*Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 74(1), 151–170.<https://doi.org/10.1590/S0001-37652002000100012>

**Kiuru, P., D'Auria, M. V., Muller, C. D., Tammela, P., Vuorela, H., & Yli-Kauhaluoma, J. (2014).**Exploring marine resources for bioactive compounds.*Planta Medica*, 80(14), 1234–1246. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1399842>

**Kumar, A., & Sharma, S. (2023).** Sustainable agriculture using microalgae-based biofertilizers: Advances and prospects. *Sustainability*, 15(16), 12413. <https://doi.org/10.3390/su151612413>

**Knapp, S., Schweiger, O., Kraberg, A., Asmus, H., Asmus, R., Brey, T., Frickenhaus, S., Gutt, J., Kühn, I., Liess, M., Musche, M., Pörtner, H.-O., Seppelt, R., Klotz, S., & Krause, G. (2017).**Do drivers of biodiversity change differ in importance across marine and terrestrial systems — or is it just different research communities' perspectives? *Science of The Total Environment*, 574, 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.002>

**Kuo, J., Yang, Y. T., & Lu, M. C. (2019).**Antimicrobial activity and diversity of bacteria associated with Taiwanese marine sponge *Theonella swinhoei*. *Annals of Microbiology*, 69(2), 253–265. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1414-3>

**Le Gal, Y. (2004).** Biodiversité marine et exploitation biotechnologique des océans. *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement*, 5(3). <https://doi.org/10.4000/vertigo.3356>

**Lee, J.-C., Hou, M.-F., Huang, H.-W., Chang, F.-R., Yeh, C.-C., Tang, J.-Y., & Chang, H.-W.(2013).** Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties.*Cancer Cell International*, 13, 55.<https://doi.org/10.1186/1475-2867-13-55SpringerLink>

**Lee, D.-S., Jang, J.-H., Ko, W., Kim, K.-S., Sohn, J. H., Kang, M.-S., Ahn, J. S., Kim, Y.-C., & Oh, H. (2013).** PTP1B inhibitory and anti-inflammatory effects of secondary metabolites isolated from the marine-derived fungus *Penicillium* sp. JF-55. *Marine Drugs*, 11(4), 1409–1426. <https://doi.org/10.3390/md11041409MDPI>

**Lim, J. M., Jeon, C. O., Son, J. M., & Kim, C. (2005).** *Pontibacillus chungwhensis* gen. nov., sp. nov., a moderately halophilic Gram-positive bacterium from a solar saltern in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 165–170. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63315-0>

**Luesch, H., Harrigan, G. G., Goetz, G., & Horgen, F. D. (2002).** The cyanobacterial origin of potent anticancer agents originally isolated from sea hares. *Current Medicinal Chemistry*, 9(20), 1791–1806. <https://doi.org/10.2174/0929867023369051>

**Ludwig, M., & Bryant, D. A. (2012).** *Synechococcus* sp. strain PCC 7002 transcriptome: Acclimation to temperature, salinity, oxidative stress, and mixotrophic growth conditions. *Frontiers in Microbiology*, 3, 354.<https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00354>

**Macreadie, P. I., Serrano, O., Maher, D. T., Duarte, C. M., & Beardall, J. (2017).**Addressing calcium carbonate cycling in blue carbon accounting.*Limnology and Oceanography Letters*, 2(6), 195–201. <https://doi.org/10.1002/lol2.10052>

## Référence Bibliographique

---

Moore, C. M., Mills, M. M., Arrigo, K. R., Berman-Frank, I., Bopp, L., Boyd, P. W., ...& Ulloa, O. (2013). Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geoscience*, 6, 701–710. <https://doi.org/10.1038/ngeo1765>

Mangelsdorf, K., Zink, K.-G., Birrien, J.-L., & Toffin, L. (2005). A quantitative assessment of pressure-dependent adaptive changes in the membrane lipids of a piezosensitive deep seafloor bacterium. *Organic Geochemistry*, 36, 1459–1479. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.03.008>

Marinho, P. R., Moreira, A. P. B., Pellegrino, F. L. P. C., Muricy, G., Bastos, M. C. F., Santos, K. R. N., Giambiagi-de Marval, M., & Laport, M. S. (2009). Marine *Pseudomonas putida*: A potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(5), 678–682. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000500008>

Marfaing, H. (2004). Les algues dans notre alimentation: Intérêt nutritionnel et utilisations. *Revue de Nutrition Pratique, Diète com Bretagne, CEVA*, 1–9.

