

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie Microbiologie



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention de diplôme de Master
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie Microbienne
Thème

Potentiels biotechnologiques des Bactéries Halophiles

Travail réalisé par :

Mlle : BOUDJEMAI Ania

Devant le jury :

President : Mlle ASMANI K.

Maitre de conference A à l'UMMTO

Promoteur : Mr OUELHADJ A.

Maitre de conférences A à l'UMMTO

Examineur : Mme BEN AZZOUZ K.

Maitre de conference A a l'UMMTO

Année universitaire : 2019 - 2020

Table des matieres

Listes des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

	Pages
1. Introduction générale.....	1
2. Historique.....	3
3. Taxonomie	4
4. Diversité et phylogénétique	5
4.1. Eucaryotes halophiles.....	7
4.2. Archeae halophiles.....	7
4.3. Bactéries halophiles	8
4.3.1. Phylum Proteobacteria.....	8
4.3.2. Phylum Firmicutes.....	8
4.3.3. Phylum Actinobacteria.....	9
4.3.4. Phylum Spirochètes	9
4.3.5. Phylum Bacteroidetes	10
5. Les microorganismes halotolérants et halophiles.....	9
6. Environnements hypersalins	11
6.1. Environnements thalassohalins	12
6.2. Environnements athalassohalins	12
6.3. Sols salés	15
7. Physico-chimie des milieux hypersales.....	15
7.1. Température	15
7.2. Oxygène	16
7.3. pH.....	16
8. Adaptation de microorganismes halophiles et halotolérants à la salinité.....	17
8.1. Mécanisme type KCl ou Halobacterial.....	17
8.2. L'osmorégulation.....	18
9. Diversité métabolique des halophiles	20
10. Structure et composition des bactéries halophiles	22
10.1. Paroi cellulaire	22
10.2. Enveloppe cellulaire	22
10.3. Les lipides et la membrane cytoplasmique.....	23
10.3.1. Structure et comosition	23

10.4. Enzymes et Protéines.....	24
10.5. Les ribosomes et leur structure	26
11.Métabolisme des bacteries halophiles.....	27
12. La distinction entre les Halobacteries et les autres procaryotes.....	30
13. Biotechnologie des bactéries halophiles.....	31
13.1. Production d'exopolysaccharide	31
13.1.1 Les exopolysaccharides et l'agroalimentaire.....	31
13.1.2.Les exopolysaccharides et la santé	32
13.1.3. Les exopolysaccharides en cosmétiques et en Dermo/cosmétique.....	33
13.2. Production d'Enzymes	35
13.2.1 Amylases	36
13.2.2. Protéases	37
13.2.3. Xylanases	38
13.2.4. Cellulases	38
13.2.5. Estérases et Lipases	39
13.2.6. Nucléases H.....	40
13.2.7. Les β galactosidases	40
13.2.8. Glycosylhydrolases.....	40
13.3. Fermentation des aliments.....	40
13.4. Biodégradation.....	41
13.5. Biolixiviation	42
14. Autres applications.....	42
15. Bacteriorhodopines.....	43
15.1. Importance de la bacteriorhodopines	44
16. Production de substances antibactériennes	44
16.1. Anibiotiques de nature proteiques	44
16.1.1. Bacteriocines.....	44
16.1.1.1. Historique.....	44
16.1.1.2. Definition	45
16.1.1.6. Interets et applications	45
16.1.2. Halocines	45
16.1.2.1.. Definition	45
16.1.2.3.. Interets et applications	45
Conclusion	47
Références bibliographiques	48

Remerciements:

Avant tout je remercie **ALLAH**, le miséricordieux, le tout puissant et le plus clément qui nous aide et nous donne le courage de tout faire.

Ce travail est l'aboutissement d'un long chemin au cours duquel j'ai bénéficié de l'encouragement et du soutien de plusieurs personnes.

Je suis particulièrement reconnaissante aux membres du jury d'avoir accepté de juger mon travail.

Je tiens à remercier plus particulièrement mon promoteur **Mr Ouelhadj Akli** d'avoir proposé ce sujet de mémoire et de m'avoir permis de mener à bien ce travail grâce à son soutien de chaque instant, sa générosité, ses conseils et sa gentillesse. J'ai eu vraiment un grand honneur de travailler sous sa direction.

Ma plus profonde reconnaissance s'adresse aux Professeurs et Docteurs : **Mme Asmani K**, **Mr Bouacem K**, **Mr Bouazza B**, **Mme Ben Azzouz**, pour leur enseignement de qualité dont ils m'ont fait profiter durant mes études à l'université.

J'adresse également mes remerciements à mes chers camarades, amis et collègues d'avoir cru en moi et de m'avoir booster à finir ce travail.

Je n'oublierai jamais d'adresser ma parfaite gratitude et tendresse à ceux qui me sont les plus chers : mes parents, sans leur encouragements et leur soutiens ce mémoire n'aurait jamais pu être réalisé.

Merci

Résumé

Les espèces microbiennes qui se développent dans des environnements hypersalés sont parmi les modèles les plus fascinants pour l'isolement de nouvelles biomolécules fonctionnelles dans des conditions extrêmes, et hautement stables (antibiotiques, bactériocines, bacteriorhodopsines, osmoregulateurs, enzymes etc...). Leur résistance à ces conditions leur confère des caractéristiques étonnantes, ce qui révèle un véritable atout biotechnologique.

Le milieu des halophiles sont divisés en Thalassohalins et Athalassohalins. Ces microorganismes vivant en ces milieux rencontrent différentes difficultés pour cela ils ont développé plusieurs stratégies adaptatives dont le Mécanisme type KCl ou Halobacterial et l'Osmorégulation.

L'utilisation des bactéries halophiles en bioindustrie a ouvert la voie vers une biotechnologie future, Ils représentent donc une source potentielle de molécules nouvelles actives qui peuvent être utilisées dans plusieurs domaines : médical, pharmaceutique, alimentaire, agronomique et industriel.

Mots clés : Environnements hypersalés, Halophiles, Halocines, Bactériocines, Intérêts biotechnologique.

Liste des figures

	Pages
Figure 1 : Arbre phylogénétique universel issu d'une analyse comparative des séquences de gènes ribosomiaux	5
Figure 2 : Habitats thalassohalins. Marais salants de Costa Blanca en Espagne (à droite) et à San Francisco au USA (à gauche).....	12
Figure3 : Habitats athalassohalins. Le Grand Lac Salé Utah aux USA (à gauche en haut), le Lac Magadi au Kenya (à gauche en bas) et le Lac Rose Salé au Sénégal (à droite).....	13
Figure 4 : Pseudo-sables très salés et sodiques de la lunette d'el Mabtouh (basse vallée de la Medjerda)	15
Figure 5 : Sols salés et sodiques des sebkhas en Tunisie	15
Figure 6 : Stratégie « Salt-in »	18
Figure 7 : Stratégie « Salt-out »	18
Figure8 : Structures des glycolipides caractéristiques des genres d'haloarchaea.	24
Figure9 : Dégradation du glucose et du fructose chez les Archaea halophiles	29
Figure 10 : Potentiel des exopolysaccharides dans différents domaines de l'agroalimentaire ..	32
Figure 11 : potentiel des exopolysaccharides dans différents domaines de la sante.	33
Figure 12 : potentiel des polysaccharides en cosmétique et en dermo-cosmétique	35

Liste des tableaux

Pages

Tableau I: comparaison entre les Archaeateries, Eubacteries, eucaryotes.....	6
Tableau II: Différentes catégories des bactéries halophiles	10
Tableau III: Différentes catégories des bactéries halotolérantes	11
Tableau IV: Composition chimique de milieux hypesralés Ahalassoalins et Athalassoalins.....	14
Tableau V: Solutés compatibles accumulées par les microorganismes halophiles.....	20

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNr : Acide désoxyribonucléique ribosomal

ARNr : Acide ribonucléique ribosomal

ARN : Acide ribonucléique

ATB : Antibiotiques

pH : Potentiel hydrogène

LUCA : Dernier ancêtre commun universel

USA : United states

EPS : Exopolysaccharides

UV : Ultraviolet

Synthèse bibliographique

1. Introduction

Les formes de vie sur Terre sont innombrables, comme les environnements qui les abritent. Jusqu'au 20^{ème} siècle, on pensait que la vie n'était possible que dans un environnement «normal», c'est-à-dire là où les conditions sont compatibles avec la vie de l'homme. Puis, les chercheurs ont commencé à trouver des organismes qui survivent dans des conditions hors de ces normes, dans des milieux caractérisés par des conditions physiques et/ou chimiques extrêmes (Peduzzi et al. 2006).

Les organismes qui se développent dans ces biotopes "hostiles" sont globalement qualifiés d'extrêmophiles (Costenaro, 2001). Les premiers organismes extrêmophiles isolés font partie des organismes halophiles, découverts dans un environnement qu'on croyait dépourvu de vie, d'où son nom: la Mer Morte. Ces organismes vivent dans des concentrations de sels très élevées (Garcia, 2002).

Un domaine plus prospectif mais prometteur consiste en la caractérisation d'enzymes halophiles, permettant la mise en œuvre de biocatalyses dans des milieux où les enzymes commerciales ne possèdent que de faibles stabilités ou activités (Feuga, 1997). La recherche sur les enzymes hydrolytiques des organismes halophiles a été frayée par Nordberg et Hofsten à la fin des années 60 (Nordberg et Hofsten, 1969). Depuis, un nombre considérable d'efforts a été consacré à l'évaluation des enzymes extracellulaires produites par les bactéries modérément halophiles puis leur utilisation dans des processus biotechnologiques (Ventosa et al., 1998; Govender et al., 2009).

La plupart des producteurs halophiles d'hydrolases a été assignée à la famille des Halomonadaceae. Elle inclue des membres producteurs de cellulases, d'amylases, de xylanases, de protéases et de lipases (Sánchez-Porro et al., 2003a; Govender et al., 2009; Rohban et al., 2009). En outre, une partie des enzymes dérive de souches bactériennes isolées des lacs natronés et des marais salants provenant des environnements athalassohalins d'où leur polyextrêmophilie, en raison de leur adaptation à de hautes concentrations salines et au pH alcalin. Elles sont souvent thermostables (Moreno et al., 2009). Ces propriétés ont fait des enzymes halophiles d'excellents candidats pour différentes applications biotechnologiques car elles pourraient catalyser des réactions dans des conditions dures, typiques de nombreux processus industriels (Setati, 2010).

Ces dernières années, la recherche sur la biodiversité microbienne des environnements hypersalins s'est multipliée. Le nombre des études visant une compréhension approfondie de ces écosystèmes comme le Grand lac salé, Utah (USA), la Mer Morte, les marais salants de plusieurs pays et les lacs alcalins à savoir le Lac Magadi à Kenya s'est considérablement développé (Alessandro et al., 2006).

Notre travail est structuré comme suit : les environnements salins et hypersalins, les microorganismes halophiles qu'ils hébergent, leurs diversités métabolique et phylogénétique, leur adaptation osmotique aux fortes salinités et leurs applications biotechnologique.

2. Historique

Au XVII^e siècle, Antoine Von Leen Wenhook Utilisa un simple microscope pour découvrir que nous vivons dans un monde microbiens inaperçu contenant une population très diverses (Jeffrey et melvin, 1996).

Avec l'importance croissante accordée au monde microbiens et les méthodes de plus en plus performantes mise pour détecter la vie microbienne, il est maintenant possible de dire que presque tous les environnements de la planète contiennent la vie et que même les endroits les plus inhospitaliers contiennent des micro-organismes (Kunzel, 2003)

L'histoire des extremophiles commença à la fin du XIX^e siècle alors qu'on découvre les premiers organismes halophiles, (du grec halo, sel), isolés dans un environnement hyper salé qu'on croyait dépourvu de vie (Oren, 1988). Ces organismes peuvent vivre dans des concentrations de sel très élevé tels que les lacs salés. Les chercheurs ne se sont pas beaucoup intéressé à ces organismes car les moyens d'investigation de l'époque n'était pas suffisamment développé pour permettre de faire la lumière sur la structure et le fonctionnement de ces minuscules amateurs du sel jusqu'à la découverte à la fin des années 1970 par Carl woese et collaborateurs du troisième domaine du vivant : celui des Archaea auquel ils appartiennent (Fox et al. 1977 ; Woese et Fox, 1977).

Ces archaeobacteries avaient des caractéristiques cellulaires différentes de celle connues chez les eubactéries et les eucaryotes (Brown et Doolittle, 1997).

La découverte de ces organismes dans des environnements particuliers à dès lors déclencher une sorte de chasse aux extremophiles. Après quelques années ces recherches ont abouti à la découverte d'une diversité inouïe, complètement inattendu, dans des milieux supposés hostile à la vie (Burg, 2003).

L'étude des extremophiles sur Terre peut fournir des paramètres utiles dans la recherche de la vie n'importe où dans l'univers. Des espèces qui se développent dans des environnements hyper salés sont parmi les plus fascinant modèle pour étudier des mécanismes de survie loin de notre planète (DasSama, 2006).

En outre, les extrémophiles ne sont pas nécessairement des Archaeobactéries et toutes les Archaeobactéries ne sont pas toutes extrémophiles. Rien indique donc que les Archaeobactéries aient pu jouer un rôle prépondérant dans l'évolution que ne l'auraient faits d'autres procaryotes. Rien ne prouve aussi que l'origine de la vie se trouve dans les sources hydrothermales, même si l'hypothèse est séduisante. Beaucoup de ses hypothèses séduisantes ne cadrent pas l'idée que l'ARN aurait précédé l'ADN. Mais rien ne prouve non Plus que ce soit la bonne hypothèse.

Aujourd'hui quand on parle de l'ancêtre commun LUCA on ne sait toujours pas vraiment qui pouvait-il bien-être ?

3. Taxonomie :

Les termes « halobactérie ou haloarchaea » correspondent aux membres d'archaea halophiles extrêmes aérobies de la famille des Halobacteriaceae, de l'ordre des Halobacteriales formée par Grant & Larsen (1989).

La connaissance des haloarchaea a commencé avec la formation de deux genres Halobacterium et Halococcus. Ils constituent un groupe monophylétique où la majorité des espèces ont des valeurs de 83,2 % de similitude des séquences d'ADNr 16S, indiquant une diversité génomique (Wright, 2006).

Les méthanogènes sont le groupe d'archaea le plus étroitement lié aux halobactéries (Olsen et al., 1994) avec des valeurs de similitudes des séquences d'ADNr 16S de l'ordre de 80 %. La diversité phylogénique des archaea halophiles extrêmes excède de beaucoup tout ce qui a pu être envisagé il y'a à peine une quinzaine d'années. Dans la seconde édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 14 genres ont été décrits (Grant et al., 2001).

Il est probable que la diversité des haloarchaea soit plus étendue que le nombre de genres décrits, si on considère les non cultivables. La comparaison des séquence des gènes 16S d'ARNr et l'analyse des lipides polaires membranaires sont actuellement utilisées comme clés de différenciation entre les membres des halobactéries (Kamekura, 1998, 1999b ; Kamekura et al., 2004).