Massana, R., DeLong, E. F., & Pedrós-Alió, C. (2000). A few cosmopolitan phylotypes dominate planktonic archaeal assemblages in widely different oceanic provinces. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), 1777–1787. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.1777-1787.2000>

Matsumoto, K., Choshi, T., Hourai, M., Zamami, Y., Sasaki, K., Abe, T., Ishikura, M., Hatae, N., Iwamura, T., & Tohyama, S. (2012). Synthesis and antimalarial activity of calothrixines A and B, and their N-alkyl derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(15), 4762–4764. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.05.064>

McKean, C. J. P., & Nagpal, N. K. (1991). *Ambient water quality criteria for pH: Technical appendix*. Ministry of Environment, Water Management Division, Water Quality Branch.

McNeely, R. N., Neimanis, V. P., & Dwyer, L. (1979). *Références sur la qualité des eaux: Guide des paramètres de la qualité de l'eau*. Environnement Canada, Direction générale des eaux intérieures, Direction de la qualité des eaux.

Memory, H. (2006). *Biologie Module 1: Diversité des algues et des plantes* (p. 45).

Michel, C. (2000). *Algues-operon. Biologie Module 1: Diversité des algues et des plantes* (p. 20).

Molinski, T. F., Dalisay, D. S., Lievens, S. L., & Saludes, J. P. (2009). Drug development from marine natural products. *Nature Reviews Drug Discovery*, 8(1), 69–85. <https://doi.org/10.1038/nrd2487>

Mo, S. J., Kim, J. H., & Cho, K. W. (2009). Enzymatic properties of an extracellular phospholipase C purified from a marine *Streptomyces*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(10), 2136–2137.

Muktar, Y., Tesfaye, S., & Tesfaye, B. (2016). Present status and future prospects of fish vaccination: A review. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 7,

## Référence Bibliographique

---

299.<https://www.omicsonline.org/open-access/present-status-and-future-prospects-of-fish-vaccination-a-review-2157-7579-1000299.php?aid=70000>

**Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2004).** Marine and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. *Journal of Natural Products*, 67(8), 1216–1238. <https://doi.org/10.1021/np040031y>

**Nijman, R., & Swain, L. G. (1990).** *Coquitlam-Pitt River area: Burrard Inlet water quality assessment and objectives. Technical appendix.* Ministry of Environment, Resource Quality Section, Water Management Branch.

**Nogi, Y., Hosoya, S., Kato, C., & Horikoshi, K. (2007).** *Psychromonas hadalis* sp. nov., a novel piezophilic bacterium isolated from the bottom of the Japan Trench. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 1360–1364.

**Pachiadaki, M. G., Taylor, C., Oikonomou, A., Yakimov, M. M., Stoeck, T., & Edgcomb, V. (2016).** In situ grazing experiments apply new technology to gain insights into deep-sea microbial food webs. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 129, 223–231.

**Pal, A., Kamthania, M. C., & Kumar, A. (2014).** Bioactive compounds and properties of seaweeds: A review. *Open Access Library Journal*, 1(6), 1. <https://doi.org/10.4236/oalib.1100752>

**Pandey, A. (2019).** Pharmacological potential of marine microbes. In D. Arora, C. Sharma, S. Jaglan, & E. Lichtfouse (Eds.), *Pharmaceuticals from microbes (Environmental Chemistry for a Sustainable World, Vol. 24, pp. 1–25)*. Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-04675-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-04675-0_1)

**Pernthaler, A., Preston, C. M., Pernthaler, J., DeLong, E. F., & Amann, R. (2002).** Comparison of fluorescently labeled oligonucleotide and polynucleotide probes for the detection of pelagic marine bacteria and archaea. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 661–667

**Pérez, J., Muñoz-Dorado, J., de la Rubia, T., & Martínez, J. (2002).** Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose, and lignin: An overview. *International Microbiology*, 5(2), 53–63. <https://doi.org/10.1007/s10123-002-0062-3>

**Pinnaka, A. K., & Tanuku, N. R. S. (2019).** Marine microbial diversity for sustainable development. In T. Satyanarayana, B. N. Johri, & S. K. Das (Eds.), *Microbial diversity in ecosystem sustainability and biotechnological applications* (pp. 117–158). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8315-1\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8315-1_5)