La composition des lipides polaires de la membrane a longtemps été utilisée comme un des principaux critères chimiotaxonomiques de différenciation des genres d'Archaeobactéries halophiles (Ross et al., 1985 ;kamekura et kates, 1999).

La taxonomie des halobacteria fondée sur la composition des lipides polaires s'est révélée cohérente avec les données phylogénétiques déduites de la comparaison des séquences d'ARNr 16S (Grant et al. 2001).

4. Diversité et phylogénétique

À la fin des années 1970 Carl Woese et ses collègues ont révolutionné la phylogénie en comparant l'évolution conservée des petites sous unités (16S et 18S) des séquences d'ARN ribosomal. Sur la base de ces comparaisons, toutes les formes de vie peuvent être classées en trois domaines : Archaea, Bacteria et Eucarya.

L'augmentation de la salinité s'accompagne d'une réduction de la diversité des communautés microbiennes (Oren, 2002a).

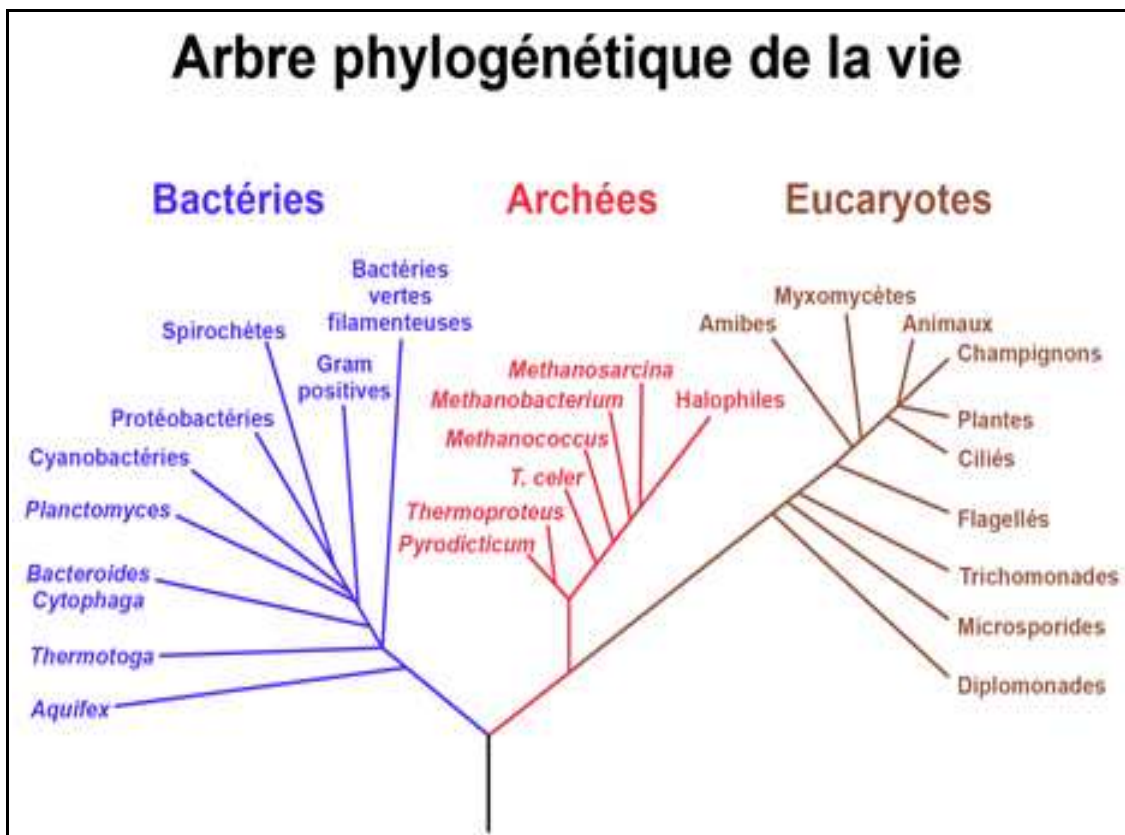


Figure 1: Arbre phylogénétique universel issu d'une analyse comparative des séquences de gènes ribosomiaux (Oren, 2002).

Le domaine des Archaea comprend trois phyla : les Crenarchaeota Euryarchaeota et récemment proposé les Korarchaeota. Leur position profondément enraciné dans l'arbre universel indique que les Archaea sont relativement proches des organismes procaryotes originaux à partir desquels toute la vie est présumée avoir évoluée.

Un premier temps, les crenarchaeota ont été considérés comme étant le plus souvent thermophiles (incapable de croître à des températures inférieures à 60°C) mais la découverte récente des Archaea dans les environnements tels que les eaux de surface des océans indique que ce règne est plus varié qu'on ne le pensait.

Les Euryarchaeota comprennent les méthanogènes, les halophiles extrêmes et les thermophiles extrêmes tels que les *Archaeoglobus* et *Thermococcus* (Woese, 1994).

Tableau I: Comparaison entre les Archaeas, Eubactéries, eucaryotes (Woese et al, 1990).

Caractéristiques	Archaeobactéries	Eubactéries	Eucaryotes
Taille de la cellule	Environ 1 micromètre	Environ 1 micromètre	Environ 1 micromètre
Membrane cellulaire	Néant	Néant	Présent
Membrane nucléaire	Néant	Néant	Présent
ARN de transfert : présence de thymine dans le bras commun	Absente	Présente dans la plupart des ARN de transfert de la plupart des espèces	Présente dans la plupart des ARN de transfert de la plupart des espèces
Longueur l'ARN (16S, 18S) approximative	1500 nucléotides	1500 nucléotides	1800 nucléotides
Ribosomes : taille des sous unités	30S - 50S	30S - 50S	40S - 60S
Lipides des membranes	Chaînes aliphatiques ramifiées avec des liaisons éther 2900 nucléotides	Chaînes aliphatiques ramifiées avec des liaisons éther 2900 nucléotides	Chaînes aliphatiques linéaires avec des liaisons éther 3500 nucléotides
Réaction avec le chloramphénicol	Pas de réaction	Positive	Pas de réaction

4.1. Eucaryotes halophiles

Dans le domaine Eucarya, les halophiles sont rares. En fait, le seul microorganisme eucaryote d'importance, et presque ubiquitaire dans les environnements à hautes concentrations en sel, est l'algue verte *Dunaliella*. Certains membres de *Dunaliella* synthétisent de grandes quantités de β -carotène dans des conditions appropriées, une propriété exploitée dans des opérations biotechnologiques. *Dunaliella* est halotolérante plutôt que strictement halophile: la plupart des souches se développent sur une large gamme de concentrations en sel (jusqu'à 1M). On rencontre également dans ces environnements un crustacé du genre *Artemia* (*Artemia salina*, *Artemia franciscana*) (Oren, 2002a).

Les moisissures, longtemps négligées dans la recherche des halophiles, contiennent un certain nombre de représentants halophiles faibles et modérés tels que **Cladosporium**, **Aspergillus** et **Penicillium spp.** (Gunde-Cimerman et al., 2000; 2005; Kis-Papo et al., 2003) et les levures noires *Hortaea werneckii*, *Phaeotheca triangularis* et *Aureobasidium pullulans* (Zalar et al., 1999; Gunde-Cimerman et al., 2000). Des protozoaires flagellés ont été observés dans des étangs artificiels (Cho, 2005).

4.2. Archaea halophiles

Les halophiles du domaine Archaea appartiennent à trois familles: **Halobacteriaceae**, **Methanospirillaceae** et **Methanosarcinaceae**. Les deux dernières familles contiennent également des membres non halophiles (Yachai, 2009).

La famille des Halobacteriaceae (haloarchaea ou halobactéries) de l'ordre des Halobacteriales est composée entièrement de membres halophiles extrêmes et aérobies. Les représentants de cette famille se développent dans des environnements où la concentration saline est très élevée ($\approx 5M$) et dont leur optimum de croissance varie de 3,4 à 4,2M (20-25%, p/v)

Ils exigent la présence de sel pour leur croissance. Leur paroi cellulaire, ribosomes et enzymes sont stabilisés par l'accumulation de KCl (Yachai, 2009). Une caractéristique physiologique intéressante est la présence, chez certaines espèces d'halobactéries, d'un photopigment membranaire (la bactériorubérine) qui permet la production d'ATP, quand la teneur en oxygène dans le milieu extérieur est trop faible. Ce composé formé d'une protéine (bactériorhodopsine) associée à un photopigment semblable à un caroténoïde (rétinal) est responsable de la couleur rouge des saumures (Oren, 2002a).

4.3. Bactéries halophiles

Les microorganismes aérobies, hétérotrophes, halophiles et halotolérants du domaine Bacteria forment un groupe phylogénétique très hétérogène. Ils sont inclus dans 5 phyla: **Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Spirochaetes et Bacteroidetes.**

4.3.1. Phylum Proteobacteria

Le phylum **Proteobacteria** a été proposé par Garrity et al. (2005) sur la base de l'analyse phylogénétique des séquences du gène codant l'ARNr 16S. Ce phylum contient cinq classes de bactéries à Gram négatifs: Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria (ou Deltabacteria) et Epsilonproteobacteria (Brenner et al., 2005).

Les microorganismes appartenant à ce phylum sont très ubiquitaires et hétérogènes, avec des propriétés physiologiques diverses. Ils peuvent être isolés de divers environnements comprenant des habitats marins, hypersalins, alcalins et acides. La famille des Halomonadaceae (Franzmann et al., 1988) de la classe Gammaproteobacteria contient le nombre le plus important d'espèces halophiles modérées. Ces dernières ont été isolées de plusieurs habitats différents, à savoir, les lacs hypersalins et/ou alcalins, sols salins, environnements hydrothermiques, gisements de pétrole, etc. (Kim et al., 2010).

Cette famille comprend également trois genres de bactéries halophiles extrêmes apigmentées (Maturrano, 2006; Sorokin et al., 2006a) dont une des espèces a été isolée de la sebkha Ezzemoul en Algérie (Kharroub et al., 2006a). La famille des Alteromonadaceae (Ivanova et Mikhailov, 2001) inclut des protéobactéries halophiles modérées. Le genre *Marinobacter* (Gauthier et al., 1992) est le plus important dans cette famille.

4.3.2. Phylum Firmicutes

Les membres du phylum Firmicutes sont hautement divers aux niveaux morphologique et physiologique et sont capables d'habiter une grande variété d'environnements, tels que les habitats hypersalins.

La famille des Bacillaceae appartenant à ce phylum est la plus importante avec 21 genres incluant des espèces halophiles obligatoires (Ludwig et al., 2008) dont *Halobacillus* est considéré comme le genre le plus important. La plupart des études physiologiques réalisées sur ce genre a été focalisée sur l'espèce type, *Halobacillus halophilus*.

Plusieurs approches ont démontré l'importance du chlorure non seulement pour la croissance de cette bactérie mais également pour la motilité et la synthèse flagellaire, la germination des endospores, la régulation d'une variété de protéines et le transport de l'osmoprotecteur glycine bêtaïne (Roeler et Müller, 1998; 2002; Dohrmann et Müller, 1999; Roebler et al., 2000).

4.3.3. Phylum Actinobacteria

La classe Actinobacteria constitue l'un des principaux groupes du domaine Bacteria (Ludwig et Klenk, 2001) répartie en 48 familles (Zhi et al., 2009). Elle contient des bactéries halophiles incluses dans l'ordre des Actinomycetales (Stackebrandt et al., 1997; Zhi et al., 2009).

4.3.4. Phylum Spirochètes

Quatre espèces modérément halophiles des Spirochètes ont été décrites, toutes appartenant au genre Spirochaeta. Il s'agit de Spirochaeta halophila (Greenberg et Canale-Parola, 1976), des espèces holoalcaliphiles (Spirochaeta africana et Spirochaeta alkalica) et de Spirochaeta asiatica (Zhilina et al., 1996).

4.3.5. Phylum Bacteroidetes

Le phylum Bacteroidetes se compose de trois classes Bacteroidia, Flavobacteria et Shingobacteria (Garrity et Holt, 2001). Ces dernières incluent des espèces halophiles faibles et modérées (Denger et al., 2002; Donachie et al., 2004; Nedashkovskaya et al., 2005) et uniquement quatre espèces halophiles extrêmes aérobies et pigmentées: Salinibacter ruber (Antón et al., 2002), Salinibacter iranicus, Salinibacter luteum (Makhdoumi-Kakhki et al., 2012) et Salisaeta longa (Vaisman et Oren, 2009).

5. Les microorganismes halotolérants et halophiles

Les halophiles et les halotolérants présentent une grande diversité phylogénétique. On les trouve dans les trois domaines du vivant : Archaea, Bacteria et Eucarya (Oren, 2002).

Les microorganismes qui peuvent se développer en absence aussi bien qu'en présence du sel sont qualifiés d'halotolérants et ceux qui sont capables de se développer approximativement au-dessus de 15% (p/v) (2,5M) de NaCl sont considérés comme extrêmement halotolérants (DasSarma, 2001).

De nombreuses définitions ont été données dans la littérature pour qualifier les termes halotolérant et halophile. La distinction entre les différents types a été faite en se basant sur les seuils de concentrations de sels requises ou tolérantes.

Le terme « Halophile » désigne les bactéries nécessitant la présence de sel (NaCl) dans le milieu pour leur croissance. En revanche, le terme « halotolérant » signifie que les bactéries tolèrent différentes concentrations en sel durant leur croissance. Les bactéries nécessitant moins de 1 % (p/v) de sel pour une croissance optimale ne sont pas considérées comme halophiles.

Larsen (1962) proposa quatre groupes de bactéries halophiles, par contre Kushner (1993) proposa une classification de bactéries halophiles en fonction de leur réponse au NaCl, en se basant sur leur croissance maximale. Cinq groupes ont été définis motionnés dans le tableau ci-dessus.

Les bactéries halotolérantes ont une croissance meilleure dans les milieux qui contiennent une concentration de sel <0,2 M (-1%) mais peuvent aussi tolérer des concentrations élevées en sel (Yoon et al., 2003).

Tableau II: Différentes catégories des bactéries halophiles selon les définitions de Larsen (1962) et de Kushner (1993).

	Classification de Larsen (1962)		Classification de Kushner (1993)
Catégories	NaCl	Catégories	NaCl
Les non-halophiles	<2%	Les non-halophiles	~1%
Les halophiles-légères	2 à 5%	Les halophiles légères	1 à 3%
Les halophiles modérées	5 à 20%,	Les halophiles modérés	3 à 15%
Les halophiles extrêmes	20 à 30%	Les halophiles à bord extrêmes	9 à 23%
		Les halophiles extrêmes	15 à 32%

Il est difficile d'établir des limites qui définissent l'halophilisme et l'halotolérance car de nombreux facteurs comme la température, la concentration et la présence et la nature de nutriments disponibles aussi la présence des autres sels modifient considérablement la réponse des microorganismes au NaCl (Kushner, 1993 et Ventosa et al ; 1998).

Comme exemple, pour l'espèce *Halomonas halophila*, concentration saline optimale de croissance est de 5% à 22 % alors qu'elle est de 7,5% lorsque la température varie de 32 à 42 C°(Quesada et al ., 1987)

Tableau III : Différentes catégories des bactéries halotolérantes (Tiquila et al., 2006)

Catégories	NaCl
Légèrement halotolérantes	6 à 8%
Modérément halotolérantes	18 à 20 %
Les halotolérantes extrêmes	0 à 30%.

6. Environnements hypersalins

Deux types d'environnements peuvent avoir le sel comme facteur agissant sur les populations microbiennes :le sol et l'eau.

La vie microbienne peut être trouvée sur un éventail extrême de concentrations en sel; passant de l'eau douce (contenant moins de 0,5 g/l de sel dissous), à l'eau de mer et enfin aux environnements hypersalins (Oren, 1999).

Les eaux marines constituent le plus grand biome sur notre planète avec une concentration en sel autour de 35g/l, et les environnements hypersalins ont été définis comme ceux ayant des concentrations salines au-dessus de celle-ci (Oren, 1999; Gerday et Glansdorff, 2007).

Les environnements hypersalins sont divisés en thalassohalins et athalassohalins.

6.1. Environnements Thalassohalins

Beaucoup d'environnements hypersalins proviennent de l'évaporation de l'eau de mer, favorisée par un écoulement restreint, une température élevée, de basses précipitations... etc et thalassohalins (du grec thalasso, la mer), leurs sels minéraux sont dans les mêmes proportions que celles contenues dans l'eau de mer, tant que les seuils de précipitation ne sont pas atteints (McGenity et al., 2000; Oren, 2002a; 2006).



Figure 2 : Habitats thalassohalins. Marais salants de Costa Blanca en Espagne (à droite) et à San Francisco au USA (à gauche) (Falb et al., 2005).

6.2. Environnements Athalassohalins

Les eaux athalassohalins proviennent de la dissolution d'évaporites par l'eau, cas de la Mer Morte. Ces environnements ont une composition ionique saline différente de celle de l'eau de mer. (McGenity et al., 2000; Oren, 2002a; 2006).

Cependant, une des différences les plus importantes entre les plans thalassohalins et athalassohalins est le pH. Comme mentionné précédemment, les eaux thalassohalines sont légèrement plus alcalines que l'eau de mer à partir de laquelle elles ont été établies. Cela est principalement dû à la précipitation des carbonates de calcium en excès sous forme de calcite. Dans les systèmes athalassohalins, les eaux sont typiquement déficientes en Ca^{2+} et Mg^{2+} ainsi, le système tend à générer un pH acide (Grant et McGenity, 1998).

Les proportions des différents sels de ces eaux sont nettement différentes de celle de l'eau de mer (Tableau4). Leur composition ionique est influencée par celle des roches où l'ion magnésium prédomine (Greetchen, 2006 ; Ventoza et al., 2008)



Figure3 : Habitats athalassohalins. Le Grand Lac Salé Utah au USA (à gauche en haut), le Lac Magadi au Kenya (à gauche en bas) et le Lac Rose Salé au Sénégal (à droite) (Falb et al.,2005).

Tableau IV : Composition chimique de milieux hypesralés thalassoalins et athalassoalins
(Gerday et Glansdorff, (2007).

Ions	Environnements					
	Mer morte	Mer	Grand lac salé (USA)	Lac natrum (Egypt)	Lac magadi (Kenya)	Lac salé El Goléa (Algerie)
Na⁺	40,10	10,60	105	142	46	107
K⁺	7,70	0,38	6,70	2,30	0,06	Nd
Mg²⁺	44	1,27	11	<1	<1	0,30
Ca²⁺	17,20	0,40	0,30	<1	<1	0,40
Cl⁻	225	18,90	181	155	14	198
Br⁻	5,30	0,065	0,20	Nd	Nd	Nd
SO₄²⁺	0,50	2,65	27	22,60	Nd	Nd
HC O₃⁻ ou CO₃⁻	0,20	0,14	0,70	67,00	34,90	Nd
pH	6,10	8,10	7,70	>11,50	>11,50	9,0

6.3. Sols salés

Les sols sont considérés comme salins lorsqu'ils contiennent un excès en sels solubles, dans la plupart comprenant les chlorures, les sulfates et les bicarbonates de sodium, de calcium et de magnésium, leur salinité est supérieure à 0,2% (p/v) (Ghasseni et al., 1995).

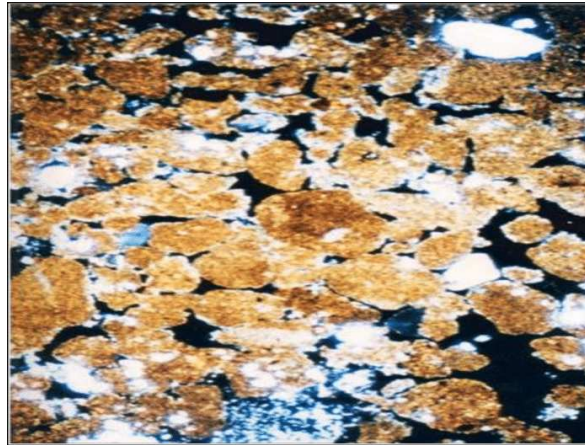


Figure 4: Pseudo-sables très salés et sodiques de la lunette d'el Mabtough (basse vallée de la Medjerda) (Hachicha, 2007)



Figure 5 : Sols salés et sodiques des sebkhas en Tunisie (Hachicha, 2007)

7. Physico-chimie des milieux hypersales

Les écosystèmes hypersalés (marais, lacs continentaux hypersalés) montrent une assez large variabilité en leur pH, leur composition chimique et la concentration en sels dans la plupart de ces écosystèmes, ce sont les ions Na^+ et Cl^- qui prédominent en solution comme l'ont montré des études sur le Grand Lac Salé (Coton et al., 2004).

7.1. Température

Les lacssalés sont le plus souvent, trouvés dans les régions arides tropicales, mais il existe dans des régionstempérées et mêmepolaires. Latempérature des lacs continentaux peut énormément varier durant l'année ; ainsi la température de la région du Grand Lac Salé varie de -30°C en hiver a $+48^\circ\text{C}$ en été. (Post, 1981).

La grande majorité de la flore halophile et mésophile ou thermotolérante leur température de croissance est comprise entre 45 et 50°C (Imhoff et Triiper, 1977, Lippert et al., 1993). A l'inverse, certaines bactéries halophiles isolées des lacs hypersalés de l'antarctique sont psychrophiles, mais celles-ci restent une exception (Mac Meekin et Franzmann, 1988, Parry et al., 2002).

La thermotolérance de certains organismes du domaine des Eubacteria peut s'expliquer par la présence de solutés, comme la bêtaïne qui protège les enzymes de la chaleur (Bonaterra et al., 2005). Bien que mésophiles, des algues halophiles du genre *Dunaleilla* résistent à des températures élevées ; cette résistance est attribuée à la présence de glycérol intracellulaire qui permet une stabilisation enzymatique (Borowitzka, 1981, Irena et al., 1999).

7.2. L'oxygène

Les systèmes hypersalés sont des environnements anoxiques en dehors de la surface des eaux, car les températures élevées et les fortes salinités limitent la solubilisation de l'oxygène et engendrent des zones favorables à la prolifération d'une flore anaérobie (Por, 1980).

Paradoxalement l'aérobiose est assez largement représentée à la surface de ces environnements.

Aussi l'agitation des eaux de surfaces par le vent permet l'aération et donc la disponibilité de l'oxygène pour les microorganismes aérobies (Litchfield et al., 1998).

Dans les lacs contenant les cyanobactéries l'oxygène produit est transféré à la population aérobie environnante.

7.3. Le pH

Plusieurs lacs (Lac Big Soda, Lac Mono, Lac Soap) du grand bassin de l'ouest des Etats unis, dont la salinité varie de 89 à 100g/l, sont alcalins (pH entre 9 et 10) ; le Grand Lac Salé UTAH ou la Mer Morte qui contiennent des concentrations en sels totaux de plus de 330g/l ont des pH proches de la neutralité. Grant et Ross, proposèrent en 1986 une hypothèse qui permet d'expliquer les valeurs de pH observés dans ces milieux : la précipitation du calcium sous forme de carbonate de calcium (CaCO_3) et celle du magnésium sous la forme de sépiolite ($\text{MgSi}_3\text{O}_8\text{nH}_2\text{O}$) influencent le pH final du milieu car la formation de la sépiolite

gène des ions H^+ et la précipitation du carbonate supprime l'alcalinité du milieu (DasSarma et Arora, 2002).

8. Adaptation de microorganismes halophiles et halotolérants à la salinité

Toutes les bactéries halophiles font partie de la famille d'Halobacteriaceae, qui comprend deux genres, Halobacterium et Halococcus. Leur environnement « normal », ce sont les lacs naturels à haute salinité, comme la Mer Morte en Israël et le Grand Lac Salé aux Etats-Unis. Ces grandes étendues d'eau sont soumises à une intense irradiation solaire, qui est la deuxième caractéristique de l'environnement naturel des bactéries halophiles. Ces conditions sont extrêmes pour les autres organismes, qui périssent et constituent des éléments nutritifs pour les organismes Halophiles. Ces milieux complexes sont à l'origine des caractéristiques métaboliques des espèces isolées qui dans la plupart des cas ne sont pas capables de croître sur des milieux simples, par exemple, sur des carbohydrates. (Gibbons, N. E. 1974)

Les microorganismes vivant en milieux salins et hypersalins rencontrent différentes difficultés qui sont la déshydratation, le stress osmotique et la faible activité d'eau, pour cela ils ont développé plusieurs stratégies adaptatives. Ils présentent de ce fait un répertoire de voies métaboliques et de biomolécules originales leur permettant non seulement de survivre dans ces conditions, mais aussi de se développer souvent de manière optimale.

De ce fait pour être capable de vivre à haute concentration de sels et puisque toutes les membranes biologiques sont perméables à l'eau, les microorganismes halophiles et halotolérants doivent maintenir leur cytoplasme en iso-osmose avec le milieu extérieur.

Pour atteindre cet équilibre osmotique deux stratégies existent, elles sont basées sur le principe de créer une haute pression osmotique dans le cytoplasme tout en gardant une faible concentration en ions sodium (Na^+) (Oren, 2002), en l'expulsant grâce à un antiport Na^+/H^+ localisé au niveau de la membrane cytoplasmique (Oren, 2001).

8.1. Mécanisme type KCl ou Halobacterial :

Stratégie adoptée par des groupes phylogénétiquement différents. Ce mécanisme implique le maintien d'une grande concentration ionique intracellulaire, où K^+ est en concentration interne supérieure à la concentration en Na^+ externe, c'est ce qu'on appelle mécanisme type KCl ou Halobacterial de prévention de choc osmotique, par transport d'ions à travers la membrane par des pompes ioniques. L'exclusion du Na^+ du cytoplasme se fait grâce à un antiport Na^+/H^+ , localisé au niveau de la membrane cytoplasmique (Oren, 2001).

Ainsi, la concentration en sels intracellulaires (KCl) est considérée comme un agent osmorégulateur (Kushner, 1985). L'ensemble des mécanismes intracellulaires vont fonctionner en présence d'un taux élevé de salinité (Dennis et Schimmin, 1997).

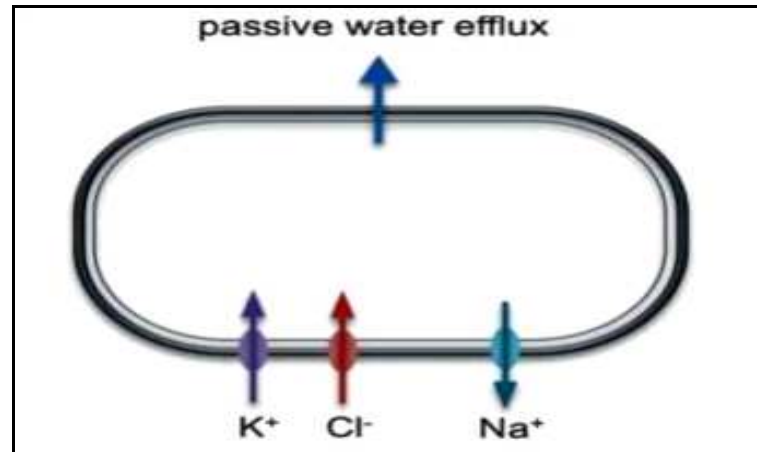


Figure 6 : Stratégie « Salt-in » (Bergmann, 2015)

8.2. L'osmorégulation :

La deuxième stratégie d'haloadaptation est basée sur la biosynthèse et/ou l'accumulation de solutés organiques compatibles. Deux opérations au coût énergétique élevé pour la bactérie qui optera généralement pour le transport au lieu de la synthèse de ces composés organiques dissous les «osmolytes » s'ils sont déjà présents dans le milieu. Les cellules qui utilisent cette stratégie excluent le plus de sels possible de leur cytoplasme. Les solutés compatibles sont des molécules organiques très hydrosolubles qui n'interagissent pas avec les protéines et n'interfèrent pas, même à forte concentration (>1M), avec les fonctions cellulaires vitales (Sleator et Hill, 2002)

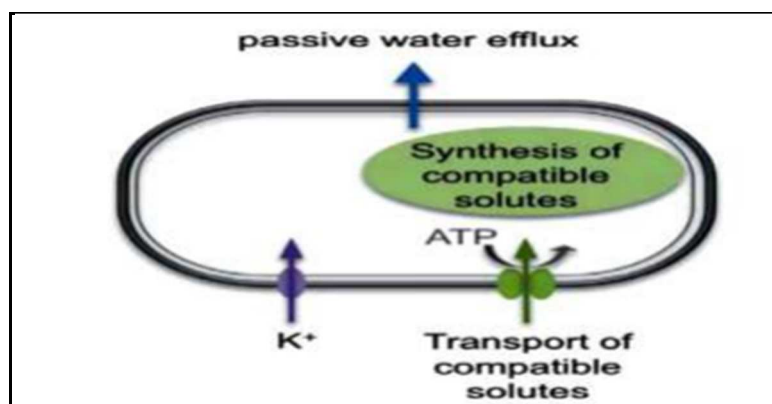


Figure 7 : Stratégie « Salt-out » (Bergmann, 2015)

Ces composés agiraient comme des chaperons chimiques en aidant les protéines cytoplasmiques à conserver leur état de compaction (Streit, 2008 ; Bourot et al., 2000). L'accumulation de solutés compatibles en réponse à un choc hyper-osmotique stabilise la structure des protéines en améliorant l'état d'hydratation et de compaction, participe au maintien de la pression de turgescence en augmentant le volume cellulaire (Canovas et al., 2000).

Il est important de noter que la stabilisation de la structure des protéines grâce à l'action des solutés compatibles a pour effet d'augmenter la tolérance vis-à-vis du sel mais aussi vis-à-vis d'autres facteurs de stress comme la chaleur, la congélation et la dessiccation (Lipper et Galinski, 1992 ; Welsh, 2000).