**Prachyawarakorn, V., Mahidol, C., Sureram, S., Sangpetsiripan, S., Wiyakrutta, S., Ruchirawat, S., & Kittakoop, P. (2008).** Diketopiperazines and phthalides from a marine-derived fungus of the order Pleosporales. *Planta Medica*, 74(1), 69–72. <https://doi.org/10.1055/s-2007-993783>

**Rama, S., & Rao, D. L. N. (2013).** Plant growth-promoting potentials of *Pseudomonas* spp. strain OG isolated from marine water. *Journal of Environmental Biology*, 34(5), 869–874.

## Référence Bibliographique

---

**Rao, K. V., Kasanah, N., Wahyuono, S., Tekwani, B. L., Schinazi, R. F., & Hamann, M. T. (2004).** Three new manzamine alkaloids from a common Indonesian sponge and their activity against infectious and tropical parasitic diseases. *Journal of Natural Products*, 67(8), 1314–1318. <https://doi.org/10.1021/np0400095>

**Ravikumar Sundaram, S., Jacob, I., & Ramu, A. (2011).** Diversity of endophytic actinomycetes from the Karangkadu mangrove ecosystem and its antibacterial potential against bacterial pathogens. *Pharmacy Research*.

**Roberts, R. L., & Cabib, E. (1982).** *Serratia marcescens* chitinase: One-step purification and use for the determination of chitin. *Analytical Biochemistry*, 127(2), 402–412.

**Rice, E. W., Allen, M. J., Brenner, D. J., & Edberg, S. C. (1991).** Dosage of  $\beta$ -glucuronidase in species of the genus *Escherichia coli* and application to the analysis of drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(2), 592–593.

**Rivard-Sirois, C. (2005).** *Les algues* (p. 732).

**Ruby, E. G., & Neilson, K. H. (1976).** Symbiotic association of *Photobacterium fischeri* with the marine luminous fish *Monocentris japonica*: A model of symbiosis based on bacterial studies. *The Biological Bulletin*, 151(3), 574–586.

**Ruby, E. G., Greenberg, E. P., & Hastings, J. W. (1980).** Planktonic marine luminous bacteria: Species distribution in the water column. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(2), 302–306.

**Shishido, T. K., Humisto, A., Jokela, J., Liu, L., Wahlsten, M., Tamrakar, A., Fewer, D. P., Permi, P., Andreote, A. P., & Fiore, M. F. (2015).** Antifungal compounds from cyanobacteria. *Marine Drugs*, 13(4), 2124–2140. <https://doi.org/10.3390/md13042124>

**Shimizu, H. (2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: The Hisayama study. *Stroke*, 35(9), 2072–2077.

**Shilo, M., & Yetinson, T. (1979).** Physiological characteristics underlying the distribution patterns of luminous bacteria in the Mediterranean Sea and the Gulf of Elat. *Applied and Environmental Microbiology*, 38(4), 577–584.

**Sivaperumal, P., Kamala, K., & Sivakumar, K. (2018).** Antimicrobial activity and diversity of bacteria associated with Taiwanese marine sponge *Theonella swinhoei*. *Annals of Microbiology*, 68(1), 99–108.

**Singh, A., Kumari, P., Tiwari, R., & Singh, R. (2020).** Antimicrobial properties of marine bacteria: A review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.07.007>

**Skirrow, G. (1965).** The dissolved gases—Carbon dioxide. In J. P. Riley & G. Skirrow (Eds.), *Chemical Oceanography* (pp. [page numbers if available]). Academic Press.

**Suolow, T. V., & Jones, J. (1988).** *Chitinase-producing bacteria* (U.S. Patent No. 4751081). U.S. Patent and Trademark Office.