Le tableau ci-dessus résume la diversité des solutés compatibles accumulés par des microorganismes halophiles. La nature des solutés compatibles accumulés par une bactérie dépend du niveau de présence de ces composés (ou de leur précurseurs) dans le milieu extérieur, de l'existence de systèmes de transport (ou de synthèse) d'osmoprotectants adéquats et de l'intensité du stress osmotique auquel elle doit faire face (Galinski, 1995 ; Beumer et al., 1994).

Chez d'autres bactéries, ce sont les acides aminés ou dérivés et les sucres qui prédominent. L'osmoprotecteur le plus fréquemment observé est la glycine-bétaïne (Courtenay et al., 2000), utilisé par de nombreux genres : *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Lactobacillus* etc. (Rudulier et Bernard, 1986 ; Hutchins et al., 1987 ; Csonka, 1989 ; Smith et al., 1990).

Le *Desulfo vibrio halophilus* accumule la glycine-bétaïne et le tréhalose (Welsh, 1996 ; Caumette et al., 1997). Les cyanobactéries des sédiments hypersalins comme *Aphanothece halophytica*, l'utilise ainsi que le glucosylglycérol comme solutés compatibles, pour tolérer des salinités jusqu'à 5 M/L (Das Samara, 2001).

La plupart de ces bactéries accumulent la glycine bêtaïne par absorption active, en revanche, chez les microorganismes eucaryotes halophiles du genre *Dunaliella*, il y a élaboration du glycérol à partir de ses réserves en amidon (DasSarma, 2001). Les voies de biosynthèse des solutés organiques, à l'exception de celle de la glycine bêtaïne, dérivent de la synthèse du glutamate et de l'aspartate (Caumette, 1998).

Tableau V : Solutés compatibles accumulées par les microorganismes halophiles.

Microorganismes	Solutés accumulées	Références
Micro algues	Sucre Glycérol Proline Manitole Glycine-betaines Dimethylsulfonio propionate	Grenway et stetter, 1979 Brown, 1976 Ahmad et Hellebust, 1984 Blunden et al., 1992
Champignons	Glycérol Arabitol Sorbitol tréhalose	Meikle et al., 1988 Larsson et al., 1990
Cyanobactéries	Sucrose / trehalose Glycosylglycerol Glycine betaine	Reed et al.,1993
Bactéries phototrophes	Sucrose – trehalose Glycines betaine hydroxycetoine	Welsh et al., 1993
Bactéries sulfacto-réductrices	Trehalose Glycine betaine	Welsh et al., 1996
Bactéries hétérotrophes	Glutamate Proline N-acetylgluminyloglutamine Amide Glycine betaine Actoine / hydroxycetoine Trehalose	Welsh et al., 2000
Actinomycètes	Actoine / hydroxycetoine Trehalose Proline, Glutamine, Alanine	Killham et Firestone, 1984
Archaeobactéries	Glycine betaine B-glutamate	Robertson et al., 1990

9. Diversité métabolique des halophiles

La diversité phylogénétique dans les environnements hypersalins s'accompagne d'une diversité métabolique. De nombreux processus métaboliques ayant lieu dans les niches écologiques à faible teneur en sel ne se produisent pas au-dessus de 100 à 150 g/l (Oren, 2011).

La plupart des microorganismes halophiles et halotolérants décrits sont des hétérotrophes aérobies. Dans les environnements avec des concentrations en sel jusqu'à 200-250 g/l, les représentants de bactéries sont responsables de la majeure partie de l'activité hétérotrophe. Aux fortes salinités, les groupes comme les Halomonadaceae ne fonctionnent plus et la dégradation aérobie des composés organiques est assurée par deux groupes de procaryotes: Halobacteriaceae (Archaea) et *Salinibacter* (Bacteria) (Oren, 2006).

D'autres modes métaboliques existent aussi tels que la respiration anaérobie dont les accepteurs finaux d'électrons utilisés incluent non seulement le nitrate et le sulfate, mais aussi des composés non communs comme l'arséniate et le séléniate. Ce mode est utilisé par plusieurs membres modérément halophiles de la famille des Halomonadaceae (Ventosa et al., 1998).

Certaines Archaea halophiles (*Haloarcula marismortui*, *Haloarcula vallismortis*, *Haloferax mediterranei*) peuvent croître également de façon anaérobie sur le nitrate s'il est présent, en formant le nitrogène gazeux et/ou le protoxyde d'azote (Mancinelli et Hochstein., 1986). Des halophiles fermentatifs sont inclus dans des groupes disparates.

Les Archaea de la famille Halobacteriaceae sont fondamentalement des aérobies en utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons. Cependant, quelques espèces peuvent se développer en anaérobiose par la dénitrification ou en utilisant l'énergie lumineuse absorbée par la bactériorhodopsine.

Les espèces du genre *Halobacterium* peuvent se développer dans des conditions anaérobies à l'obscurité tout en puisant leur énergie par fermentation de l'arginine avec la production de l'ornithine, de l'ammoniaque et du dioxyde de carbone (Hartmann et al., 1980). Un autre représentant des Halobacteriaceae qui se développe probablement par la fermentation est *Halorhabdus tiamatea*, isolé d'un bassin anoxique hypersalin profond de la Mer Rouge. Il se développe seulement sur des substrats complexes mais aucun mode de fermentation n'a été constaté (Antunes et al., 2008).

La fermentation est utilisée par des halophiles fermentatifs classés principalement dans les deux familles, Halanaerobiaceae et Halobacteroidaceae (Rainey et al., 1995), en plus de quelques procaryotes fermentatifs du phylum Firmicutes (*Clostridium halophilum*) (Antunes et al., 2009).

10. Structure et composition des bactéries halophiles.

10.1. Paroi cellulaire

L'organisation de la paroi cellulaire des halophiles ne contient ni acide muramique, ni acide diaminopimelique (Brown & Chao, 1970 ; Wieland, 1988).

La paroi d'*Halococcus* est constituée par des polysaccharides. Elle est formée d'une seule couche rigide de 50 nm d'épaisseur et qui n'est pas désintégrée en solution salines diluées. Elle contient le glucose, le mannose, le galactose, la glycine, le glutamate, le glucosamine, galactosamine (Reistad, 1972) et un acide rare, le 2-amino-2-desoxyglucuronique (Reistad, 1974).

La surface des halobacilles (haloarchées de forme bacillaire) est caractérisée par un assemblage de sous unités hexagonales de glycoprotéines de 17.5 nm d'épaisseur organisées en une unique couche régulière à la surface de la cellule et liées à des groupes sulfates (Larsen, 1963).

Elle est fermement attachée à la membrane plasmique d'où l'absence d'espace périplasmique (Baumeister & Lembcke, 1992). Sa masse molaire a été estimée à 200 kDa et contient 10 à 12% de carbohydrates.

Les protéines contiennent un excès d'acides aminés acides chargés négativement (environ 35 % de glutamate et d'aspartate) (Werber, 1980), ce qui favorise l'hydratation de la paroi et l'augmentation de la solubilité des nutriments (Wieland, 1988).

L'exposition des haloarchées à des solutions salines de plus en plus diluées entraîne une lyse cellulaire. Les bâtonnets donnent des sphères qui ne tardent pas à éclater lorsque la concentration en NaCl atteint 10 % (p/v).

10.2. Enveloppe cellulaire

La plupart des espèces du genre *Halobacterium* prennent la forme de bâtonnets malgré l'absence de couche peptidoglycane rigide. D'autre part, il a été démontré qu'ils ont une paroi cellulaire externe. Quand les halobactéries sont progressivement transférées dans un milieu à concentration saline plus basse, leur apparence de bâtonnet change et elles deviennent sphériques, avant de lyser. Ces changements sont accompagnés par la destruction de l'enveloppe externe. Le principal composant de cette enveloppe est une glycoprotéine de poids moléculaire très élevé qui contient 10 à 12% de carbohydrates. Cette protéine est extrêmement acide (35 moles % d'aspartate et de glutamate non corrigé pour amides).

L'enveloppe forme une matrice structurale à la surface cellulaire et maintient la forme de bâtonnet de ces bactéries, la structure et la voie biosynthétique de cette glycoprotéine ressemblent fort à celles de glycoprotéines des cellules eucaryotes et suggèrent une origine commune dans des cellules primitives existant avant la divergence des eucaryotes et des procaryotes (Mescher, Strominger 1978)

10.3. Les lipides et la membrane cytoplasmique

10.3.1. Structure et composition

Le caractère le plus distinctif des membranes des Archaea en général, est la nature de leurs lipides. Ils diffèrent de ceux des eucaryotes et des bactéries. Ils possèdent des chaînes hydrocarbonées ramifiées liées au glycérol par des liaisons éthers plutôt que par des acides gras connectés par des liaisons esters. Les liaisons éthers sont plus résistantes que les liaisons esters à l'effet de la température, à l'oxydation et à la dégradation enzymatique.

Les lipides neutres sont entièrement des dérivés isoprénoïdes, groupés en 4 classes, isoprénoïdes C₂₀ (géranylgeraniol et rétinol), isoprénoïdes C₃₀ (squalène), isoprénoïdes C₄₀ (lycopène, néo--carotène et néo--carotène), isoprénoïdes quinones de type ménaquinones et non de type ubiquinones (MK-8 et MK8H₂) et C₅₀ (bactériorubérine) (Collins et al., 1981).

Il est trouvé que chez *Halobacterium cutirubrum*, cette biosynthèse est inhibée par la bacitracine (Basinger et Olivier, 1979).

Halobacterium salinarum qui est capable d'effectuer une forme unique de photosynthèse, possède deux types de composants de la membrane cellulaire, la membrane rouge et la membrane pourpre. La membrane rouge est le site de la respiration, et doit sa

couleur essentiellement à la présence de caroténoïdes. A basse pression d'oxygène et luminosité intense, cette espèce développe au niveau de la membrane rouge des zones de membranes pourpres. Ce type de membrane est constitué, outre de lipides, essentiellement de la protéine bactériorhodopsine.

Les glycolipides sont présents spécialement chez les membres neutrophiles (Kamekura et Kates, 1999) et comprennent un triglycosyl sulfaté (S-TGD-1) comme glycolipide majeur et de nombreux glycolipides mineurs (Kates, 1978).

Le groupe de glycolipides mineurs comprend un triglycosyl, archaeol galactosyl-mannosyl-glucosyl (TGD-1) ; tétraglycosyl sulfaté (S-TeGD) et sa forme désulfaté (TeGD) ; un triglycosyl, archaeol glucosyl-mannosyl-glucosyl (TGD-2) ; un diglycosyl (TGD-2) ; un diglycosyl sulfaté, mannosyl-6-sulfate-glucosyl (S-DGD-1) et sa forme sans sulfate (DGD-1) ; un second diglycosyl sulfaté, archaeol mannosyl-2-sulfate-glucosyl (S-DGD-3) et un diglycosyl bisulfate (S2-DGD)

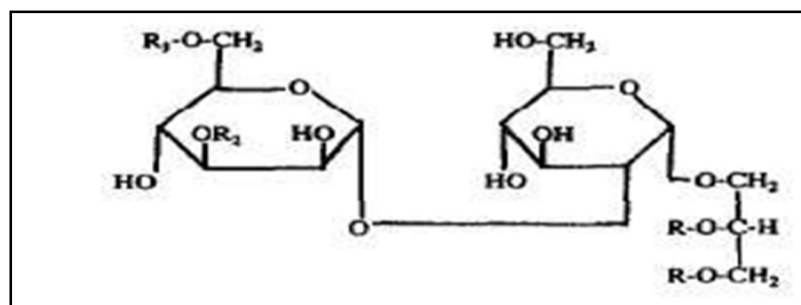


Figure8: Structures des glycolipides caractéristiques des genres d'haloarchaea (Kates, 1996).

Genus:

Halobacterium	(7)	S-TGA-1 ,	R₁ = 3-SO₃-β-GALp	R₂ = H
Halobacterium	(7A)	TGA-1 ,	R₁ = β-GALp	R₂ = H
Halobacterium	(8)	S-TeGA ,	R₁ = 3-SO₃-β-Galp	R₂ = α-Galf
Halobacterium	(8A)	TeGA-2 ,	R₁ = β-Galp	R₂ = α-Galf
Haloarcula	(9)	TGA-2,	R₁ = β-Glep	R₂ = H
Haloferax	(10)	S-DGA-1 ,	R₁ = - SO₂OH	R₂ = H
Haloferax	(10A)	DGA,	R₁ = H	R₂ = H

R = phytanyl group

10.4. Enzymes et Protéines :

Les concentrations de sel élevées présentes à l'intérieur des halobactéries provoquent généralement la dissociation d'enzymes composées de sous unités, et ceci entraîne leur inactivation. Il était donc indispensable pour la survie de ces microorganismes que leurs protéines s'adaptent à l'environnement extrême. (Eiseuberg, et al., 1977).

En effet, les protéines halophiles non seulement tolèrent beaucoup plus de sel que les non-halophiles, mais, dans la plupart des cas, elles requièrent même le sel pour leur stabilité. Une des questions les plus intéressantes serait de découvrir la base moléculaire de la stabilité des protéines halophiles à des concentrations de sel élevées, car cela pourrait élucider les mécanismes d'adaptation en général. Plusieurs protéines, deux déshydrogénases et une 2Fe-ferrodoxine, ont été récemment isolées et purifiées à partir d'une halobactérie de la Mer Morte (Eiseuberg, et al., 1977).

Un examen de la composition en acides aminés a révélé que ces protéines contiennent environ 10-14 moles % de charges négatives en excès des charges positives, par rapport avec des protéines analogues d'organismes non-halophiles. Il est probable que ces charges négatives sont nécessaires comme mécanisme de défense qui leur permettrait de retenir une couche d'hydratation aux forces ioniques élevées. Étant donné que les groupes acides sont les plus efficaces en ce qui concerne la capacité d'hydratation, ils peuvent lier environ 6-8 molécules d'eau, par rapport à 3-4 dans le cas des groupes basiques, il est possible que, par sélection naturelle, des protéines négativement chargées se soient adaptées à leur environnement salin extrême.

En l'absence d'une telle densité de charge, la concentration élevée de sel aurait causé la déshydratation et la dénaturation des protéines (Werber, et al., 1978).

Les concentrations élevées de sel dont les enzymes halophiles ont besoin pour leur activité ne sont pas les mêmes que celles nécessaires à leur stabilité. Par exemple, la stabilité des déshydrogénases halophiles montre une dépendance uniforme vis-à-vis de la concentration de sel, alors que leur activité est optimale à 1 M, et décroît jusqu'à environ 40 % à 4 M. Il semble donc que tandis que les concentrations de sels élevées sont absolument nécessaires à la stabilité de ces enzymes, leur activité n'est pas maximale aux concentrations de sel présentes à l'intérieur de l'organisme (Eiseuberg, et al., 1977).

Les enzymes halophiles sont quand même beaucoup plus tolérantes que les non-halophiles en ce qui concerne leur activité. Il a été démontré que la baisse de concentration

saline provoque, non seulement l'inactivation des enzymes halophiles, mais aussi des changements drastiques de leur conformation. D'autre part, on a trouvé que les protéines halophiles sont généralement moins riches en groupes hydrophobes que les non-halophiles. Il est donc possible que les protéines halophiles aient besoin de concentrations salines élevées pour maintenir une forte proportion d'interactions hydrophobes entre les groupes, qui normalement aux concentrations de sel présentes dans les organismes non-halophiles ne forment pas ce genre d'interactions.

En baissant la concentration de sel on affaiblit les interactions hydrophobes provoquant ainsi des changements de conformation qui amènent à l'inactivation. D'autre part, a concentration de sel élevées (~4M), les déshydrogénases sont même stables a des températures trèsélevées : 601°C et plus (Leieht, et al., 1978).

On a suggéré que la présence de nombreux groupes acides qui donnent aux protéines halophiles leur forte densité de charges négatives constitue le mécanisme naturel de défense contre la dénaturaona des concentrations de sel élevées. Il est intéressant de noter dans ce contexte que quand on fixe a des enzymes normales des chaines contenant des groupes acides, on observe que ces enzymes sont beaucoup plus protégés contre les effets de dénaturaon thermique que quand les groupes fixés sont basiques (Goldstein, Woese, et al. 1977).

La protection contre la dénaturaon, observée dans ces deux systèmes totalement différents, pourrait donc avoir une origine commune l'hydratation préférentielle des groupes acides par rapport aux groupes basiques.

La découverte dans toutes les espèces d'*Halobacterium* d'une 2Fe-ferredoxine qui ressemble fort aux ferrédoxines de plantes suggèreoutre d'autres similarités entre *Halobacleria* et eucaryotes et que les halobacteries dérivent d'un ancêtre primitif commun aux eucaryotes et aux procaryotes. Il se peut même que les *Halobacleria* appartiennent a un nouveau domaine récemmentproposé d'archae-bactéries, qui contient les méthanogènes et qui est ami- voie entre les bactéries et les cytoplasmes eucaryotes (Gibbons, 1974).

Les enzymes halophiles, qui catalysent les réactions d'acides nucléiquesont une autre particularité. Elles sont toutes beaucoup plus petites (de 3 a 20 fois) que les enzymes correspondantes chez les non-halophiles. Il se peut que ce phénomène ne soit pas restreint aux enzymes des acides nucléiques, mais soit plus général pour les enzymes des halophiles extrêmes. Une explication possible de ce phénomène serait que les protéines halophiles

contiennent une large fraction de groupes polaires et que ceux-ci auraient une tendance à être concentrés à la surface. (Fir,1978).

10.5. Les ribosomes et leur structure

Les ribosomes des halophiles présentent quelques propriétés extraordinaires. La sous unité 70S requiert en plus du magnésium (0,1 M) entre 3 et 4 M de potassium pour sa stabilisation. Les tampons normalement utilisés dans les études de ribosomes provoquent la dissociation de la plupart des protéines et de l'ARN 5S dans le ribosome de l'halophile extrême *Halobacterium cutirubrum*. Une autre caractéristique est que la plupart des protéines des ribosomes halophiles sont acides, tandis que chez les non-halophiles elles sont surtout basiques (Bayley et Kushner, 1964). De plus, l'hydrophobicité des protéines ribosomales halophiles est beaucoup moins élevée que celle de bactéries normales, comme *E. coli*.

La comparaison de la séquence d'une certaine protéine ribosomale d'*E. Coli* et d'*Halobacterium cutirubrum*, et de deux halophiles modérés (croissance optimale entre 0,5-1 M de chlorure de sodium), a démontré qu'il y a entre 70 - 80% d'homologie entre les halophiles modérés et *E. coli*, tandis qu'il n'y a que 20 % d'homologie entre l'*E. Coli* et l'halophile extrême et 15 % entre ce dernier et les halophiles modérés, ce qui suggère que les halophiles modérés ne se trouvent pas sur la voie évolutionnaire entre les halophiles extrêmes et les non-halophiles (Bayley et Kushner, 1964).

D'autre part, il apparaît que dans le fragment N-terminal il existe une homologie entre l'halophile extrême et des espèces eucaryotes, par exemple des levures. Il y aurait donc au moins trois régions distinctes dans cette protéine :

- Des séquences communes à toutes les protéines ayant la même fonction.
- Des séquences uniques pour les procaryotes.
- Des séquences uniques pour les eucaryotes.

Il est possible qu'il existe aussi une région uniquement halophile, c'est à dire très riche en groupes acides. La conformation de cette protéine de l'halophile dépend de la concentration du sel dans le milieu et change drastiquement entre 1 et 2 M (Matheson et al., 1978).

Le modèle le plus stable obtenu pour le ARN 5S d'*H. Cutirubrum* est unique pour les halophiles extrêmes, et ne ressemble ni aux eucaryotes ni aux procaryotes.

Il se peut que cela reflète les changements de séquence dus à l'environnement de force ionique élevé. Mais il semblerait que certaines des propriétés de ce ARN seraient plus proches des eucaryotes que des procaryotes (Nazar et al., (1978)

11. Métabolisme des bactéries halophiles

Les haloarchaea sont des chimioorganotrophes, aérobies qui se développent mieux sur les acides aminés mais leur métabolisme est peu connu. En dépit de la réputation des haloarchaea à avoir une activité métabolique des sucres limitée, quelques espèces telles que *Halorubrum saccharovororum* (Tomlinson et Hochstein, 1972 ; Tomlinson et al., 1974), *Haloarcula vallismortis* (Gonzalez et al., 1978), *Haloferax mediterranei* (RodriguezValera et al., 1983) et *Haloferax volcanii* (Mullakhanbhai et Larsen, 1975) utilisent les sucres.

Les polysaccharides sont d'abord dégradés par des hydrolases extracellulaires spécifiques en oligosaccharides puis transportés à l'intérieur par des transporteurs de type ABC pour « ATP-binding cassette » où ils sont dégradés en monosaccharides.

Le glucose est oxydé par une modification de la voie d'Entner-Doudoroff .Le glucose 6-phosphate est absent et le premier intermédiaire phosphorylé est le 2-céto-3-désoxygluconate-6-phosphate qui est converti en pyruvate et en 3-phosphoglyceraldéhyde. Ce dernier est oxydé en pyruvate par les enzymes conventionnelles de la glycolyse. (Rawal et al., 1988 ; Johnsen et al., 2001 ; Verhees et al., 2003).

Chez *Halococcus saccharolyticus*, le glucose et le fructose sont dégradés par 2 voies différentes. Le premier via la voie modifiée d'Entner-Doudoroff (ED) et le second par une modification de la voie d'Embden Meyerhof (EM) (Johnsen et al., 2001).

Les enzymes intervenant dans les deux voix sont inductibles.

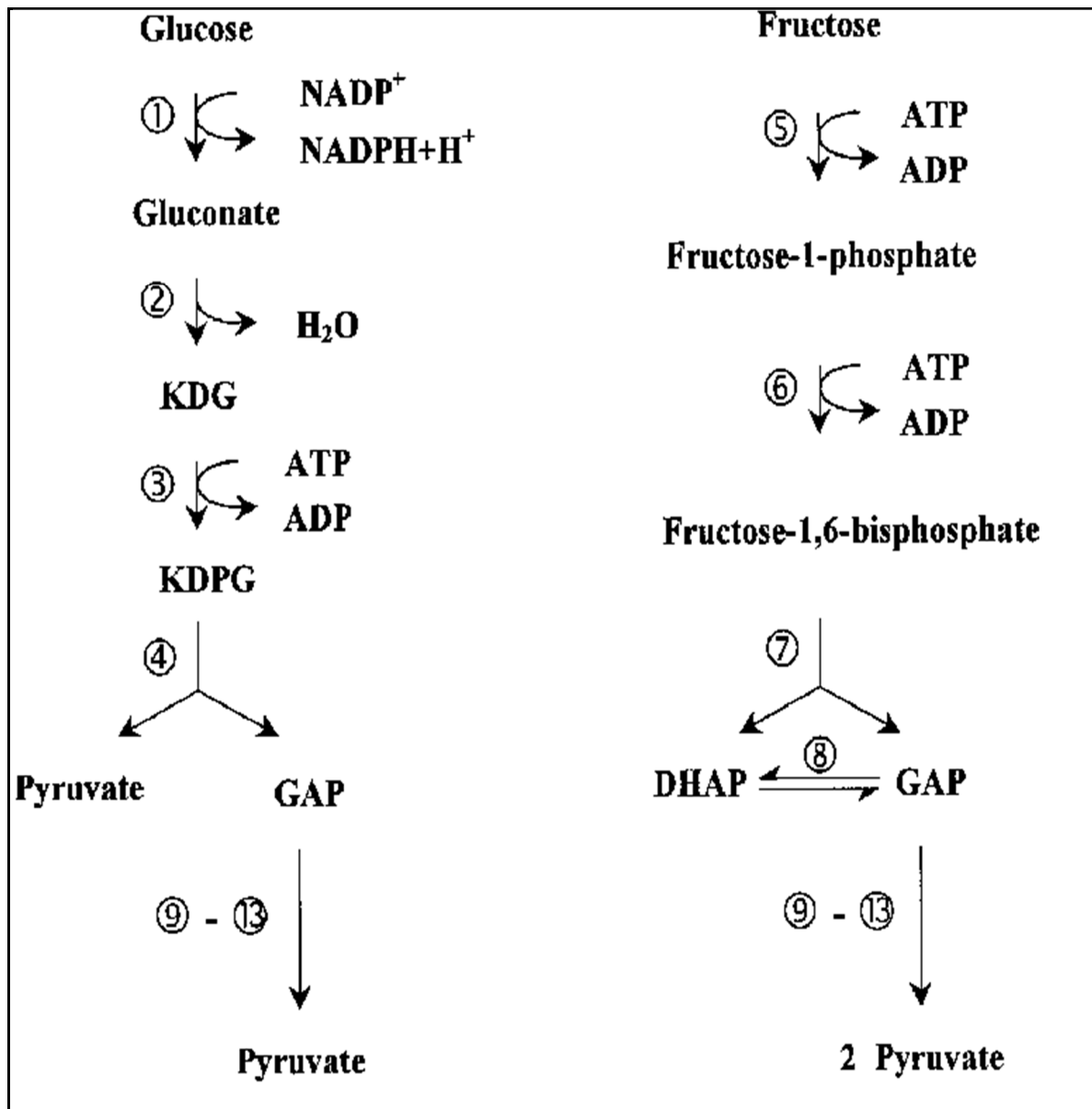


Figure9 : Dégradation du glucose et du fructose chez les Archaea halophiles (Johnsen et al., 2001) : 1. Glucose déshydrogénase ; 2. Gluconate déshydrogénase ; 3. 2-céto-3-désoxygluconate kinase ; 4. 2-céto-3-désoxy-6-phosphogluconate aldolase ; 5. Cétohexokinase ; 6. 1-phosphofructokinase ; 7. Fructose-1, 6-diphosphate aldolase ; 8. Triosephosphate isomérase ; 9. 3-phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase ; 10. 3phosphoglycérate kinase ; 11. Phosphoglycérate mutase ; 12. Enolase ; 13. Pyruvate kinase.

12. La distinction entre les Halobacteries et les autres procaryotes

Les halobacteries sont un groupe de microorganismes avec beaucoup de caractéristiques inhabituelles (Fendrihan et al., 2006).

Se distingue des autres procaryotes par les caractéristiques suivantes :

- La structure et la chimie de la paroi sont atypiques. On note par exemple, l'absence de peptidoglycane comme chez les Archaeobactérie, ce dernier est remplacé par une structure voisine : la pseudomureine, ce qui leur confère un caractère de résistance aux inhibiteurs agissant sur la paroi tel que ; la pénicilline (Browns et Cho, 1970 ; Kanlder et Hipo, 1977).
- On note également que la structure lipidique des membranes consiste en longues chaînes d'alcool isopréniques attachées au glycérol par les liaisons éther ce qui favorise leur résistance aux conditions extrêmes (température , salinité , Ph ...) alors que les autres organismes synthétisent les lipides de leurs membranes en assemblant deux chaînes d'acides gras avec molécules de glycérol par l'intermédiaire d'une liaison éther (Itoh et al., 2001 ; Litchfield et Oren, 2001).
- D'autrepart, le chromosome des Archaea est circulaire et de type bactérien mais il comporte des gènes en mosaïque similaires à ceux des eucaryotes. Quand aux protéines qui interviennent dans le processus de réplication de l'ADN, elles ressemblent à celles rencontrées chez les eucaryotes (Poplawski, 2000).
- Leur croissance à de forte concentration de NaCl, nécessite au moins 1.5 M (0.8%). La plupart possède une croissance optimale à 3.5- 4.5M (20.8 – 26.1%), d'autres peuvent supporter jusqu'à 5.2M (30%).
- Enfin, les Archaea se distinguent des Eubactéries et des Eucaryotes par leur métabolisme particuliers : La voie d'Embden Meyerhof des haloarchaea varie de celle des bactéries uniquement dans l'étape de formation du fructose-1-phosphate (Johnsen et al., 2001).

13. Biotechnologie des bactéries halophiles

Ces microorganismes constituent un outil performant pour les sciences fondamentales du fait qu'ils représentent un modèle unique de stabilité des biomolécules dans des conditions extrêmes de l'environnement (salinité excessive, haute températures et hautes pressions).

L'utilisation de ce type de microorganismes en bioindustrie a ouvert la voie vers une biotechnologie future. Ils représentent donc une source potentielle de molécules nouvelles actives (antibiotiques, bactériocines, bacteriorhodopsines, enzymes etc.....) qui peuvent être utilisées dans plusieurs domaines : médical, pharmaceutique, alimentaire, agronomique et industriel. (Jean Guézennec, 2014)

Ces dernières années un intérêt croissant est porté aux microorganismes halophiles. Leur utilisation est envisagée dans différents secteurs :

13.1. Production d'exopolysaccharides

Les microorganismes halophiles produisent des substances polymériques extracellulaires (EPS) qui ont d'excellentes propriétés rhéologiques et résistent à des températures, salinités, et pH extrêmes. Ces métabolites peuvent être utilisés en tant qu'agents émulsifiants et surfactants et ils ont une large application dans les industries et pharmaceutiques (Herbert, 1992).

13.1.1. Les exopolysaccharides et l'agroalimentaire

Peut-on envisager des applications sur ces polymères bactériens dans le domaine de l'agroalimentaire ? En théorie oui, considérant les propriétés rhéologiques de ses bio polymère, (pouvoir stabilisant, gélifiant, émulsifiant ou encore épaississant), les propriétés recherchées dans le secteur de l'industrie. Un grand nombre de polysaccharides bactériens d'origine marine possède des propriétés rhéologiques, comparables, voire supérieures à celle du xanthane ou du gellane Mais il est difficile à l'heure actuelle d'envisager leur développement pour ce seul secteur industriel.

La raison est principalement économique car les coûts de production des biopolymères marins restent actuellement sans aucune mesure avec ceux du xanthane et autres polysaccharides.