## Référence Bibliographique

---

- Strehler, B. L., & Johnson, F. H. (1954).** The temperature-pressure-inhibitor relations of bacterial luminescence *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 40, 606–617.
- Tazir, M., Boudjellal, A., & Boutiba, Z. (2011).** Isolation of halophilic bacteria from the Western Mediterranean Sea with antimicrobial activity. *African Journal of Biotechnology*, 10(52), 10780–10785.
- Tincu, J. A., & Taylor, S. W. (2004).** Antimicrobial peptides from marine invertebrates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(10), 3645–3654. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC521913/>
- Tizon, S., Gagnon, C., & Zamboni, J. (2012).** Effects of pH on amylase, cellulase and protease of the angelwing clam (*Pholas orientalis*). *European Journal of Experimental Biology*, 2(6), 2116–2122.
- Touati, A., Boudjellal, A., & Boudjelloul, H. (2017).** Étude de la diversité bactérienne dans les eaux marines côtières d’Oran (Algérie). *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 142(3–4), 249–258.
- Unnikrishnan, P. S., & Jayasri, M. A. (2018).** Marine algae as a potential source of antidiabetic compounds – A brief review. *Current Diabetes Reviews*, 14, 237–245. <https://doi.org/10.2174/1573399812666161229151407>
- Ueda, I., Shinoda, F., & Kamaya, H. (1994).** Temperature-dependent effects of high pressure on the bioluminescence of firefly luciferase. *Biophysical Journal*, 66, 2107–2110.
- Veras, R. N., Souza, A. O., Souza, M. V., & Nascimento, A. C. (2018).** Screening of extracellular hydrolytic enzymes produced by bacteria isolated from coral reefs of Cabo Branco Beach, Brazil. *F1000Research*, 7, 1704. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16652.1>
- Villa, F. A., Lieske, K., & Gerwick, L. (2009).** Selective MyD88-dependent pathway inhibition by the cyanobacterial natural product malyngamide F acetate. *European Journal of Pharmacology*, 629, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.12.002>
- Wang, L., Chi, Z. M., Wang, X. H., Liu, Z. Q., & Li, J. (2007).** Diversity of lipase-producing yeasts from marine environments and oil hydrolysis by their crude enzymes. *Annals of Microbiology*, 57, 495–501.
- Wang, Y., Xu, Y., Wei, X., Bai, J., Dong, S., & Zhang, L. (2021).** Bioactive metabolites from marine-derived actinomycetes and their potential in pharmaceutical applications. *Frontiers in Microbiology*, 12, 670142. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.670142>
- Wetzel, R. G. (1983).** *Limnology* (2nd ed.). CBS College Publishing.
- Xu, J., Kjer, J., Sendker, J., Wray, V., Guan, H., Edrada, R., Lin, W., Wu, J., & Proksch, P. (2009).** Chromones from the endophytic fungus *Pestalotiopsis* isolated from the Chinese mangrove plant *Rhizophora mucronata*. *Journal of Natural Products*, 72, 662–665. <https://doi.org/10.1021/np800748u>

## Référence Bibliographique

---

**Yayanos, A. A. (1995).**Microbiology to 10,500 meters in the deep sea.*Annual Review of Microbiology*, 49, 777–805.  
**Yakimov, M. M., Timmis, K. N., & Golyshin, P. N. (2007).***Obligate oil-degrading marine bacteria.* *Current Opinion in Biotechnology*, 18(3), 257–266.  
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.04.006>

**Zhao, H. L., Chen, X. L., Xie, P., Zhou, M. Y., Gao, X., & Zhang, X. Y. (2012).**Elastolytic mechanism of a novel M23 metalloprotease pseudoalterin from deep-sea *Pseudoalteromonas* sp. CF6-2: Cleaving not only glycol bonds in hydrophobic regions but also peptide bonds in hydrophilic regions involved in cross-linking. *Journal of Biological Chemistry*, 287(4), 2717–2725. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.405076>

**Zhang, X., Sun, X., Wang, Y., & Zhang, Y. (2019).**Marine bacteria as potential sources of novel antimicrobial agents.*Marine Drugs*, 17(4), 234.<https://doi.org/10.3390/md17040234>

# **Annexes**

## Annexes

---

### Annexe1:Composition des milieux de cultures:

#### Milieux d'identification :

##### Sea water agar :

- ❖ Extrait de bœuf 10g
- ❖ Peptone 10g
- ❖ Agar 20g
- ❖ L'eau du robinet 250ml
- ❖ Eau de mer 750ml
- ❖ pH 7.8

##### Bouillon nutritif:

- ❖ Peptone 10g
- ❖ Extrait de viande 4g
- ❖ NaCl 5g
- ❖ Eau distillée 1000ml
- ❖ pH 7,2
- ❖ Stérilisation 20 minutes à 120°C