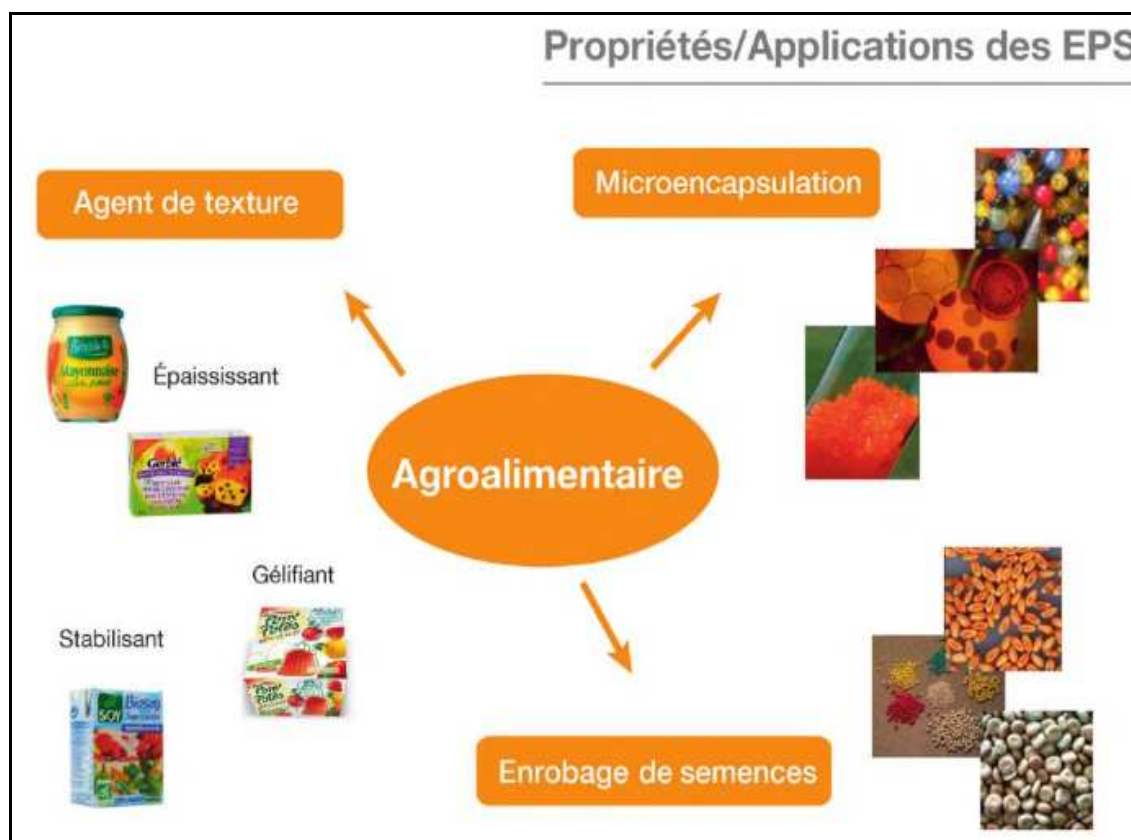


Figure 10: Potentiel des exopolysaccharides dans différents domaines de l'agroalimentaire.

(Jean Guézennec, 2014)

13.1.2. Les exopolysaccharides et la santé

Le potentiel des Exopolysaccharides bactériens et de leurs dérivés pour des applications en santé humaine est très large, allant du simple dispositif médical à la molécule thérapeutique en passant par les biomatériaux et la vectorisation de principes actifs. L'acide hyaluroniques bactérien en est un bon exemple pour des applications en chirurgie ophtalmologique, chirurgie esthétique, et médecine régénératrice. Le dextrane et la cellulose bactérienne, sont également couramment utilisés en médecine, les alginates bactériens ont des applications connues notamment chez les jeunes enfants pour des problèmes de reflux gastro-œsophagien.

Quant à l'héparine, il s'agit tout simplement de la molécule la plus utilisée pour ses propriétés anticoagulantes. Les sucres jouent un rôle essentiel dans l'organisme participant aux communications entre cellules et au fonctionnement du système immunitaire, luttant contre certains organismes pathogènes et pouvant freiner la progression de certains cancers, il est donc évident qu'ils constituent une cible privilégiée pour le développement de nouveaux

médicaments et approches thérapeutiques. Cette notion de glycobiochimie de < sucre médicaments > et l'utilisation de polysaccharides natifs et/ou modifier apparaissent comme un axe de recherche de plus en plus exploré par le monde médical et par la recherche pharmaceutique.

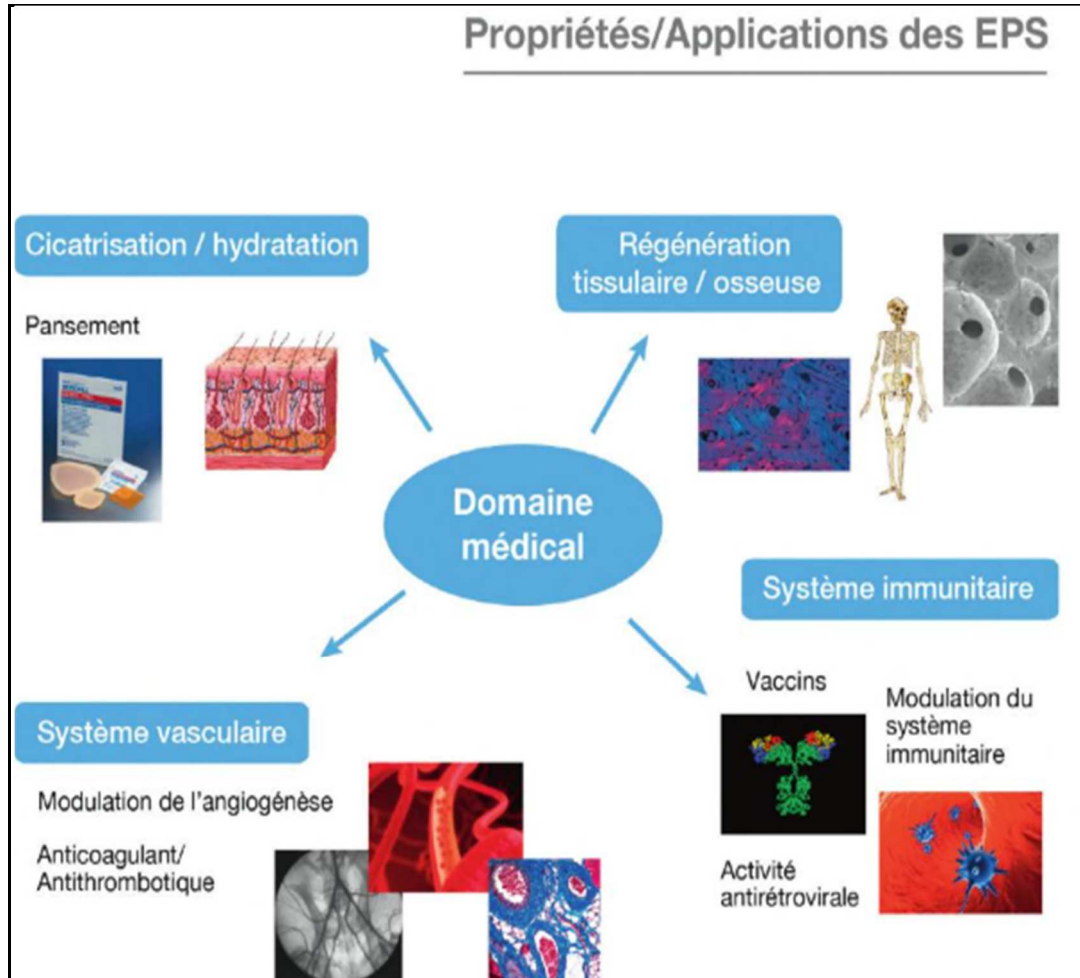


Figure 11: potentiel des exopolysaccharides dans différents domaines de la sante (Jean Guézennec, 2014)

13.1.3. Les exopolysaccharides en cosmétiques et enderмо/cosmétique

Il s'agit des secteurs économiques en forte croissance correspondant à une demande sociétale évolutive. La cosmétologie/Dermo-cosmétologie est un domaine toujours en quête de molécules innovantes, tant pour leurs histoires et origines que pour leurs propriétés physico-chimiques et leur efficacité. Le milieu marin se présente alors comme un domaine de recherche tout à fait en adéquation avec l'ensemble de ses critères.

Parmi les produits les plus recherchés, il y a naturellement les molécules anti-âge, (agent hydratant, raffermissant de la peau, lissage, antirides, réparation cellulaire, régénération des cellules dermique, protection contre les UV etc.). Ces produits anti-âge comprennent les vitamines pour plus de 50 % de ce marché : vitamines A, B5, C et E) mais aussi des polysaccharides acides hyaluroniques, chitosane et du Luc haine glucanes) pour plus de 20 %. A ses produits majoritaires, il convient d'ajouter les peptides et protéines, les enzymes et co-enzymes les extraits naturels et d'autres produits comme les hydroquinones, amino-acides, etc. A cet énorme marche vient également se joindre celui des systèmes de délivrance et libération contrôlées des actifs cosmétiques sous forme de nanoparticules nanoémulsions microcapsules et millicapsules ainsi que les patches.

D'autres pistes de développement sont envisageables qui utiliseraient la propriété de polysaccharides à fixer certains ions spécifiques (argents, cuivre, zinc, et titanes) intervenant par exemple dans le traitement de l'acné ou autres affections dermiques.

Bien que la classe de polysaccharides soit déjà bien représentée en cosmétique et dermo-cosmétique, la demande persiste pour de nouvelles molécules caractérisées par la diversité de leur provenances, l'originalité des unités saccharidiques et de leurs propriétés physico-chimiques, biologie et rhéologique permettant d'envisager des applications sous des formes galéniques variées. Les algues (brunes, rouges et vertes) constituent actuellement la principale ressource de polysaccharide en cosmétologie. D'autres sources sont actuellement évaluées pour leur potentialité des avantages (non dépendance vis-à-vis d'aléas environnementaux, climatique Où même géopolitique). Au titre de ses nouvelles Opportunités, On retrouve tout naturellement le microorganisme compte source d'exopolysaccharide Bactériens originaux (EPS).

La durée de vie approximative (entente de marche et commercialisation) de ses nouveaux produits se situe généralement entre 3 Et 5ans ; elle induit une recherche constante de nouvelles molécules et pistes de valorisation. Mais leur développement en cosmétologie doit tenir compte de l'évolution probable de la législation, quant à l'utilisation De produits naturels, la disponibilité de la ressource, la facilité de mise en œuvre et, naturellement, le cout de production. (Jean Guézennec, 2014)

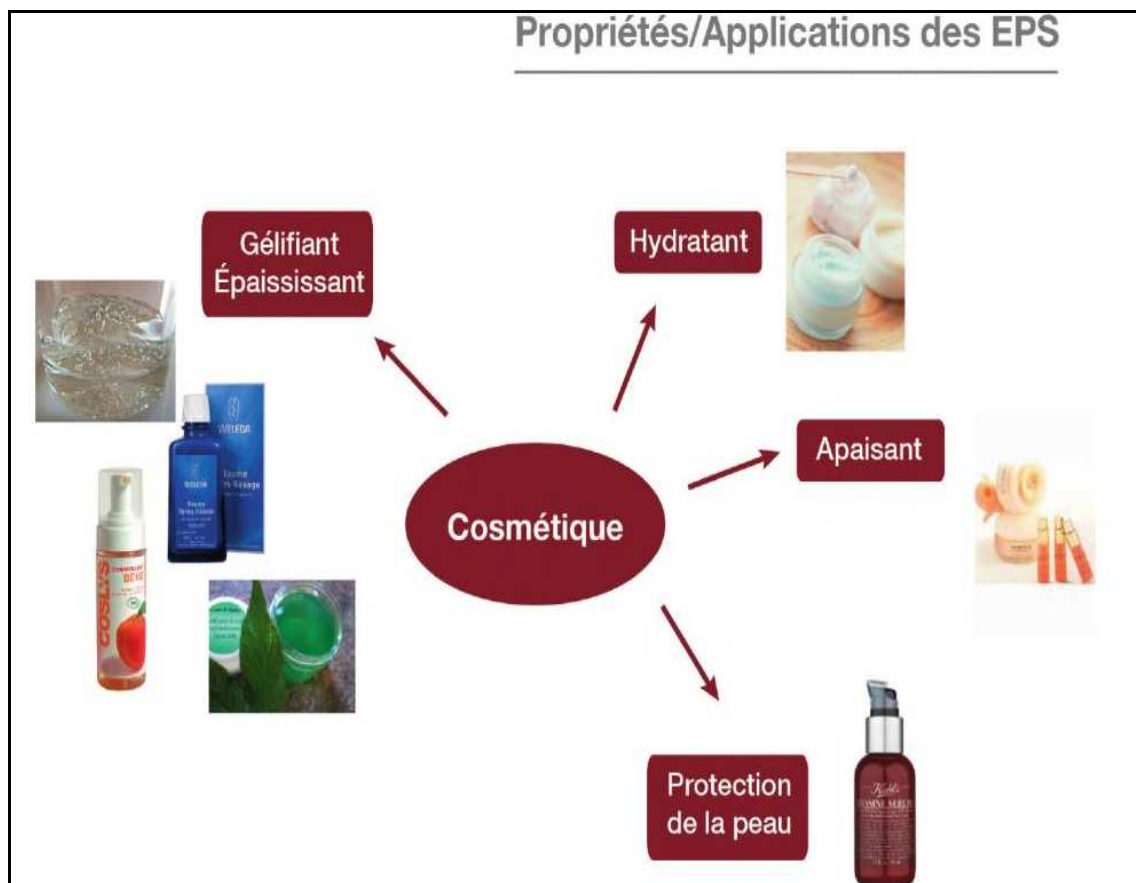


Figure 12: potentiel des polysaccharides en cosmétique et en dermo-cosmétique(Jean Guézennec, 2014).

13.2. Production d'Enzymes

Les enzymes halophiles sont des extremozymes produites par les bactéries halophiles; ils ont des caractéristiques similaires aux enzymes ordinaires mais des propriétés différentes, principalement structurelles et très utiles à la biotechnologie.

Parmi ces propriétés se trouve un besoin élevé en sel pour les fonctions biologiques. Ces dernières années, différentes études se sont concentrées sur la détection des halophiles dans les milieux salins afin d'isoler et de caractériser de nouvelles activités enzymatiques. Cela a entraîné la description de plusieurs hydrolases halophiles, y compris des amylases, des lipases et des protéases. De plus, la découverte d'enzymes capables de dégrader les biopolymères offre une nouvelle perspective dans le traitement des résidus des gisements de pétrole, dans des conditions typiquement élevées de sel et de température, tout en donnant des informations précieuses sur les processus hétérotrophes en milieu salin.

Plusieurs chercheurs ont également examiné les bactéries halophiles par l'électrodéposition directe sur les milieux d'agar modifiés avec des substrats spécifiques pour les enzymes d'intérêt. La plupart des producteurs halophiles d'hydrolases ont été assignés à la famille des Halomonadaceae. Ses membres sécrètent des enzymes hydrolytiques extracellulaires aussi comme les amylases, les protéases, les lipases, les DNases, les pullulanases et les xylanases (Sánchez-Porro et al., 2003b; Govender et al., 2009; Rohban et al., 2009).

Une plus grande activité hydrolytique est généralement observée pour des bactéries modérément halophiles à Gram positifs (Sánchez-Porro et al., 2003b; Rohban et al., 2009).

Les bactéries halophiles sont métaboliquement plus versatiles que les archées, et leurs activités enzymatiques sont plus diverses. D'ailleurs, la plupart des enzymes haloarchéennes exige au moins 10 à 15% (p/v) de sel pour leur stabilité et leur activité (Kamekura, 1986).

13.2.1. Amylases

Les amylases (Catégorie:EC 3.2.1) sont des macromolécules appartenant à la classe des protéines globulaires, de type endoglycanases de la classe des hydrolases qui agissent sur les liaisons (1,4) de l'amidon. Elles catalysent la dégradation des polymères d'amidon pour produire des dextrines et différents gluco-oligosaccharides de longueurs variables.

Les amylases sont parmi les enzymes les plus importantes en biotechnologie actuelle (Gupta et al., 2003). Cette classe d'enzymes industrielles joue un rôle important dans la dégradation d'amidon et a constitué en 2007, environ 25 à 33% du marché mondial (Saxena et al., 2007). elles ont une gamme étendue d'applications dans beaucoup de champs tels que les industries de la saccharification d'amidon, de textile, des aliments, de boulangerie, de brassage et de distillation (Gupta et al., 2003).

En raison de l'importance industrielle de cette enzyme, un intérêt est porté à l'isolement de nouvelles amylases appropriées à applications industrielles nouvelles (Burhan et al., 2003) . À cet égard, des amylases halophiles ont été isolées et caractérisées de diverses archées telles que *Haloferax volcanii* (Kobayashi et al., 1994), *Haloferax mediterranei* (Pérez-Pomares, 2003), *Haloarcula* sp. (Fukushima et al., 2005), ainsi que de plusieurs bactéries halophiles modérées à savoir *Halomonas meridiana* (Coronado et al., 2000), *Halobacillus* sp.

(Amoozegar et al., 2003), *Halothermothrix orenii* (Mitjs et Patel, 2002; Tan et al., 2008), *Chromohalobacter* sp. (Prakash et al., 2009a) et *Nesterenkonia* sp. (Shafiei et al., 2010).

Ces enzymes montrent généralement de larges optima de pH et demeurent actives et stables aux températures au-dessus de 50°C et aux fortes salinités (jusqu'à 30%, p/v) (Prakash et al., 2009b).

13.2.2. Protéases

Les protéases hydrolysent les protéines en libérant des peptides plus petits, selon la nature de leur site catalytique elles sont classées en trois groupes: sérine-, cystéine- ou métalloprotéases (Rambaud et al., 2004).

Les protéases microbiennes sont l'une des classes d'enzymes les plus intensivement étudiées et largement appliquées dans les processus industriels. Elles sont généralement utilisées comme additifs dans les détergents de blanchisserie, dans la transformation des produits alimentaires, pharmaceutiques et dans les industries de tannage de cuir aussi bien que dans la gestion des déchets (Amoozegar et al., 2007; Karbalaei-Heidari et al., 2009).

Des archées halophiles extrêmes productrices de protéases comme *Halogeometricum borinquense* (Vidyasagar et al., 2006) et *Natrialba magadii* (D'Alessandro et al., 2006) ont été isolées. De telles enzymes ont également été isolées et caractérisées de plusieurs espèces bactériennes comprenant *Bacillus* sp. (Setyorini et al., 2006; Shivanand et Jayaraman, 2009), *Pseudoaltermonas* sp. (Sánchez-Porro et al., 2003b), *Salinivobrio* sp. (Amoozegar et al., 2007), *Salicola* sp. (Moreno et al., 2009), *Halobacillus* spp. (Karbalaei-Heidari et al., 2009), *Revue bibliographique 15 Filobacillus* sp. (Hiraga et al., 2005), *Chromohalobacter* sp. (Vidyasagar et al., 2009), *Nesterenkonia* sp. (Bakhtiar et al., 2005) et *Virgibacillus* sp. (Sinsuwan et al., 2008).

Ces enzymes exercent une activité optimale en présence de NaCl et restent stables sur une large gamme de pH (5 à 10). Elles ont été caractérisées d'enzymes haloalcaliphiles (Gupta et al., 2005). En outre, elles sont souvent actives à des températures comprises entre 40 et 75°C (Vidyasagar et al., 2009).

13.2.3. Xylanases

Les xylanases (nom systématique 1,4- β -D-xylane xylanohydrolase, EC.3.2.1.8) sont les enzymes qui hydrolysent les liaisons β (1, 4) entre deux résidus β -D-xylanopyranoses. Elles sont utilisées dans l'industrie de boulangerie pour améliorer les propriétés de la pâte, dans le bioblanchiment de papier et de pulpe et fabrication de café (Mamo et al., 2009).

Cependant, l'application efficace des xylanases dans le bioblanchiment exige que ces enzymes soient alcaliphiles et thermotolérantes. Les bactéries halophiles sont la source la plus susceptible des enzymes avec de telles propriétés. Bien que la recherche dans cet axe soit encore limitée, seulement quelques xylanases halophiles ont été décrites. Elles incluent les enzymes dérivées des bactéries marines et hypersalines telles que *Glaciecola mesophila* (Guo et al., 2009), *Chromohalobacter* sp. (Prakash et al., 2009a) et *Nesterenkonia* sp. (Govender et al., 2009).

Une partie de ces enzymes montre une grande stabilité dans un intervalle large de pH (6 à 11) et reste active à des températures au-dessus de 60°C (Wejse et al., 2003; Guo et al., 2009; Prakash et al., 2009b).

13.2.4. Cellulases

Les cellulases se distinguent des autres glycosides hydrolases par leur capacité à hydrolyser les liaisons β -osidiques entre les résidus glycosyliques (Lynd et al., 2002).

La majorité des cellulases microbiennes étudiées sont des glycoprotéines, avec un taux élevé en acides aminés acides (Beldman et al., 1985) et ne sont pas des métalloprotéines (Saha et al., 1994). Elles ont généralement une structure modulaire avec deux domaines fonctionnels distincts: le site catalytique et le site de fixation du substrat, habituellement reliés entre eux par un peptide glycosylé flexible riche en sérine, proline et thréonine appelé «linker» (Hasper et al., 2002; Receveur et al., 2002).

Les cellulases sont principalement utilisées dans l'industrie textile pour le bioblanchiment des tissus, aussi bien que dans les détergents de blanchisserie pour ramollir les tissus (Aygan et Arıkan, 2008). L'intérêt aux cellulases augmente également dans la production du bioéthanol comme les enzymes qui sont employées pour hydrolyser les matériaux cellulosiques prétraités pour les sucres fermentescibles (Wang et al., 2009).

Actuellement, des cellulases halophiles dérivées de *Bacillus* sp. (Aygan et al., 2008) et de *Salinivibrio* sp. (Wang et al., 2009) ont été caractérisées. Elles sont thermostables et également stables à l'alcalinité et à la salinité ce qui fait d'elles des candidats idéaux pour différentes applications industrielles.

13.2.5. Estérases et lipases

Les triacylglycérol acyl-hydrolases (catégorie : EC.3.1.1.3), ou lipases, sont des enzymes atypiques par leur mécanisme d'action et leur spécificité de substrats. En fonction du microenvironnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique.

En tant qu'hydrolases, elles sont responsables du catabolisme des triglycérides en acide gras et en glycérol. Il existe deux groupes d'enzymes très connues dans la famille des hydrolases d'esters carboxyliques: les lipases et les estérases (Ghanem, 2007).

Les estérases se distinguent des lipases par leur préférence pour les acyl esters à chaîne courte (inférieure à 10 atomes de carbone) et ne sont pas actives sur les substrats qui forment des micelles. Elles ne requièrent pas de cofacteur, présentent une bonne chimiosélectivité, régiosélectivité et énantiosélectivité. Bien que leur rôle physiologique ne soit pas toujours connu, les estérases et les lipases ont trouvé de multiples applications dans les industries médicales et agroalimentaires, dans la production de détergent et de biodiesel, dans la synthèse d'arômes, etc. Elles constituent l'une des cibles majeures des travaux de recherche en biocatalyse et le nombre d'articles qui leur est consacré s'accroît très rapidement. Ces travaux ont montré que les réactions catalysées par les lipases sont plus sélectives et plus efficaces que beaucoup de réactions homologues en chimie organique. L'utilisation de lipases en biocatalyse asymétrique constitue une voie prometteuse pour obtenir des composés énantiomériquement purs ou enrichis (Ghanem, 2007).

Pour l'instant plusieurs études ont permis de révéler plusieurs activités lipolytiques dans le monde des halophiles. Les souches ont été identifiées comme membres des genres suivants: *Salicola*, *Halovibrio*, *Halomonas*, *Oceanobacillus*, *Thalassobacillus*, *Halobacillus*, *Virgibacillus*, *Gracilibacillus*, *Salinicoccus*, *Piscibacillus* (Rohban et al., 2008), *Salinivibrio* sp. (Amoozegar et al., 2008), *Staphylococcus* (Joseph et al., 2006; Esakkiraj et al., 2010) et *Bacillus* (Ghasemi et al., 2010).

Ces microorganismes produisent des lipases actives en présence de fortes concentrations salines (Rohban et al., 2008).

13.2.6. Nucléase H

Une des quelques enzymes halophiles appliquées dans les processus industriels est la nucléase H isolée de *Micrococcus varians* subsp. *halophilus* et utilisée dans la production commerciale de l'agent aromatisant: l'acide 5'-guanylique (5'-GMP)

Cette enzyme dégrade l'ARN à 60°C et en présence de 12% (p/v) de sel (Kamekura et al., 1982)

13.2.7. Les β galactosidases

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

13.2.8. Glycosylhydrolases

Les glycosylhydrolases sont utilisées pour des raisons multiples : la dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose, l'agar, l'agarose, lactose et amylose (Woodward et Wiseman, 1984).

13.3. Fermentation des aliments

La production de certains aliments fermentés traditionnels en Extrême-Orient, tels que la sauce à poissons et la sauce de soja, implique l'activité d'une variété de microorganismes halophiles et/ou fortement halotolérants (Oren, 2002a).

Dans certains cas, la concentration en sel pendant le procédé de fermentation est suffisamment haute pour le développement des archées de la famille Halobacteriaceae.

La première archée halophile obtenue à partir de la sauce à poissons ressemblait à *Halobacterium salinarum* (Thongthai et McGenity, 1992), deux nouvelles espèces,

Halococcus thailandensis et *Natrinema gari*, ont été également décrites (Tapingkae et al., 2008).

13.4. Biodégradation

Les environnements salins et hypersalins sont fréquemment contaminés par des composés organiques en raison d'activités industrielles (Oren et al., 1992; Margesin et Shinner, 2001).

La contamination de ces habitats constitue un problème écologique sérieux principalement en raison de la toxicité élevée montrée par quelques composés organiques. Dans la plupart des cas, la biodégradation constitue le mécanisme principal pour se débarrasser des contaminants. Cependant, les programmes de biodégradation sont difficiles à être exécutés sous des conditions salines (Oren et al., 1992).

Une alternative pour surmonter ce problème, est l'utilisation des bactéries halophiles adaptées à ces conditions. Plusieurs études ont montré la dégradation bactérienne des composés aromatiques en conditions salines (Piedad Diaz et al., 2000; Margesin et Shinner, 2001; Mellado et Ventosa, 2003; Peyton et al., 2004).

Des archées halophiles appartenant aux genres *Halobacterium* sont capables de métaboliser les hydrocarbures (Kulichevskaya et al., 1992). La souche *Haloferax* sp. D1227 est la première archée rapportée capable de dégrader les acides aromatiques comme l'acide benzoïque, l'acide cinnamique et l'acide 3-phénylpropionique (Emerson et al., 1994). Une souche archéenne halophile nouvelle (*Haloarcula* sp.D1), est trouvée capable de se développer en conditions aérobies sur l'acide 4-hydroxybenzoïque comme source unique de carbone et d'énergie (Fairley et al., 2002).

D'autres espèces halophiles nouvelles telles que *Marinobacter* spp., *Erwinia ananas*, *Bacillus* spp. (Díaz et al., 2000; 2002), *Cellulomonas* spp., *Bacillus marisflavi*, *Dietzia maris*, *Halomonas eurihalina* (Riis et al., 2003), aussi bien que des bactéries des familles *Ectothiorhodospiraceae* et *Methylophilaceae*, ont été reportées comme capables de dégrader des hydrocarbures et quelques composants de pétrole brut (Kleinstauber et al., 2006).

L'utilisation de phénol par des espèces bactériennes modérément halophiles comme *Halomonas organivorans* et *Thalassobacillus devorans* a également été décrite (Alva et Peyton, 2003; Garcia et al. 2004; 2005)

13.5. Biolixiviation

L'une des premières applications possibles, c'est l'utilisation des microorganismes pour transformer les minéraux solides en forme soluble. Utilisée essentiellement pour concentrer les métaux (cuivre, or et uranium) lorsque les concentrations initiales de minerais sont faibles et les procédés chimiques conventionnels non rentables.

Cette approche, développée en Afrique du Sud, au Brésil et en Australie, fait en général appel à des cultures de bactéries mésophiles des genres *Thiobacillus*, *Acidithiobacillus* et *Leptospirillum*. Toutefois, différents travaux ont mis en évidence l'intérêt des archées *Pyrobaculum*, *Pyrococcus*, *Sulfolobus* et *Metallosphaera*.

Bien qu'inadaptées à des traitements en milieu ouvert, ces espèces hyperthermophiles et thermocacidophiles satisfont aux exigences de fonctionnement à haute température en réacteurs contrôlés pour le traitement de certains minerais comme la chalcopyrite ou la pyrite (Williams YJ et al., 2009)

14. Autres applications potentielles

Les bactéries halophiles peuvent avoir de nombreuses utilisations potentielles supplémentaires en biotechnologie, ainsi que d'autres domaines, mais restent à exploiter. Il a été affirmé quelles peuvent être utilisés :

- Pour éliminer le phosphate des environnements salins, comme une alternative moins coûteuse aux approches chimiques.
- Pour la récupération de saumures résiduelles hypersalines dérivées de l'industrie de l'huile d'olive.
- Pour le processus de durcissement du cuir ou de la fourrure.
- Pour la production des plastiques biodégradables, protéines adjuvantes, vésicules lipidiques ainsi que les halocines.
- Yakimov et al , Récemment isolé un halophile modéré qui synthétise un nouveau glycolipide appartenant à une nouvelle classe puissante de biosurfactants. La bactérie (souche MM1, membre des Halomonadacées) a été isolée à partir d'échantillons d'eau salée et de sédiments par enrichissement sur n-hexadécane. Le tensioactif purifié est un puissant agent tensioactif, montrant un fort effet positif sur dégradation des biphenyles chlorés, probablement due à la solubilisation de ces composés dans l'eau.