##### Gélose nutritive:

- ❖ Peptone 10g
- ❖ Extrait de viande 4g
- ❖ NaCl 5g
- ❖ Agar 13g
- ❖ Eau distillée 1000ml
- ❖ pH 7,2
- ❖ Stérilisation 20 minutes à 120°C

##### Gélose marine

- ❖ Poudre broth agar 37.4g
- ❖ eau destilé 100ml
- ❖ agar 9g
- ❖ pH 7,2

## Annexes

---

### Milieu de base non sélectif pour la culture des bactéries (antibiogramme) Muller

#### Hinton :

- ❖ Infusion de viande de bœuf 300 mL
- ❖ Peptone de caséine 17,5g
- ❖ Amidon de maïs 1,5g
- ❖ Agar 17g
- ❖ Eau distillée 1000ml
- ❖ pH 7,4
- ❖ Stérilisation 20 minutes à 120°C

### Milieux pour tests enzymatiques

#### La gélose au lait écrémé :

- ❖ Peptone 10 g
- ❖ NaCl 5 g
- ❖ Extrait de levure 03 g
- ❖ Agar 20 g
- ❖ Eau distillée 100 mL
- ❖ Lait écrémé stérile 5ml
- ❖ pH 7
- ❖ Stérilisation 20 minutes à 120°C

#### La gélose à la cellulose:

- ❖ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g
- ❖ MgSO<sub>4</sub> 0.25 g
- ❖ Cellulose 2 g
- ❖ Gélatine 2g
- ❖ Agar 18g
- ❖ Eau distillée 1000ml
- ❖ PH 7
- ❖ Stérilisation 20 minutes à 120°C

#### La gélose à l'amidon:

- ❖ Peptone 10 g

## Annexes

---

- ❖ NaCl 05 g
- ❖ Extrait de levure 03 g
- ❖ Agar 20 g
- ❖ Eau distillée 100 mL
- ❖ Amidon 1g
- ❖ pH 7
- ❖ Stérilisation 20 minutes à 120°C

### Annexe 2: Les Colorants Violet

#### de Gentiane :

- ❖ Violet de Gentiane 1g
- ❖ Ethanol 10ml
- ❖ Phénol 2g
- ❖ Eau distillée 100 ml

#### La solution de lugol:

- ❖ Iodure de potassium 2g
- ❖ Iode métalloïde 1g
- ❖ Eau distillée 100ml

#### La solution de fuchsine:

- ❖ Fuchsine basique 10g
- ❖ Phénol 50g
- ❖ Ethanol 100 ml
- ❖ Eau distillé 1 L

#### La solution de lugol:

- ❖ Iodure de potassium 2g
- ❖ Iode métalloïde 1g
- ❖ Eau distillée 100ml

#### La solution de fuchsine:

- ❖ Fuchsine basique 10g
- ❖ Phénol 50g
- ❖ Ethanol 100 ml
- ❖ Eau distillé 1 L

## Annexes 3 : Les photos



Figure : l'isolement M2et M5et M1 sur milieu sea water agar.

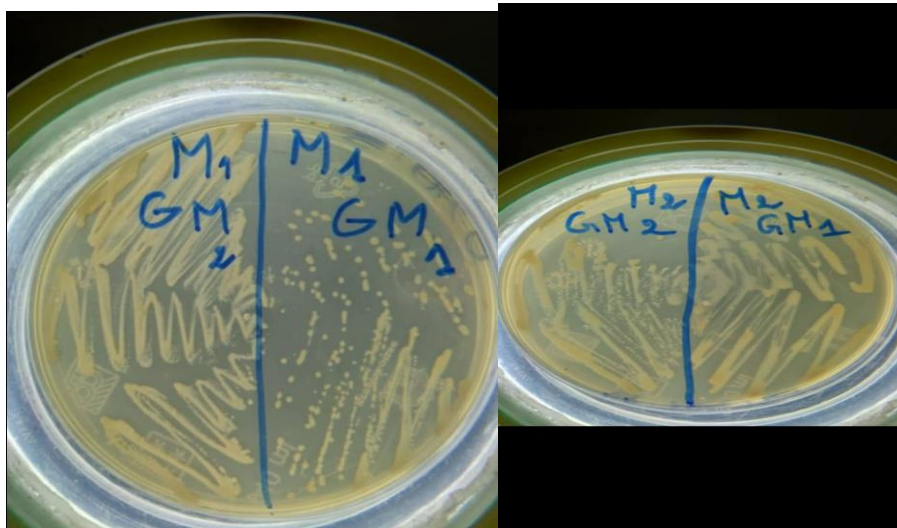
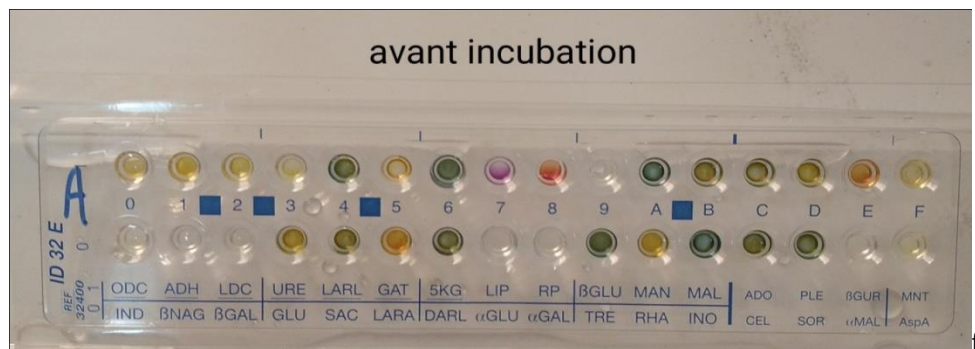
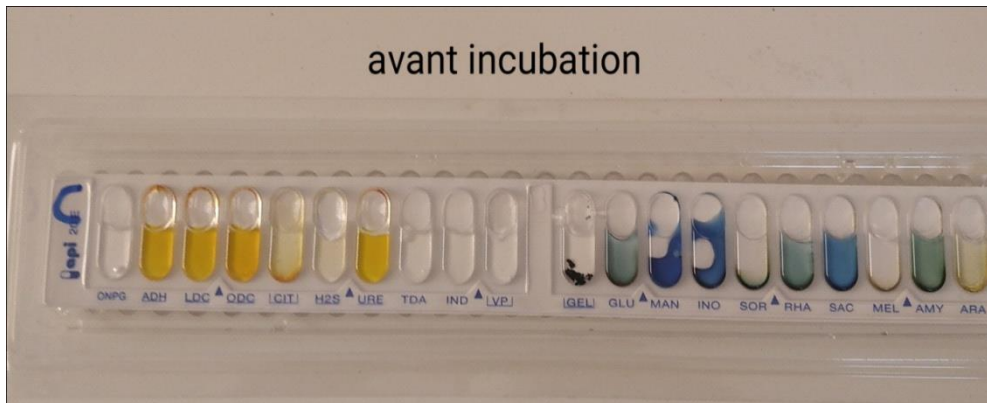
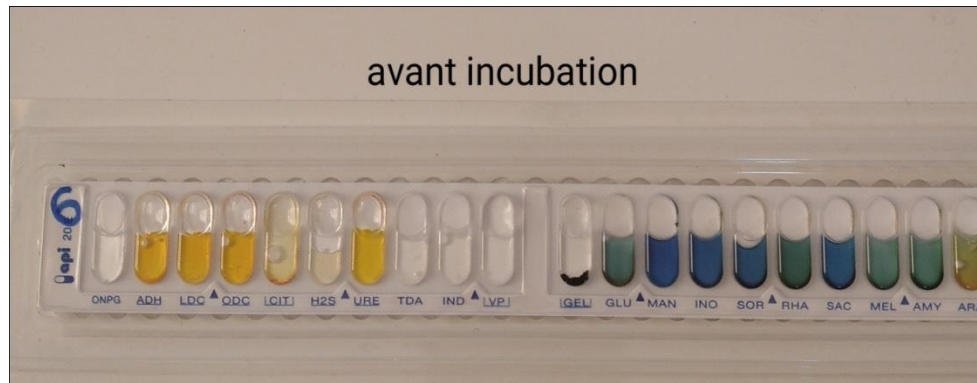


Figure ; l'isolement M1et M2sur gélose marine



Figure : l'isolement M5 sur gélose nutritif



**Figure :** la galerie api 20 E et 32 E avants l'incubation



**Figure :** les résultats de la galerie api 20 E et 32 E avec les réactifs.



**Figure** : Présentation de la bouteille Niskin employée pour le prélèvement d'échantillons d'eau de mer.