➤ De nombreux microorganismes halophiles modérés produisent des colonies orange ou rose, probablement en raison de la production de caroténoïdes comme mécanismes contre les processus de photooxydation. Les caroténoïdes ont des applications majeures dans l'industrie alimentaire comme colorants alimentaires et additifs dans les produits alimentaires diététiques. Par conséquent, les enquêtes sur l'utilisation d'halophiles modérés en tant que producteurs de caroténoïdes pourraient être d'un grand intérêt.

Enfin, on peut noter qu'au cours des dernières années, un effort économique a été fait pour faciliter l'exploitation des potentialités des micro-organismes extrémophiles tels que les bactéries halophiles. Ainsi, en Europe, un consortium de 39 des équipes financées par le programme BIOTECH de la Commission a récemment achevé un projet de trois ans visant à isoler et / ou sélectionner ces microorganismes ayant le meilleur potentiel pour l'industrie.

15. Bacteriorhodopsines

Pour extraire l'énergie ainsi que les informations fournies par la lumière et sa composition spectrale, les halophiles possèdent un ensemble de quatre protéines rétiniennes apparentées dans la membrane cellulaire: la bactériorhodopsine (BR), l'halorhodopsine (HR) et deux rhodopsines sensorielles (SRI et SRII).

Bactériorhodopsine (BR), trouvée chez certaines archées, est au centre de beaucoup d'intérêt, elle est le dispositif de conversion d'énergie biologique le plus simple connu, elle convertit l'énergie de la lumière «verte» (500–650 nm) en un gradient électrochimique de protons, qui à son tour est utilisé pour la production d'ATP par l'ATP-synthases, elle assure également le transport secondaire des acides aminés et des ions, comme dans de nombreuses autres cellules procaryotes et dans les mitochondries et les chloroplastes. Ainsi, la bactériorhodopsine offre aux organismes une alternative à la chaîne respiratoire, d'importance lorsque l'oxygène (à faible concentration au départ en raison de sa faible solubilité dans son hypersaline, c'est-à-dire >20% NaCl, environnement) est épuisé dans une culture dense.

L'halorhodopsine est impliquée dans le maintien de l'iso-osmolarité du cytoplasme pendant la croissance cellulaire en transportant des ions chlorure dans la cellule.

La rhodopsine sensorielle I et II, d'autre part, médiatise le comportement phototactique, permettant ainsi à la cellule d'éviter les effets nocifs et la lumière UV et de s'accumuler dans des régions favorables à la photosynthèse (Annu. R., 1999).

Bien que ce ne soit pas un récepteur de signal, la bactériorhodopsine a été considérée comme le prototype de la structure des récepteurs liés aux protéines G.

15.1. Importance de la bactériorhodopsines

- ✓ Utilisé au Kennedy Space Center de la NASA pour la télécommande et détection de fuites de gaz (Peale RE, et al., 1997). Ce type de film est séduisant car il ne nécessite pas de développement chimique et peut être utilisé à plusieurs reprises.
- ✓ Les films de bactériorhodopsine ont également le potentiel à être utilisé comme biopuces qui pourraient passer signaux, remplaçant ainsi les circuits intégrés des ordinateurs modernes (Hong et Biosystems, 1986). Puisque la bactériorhodopsine peut convertir la lumière en impulsions électriques, il peut également être utilisé comme lumière capteur (une fine pellicule de pigment est placée entre une électrode à oxyde et un électriquement conducteur gel. Lorsque la lumière frappe le capteur, la charge déplacée par la bactériorhodopsine est transmise à l'électrode) (Vsevolodov NN, Dyukova, 1994).
- ✓ Il a même été suggéré que la bactériorhodopsine pourrait être utilisée pour donner la vue aux robots industriels (Chen Z, et Birge RR, 1993).

16. Production de substances antibactériennes

16.1. Antibiotiques de nature protéique :

16.1.1. Bactériocines

16.1.1.1. Historique

La production bactérienne de substances antagonistes aux autres bactéries a été connue depuis 1925, avec la découverte d'antagonisme entre les espèces d'*Escherichia coli*, ces substances ont été nommées « Colicines ». Le deuxième cas fut découvert en 1927 par *Lactococcus lactis*, dénommée « Nisine ». Plusieurs décennies plus tard, de nombreuses peptides eucaryotes (Eucaryocins) ont été décrits (O'Connor et Shand, 2002).

16.1.1.2. Définition

Différentes définitions des bactériocines ont été données au cours du temps. Cependant, la définition qui reste la plus largement acceptée est celle de Klaenhammer (1988) qui définit les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice. Les bactériocines représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre d'action et de leur mode d'action (Klaenhammer, 1988)

16.1.1.3. Intérêt et Applications

Les bacteriocines ont un immense potentiel dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaire. Outre leur applications antibacteriennes, les bacteriocines ont été montrées utiles comme spermicides, hypotenseurs artériels, comme agents antiviraux, anti-tumoraux et anti-inflammatoires (Martin, 2000)

16.1.2. Halocines

16.1.2.1. Définition

Les halocines sont des antibiotiques protéiques produits par les bactéries halophiles extrêmes où elles détruisent ou inhibent d'autres haloarchaeons (Price L.B et Shand R.F, 2002). Elles ont été découvertes pour la première fois par F.Rodriguez-Valera en 1982 (Rodriguez-Valera F et al., 1982). La production de peptides ou de protéines antibiotiques est connue dans les trois domaines du vivant ; les bactéries produisent des bactériocines, les eucaryotes des eucaryocines, les Archaea des archaeocines dont les halocines des Archaea halophiles (O'Connor et Shand, 2002 ; Shand et Leyva, 2007).

16.1.2.3. Intérêts et Applications

Les halocines ont un rôle écologique exerçant un effet de sélection qui permet l'émergence d'organismes résistants, et donc d'augmenter la diversité (Torreblanca et al., 1994). L'utilisation des halocines comme agents chimiothérapeutiques, actifs contre les germes pathogènes humains ou animaux n'a pas été encore concrétisée, mais vu les centaines de différentes halocines qui restent encore non caractérisées, suggère que d'autres halocines puissent avoir des applications cliniques (Shand et Leyva, 2007). Halocine H7 a de multiples applications dans le domaine médical-pharmaceutique comme diurétique, antihypertensif,

agent protecteur contre l'ischémie cardiaque et nerveuse, agent pour réduire la résistance à l'insuline et inhibiteur de la sécrétion d'acide chlorhydrique dans la membrane de la muqueuse gastrique (Escoms et al., 1996). Elles peuvent servir de traitement pour le myocarde contre les effets nocifs de l'ischémie en diminuant la taille de l'infarctus. Ceci sert d'application pour la réduction des dommages liés à la transplantation d'organes (O'Connor et Shand, 2002 ; Shand et Leyva, 2007).

Conclusion

L'intérêt des bactéries halophiles en biotechnologie a permis l'ouverture d'une voie vers une biotechnologie future, Ils représentent donc une source potentielle de molécules nouvelles actives telles que les antibiotiques, bactériocines, bacteriorhodopsines, enzymes etc..... qui peuvent être utilisées dans plusieurs domaines : médical, pharmaceutique, alimentaire, agronomique et industriel.

Ces dernières années un intérêt croissant est porté à ces halophiles qui sont productrices de substances probablement intéressantes afin de les utiliser pour usage alimentaire, thérapeutique ...etc tels que les exopolysaccharides qui sont agents émulsifiants et surfactants et ont une large application dans les industries pharmaceutiques, différents enzymes, et également les bactériocines qui ne sont pas des antibiotiques mais possèdent des propriétés d'antibiotiques.

References bibliographiques :

- **Amoozegar M.A., Fatemi Z.A., Karbalaei-Heidari H.R., Razavi M.R. (2007).** Production of an extracellular alkaline metalloprotease from a newly isolated, moderately halophile, *Salinivibrio* sp. strain AF-2004. *Microbiol Res* 162: 369-377.
- **Amoozegar M.A., Malekzadeh F., Malik K.A. (2003).** Production of amylase by newly isolated moderate halophile, *Halobacillus* sp. strain MA-2. *Microbiol Methods* 52: 353-359.
- **Amoozegar M.A., Schumann P., Hajighasemi M., Ashengroph M., Razavi M.R. (2008).** *Salinicoccus iranensis* sp. nov., a novel moderate halophile. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 178–183.
- **Antón J., Oren A., Benlloch S., Rodríguez-Valera F., Amann R., Rosselló-Mora R. (2002).** *Salinibacter ruber* gen. nov., sp. nov., a novel, extremely halophilic member of the Bacteria from saltern crystallizer ponds. *Int J Syst Evol Microbiol* 52: 485–491
- **Antón J., Rossello-Mora R., Rodriguez-Valera F., Amann R. (2000).** Extremely halophilic Bacteria in crystallizer ponds from solar salterns. *Appl Environ Microbiol* 66 (7): 3052–3057.
- **Aygan A., Arikan B. (2008).** A new halo-alkaliphilic, thermostable endoglucanase from moderately halophilic *Bacillus* sp. C14 isolated from Van soda lake. *Int J Agric Biol* 10: 369-374.
- **Aygan A., Arikan B., Korkmaz H., Dinçer S., Çolak Ö. (2008).** Highly thermostable and alkaline α -amylase from a halotolerant alkaliphilic *Bacillus* sp. AB68. *Braz J Microbiol* 39: 547-553.
- **Basinger, G. W. & Olivier, J. D. (1979).** Inhibition of *Halobacterium cutirubrum* lipid biosynthesis by bacitracin. *J Gen Microbiol* 111, 423-427
- **Baumeister, W. & Lembecke, G. (1992).** Structural features of archaeobacterial cell envelopes. *J Bioenerg Biomembr* 24, 567-575
- **Bayley, S. T. & Kushner, D. J. (1964)** *J. Mol. Biol.*)
- **Beldman G., Searle-Van Leewen M.F., Rombouts F.M., Voorzangen F.G.J. (1985).** The cellulase of *Trichoderma viride*. Purification, characterisation and comparison of all detectable endoglucanases, exoglucanases and α -glucosidases. *Eur J Biochem* 146: 301-308
- **Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T., Garrity G.M. (2005).** *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd edn, vol 2 (The Proteobacteria). Springer, New York. P. 1136
- **Brown, H. D. & Chao, K. J. (1970).** The walls of extremely halophilic cocci. Gram positive bacteria lacking muramic acid. *J Gen Microbiol* 62, 267-274.
- **BURG D.B.V .,2003.** Extremophiles as a source for novel enzymes .*Curr.Opin.Microbiol.*, 6:213-218.

- **Burhan A., Unaldi N., Coral G., Colak O., Aygan A., Gülnaz O. (2003).** Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic, alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic *Bacillus* sp. Isolate ANT-6. *Process Biochem* 38: 1397-1403
- **Cho B.C. (2005).** Heterotrophic flagellates in hypersaline waters. In: Gunde-Cimerman N., Oren A., Plemenitaš A. (eds) *Adaptation to life at high salt concentrations in Archaea, Bacteria and Eukarya*. Springer, Dordrecht. Pp. 543–549
- **Collins, M. D., Ross, H. N. M., Tindall, B. J. & Grant, W. D; (1981).** Distribution of isoprenoid quinones in halophilic bacteria. *J Appl Bacteriol* 50, 559-565
- **Coronado M.J., Vargas C., Hofemeister J., Ventosa A., Nieto J.J. (2000).** Production and biochemical characterization of α -amylase from the moderate halophile *Halomonas meridiana*. *FEMS Microbiol Lett* 183: 67-71.
- **Costenaro L. (2001).** Interactions faibles protéine–protéine en solution: La malate déshydrogénase halophile, Thèse préparée au Laboratoire de Biophysique Moléculaire Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel (CEA–CNRS–UJF), Grenoble: 16.
- **Cui H.L., Gao X., Yang X., Xu X-W. (2011a).** *Halolamina pelagica* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Halobacteriaceae. *Appl Microbiol Biotechnol* 61(7):1617-1621.
- **Cui H-L., Gao X., Sun F-F., Dong Y., Xu X-W., Zhou Y-G., Liu H-C., Oren A., Zhou P.J. (2010b).** *Halogramum rubrum* gen. nov., sp. nov., a halophilic archaeon isolated from a marine solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:1366-1371.
- **Cui H-L., Gao X., Yang X., Xu X-W. (2010c).** *Halorussus rarus* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Halobacteriaceae isolated from a marine solar saltern. *Extremophiles* 14 (6): 493-499.
- **Cui H-L., Li X-Y., Gao X., Xu X-W., Zhou Y-G., Liu H-C., Oren A., Zhou P-J. (2010b).** *Halopelagius inordinatus* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Halobacteriaceae isolated from a marine solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:2089-2093.
- **Cui H-L., Yang X., Gao X., Xu X-W. (2011b).** *Halobellus clavatus* gen. nov., sp. nov. and *Halorientalis regularis* gen. nov., sp. nov., two new members of the family Halobacteriaceae. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:2682-2689.
- **D’Alessandro C.P., De Castro R.E., Giménez M.I., Paggi R.A. (2006).** Effect of nutritional conditions on extracellular protease production by the haloalkaliphilic archaeon *Natrialba magadii*. *Lett Appl Microbiol* 44: 637–642
- **DASSARMA S., 2006.** Extreme halophiles Are Models for Astrobiology. *Microbe* , 1(3): 120-126
- **De la Haba R.R., Sánchez-Porro C., Marquez M. C., Ventosa A. (2011).** Taxonomy of halophiles, In: Horikoshi K. (ed.), *Extremophiles Handbook*, Springer. P. 1248.

- **Denger K., Warthmann R., Ludwig W., Schink B. (2002).** Anaerophaga thermohalophila gen. nov., sp. nov., a moderately thermohalophilic, strictly anaerobic fermentative bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 52:173–178.
- **Dohrmann A.B., Müller V. (1999).** Chloride dependence of endospore germination in *Halobacillus halophilus*. *Arch Microbiol* 172: 264-267
- **Donachie S.P., Bowman J.P., Alam M. (2004).** *Psychroflexus tropicus* sp. nov., an obligately halophilic Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides group bacterium from an Hawaiian hypersaline lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 54: 935–940
- **Eiseuberg, H., Leicht, W., Mevareeh, M. , Werber, M. M. (1977)**
- **Fendrihan S., ANDREA LEGAT A., MARION PFAFFENHUEMER M., GRUBER C., WEIDLER G., GERBL F. and STAN-LOTTER H. 2006.** Extremely halophilic archaea and the issue of long-term microbial survival. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 5:203-218.
- **Feuga A.M. (1997).** Microalgues marines : Les enjeux de la recherche. IFREMER. P. 15.
- **Franzmann P.D., Wehmeyer U., Stackebrandt E. (1988).** Halomonadaceae fam. nov., a new family of the class Proteobacteria to accommodate the genera *Halomonas* and *Deleya*. *Syst Appl Microbiol* 11:16–19
- **FOX G.E., MAGRUM L. J., BALCH W.E., WOLFE R. S. and WOESE C. R., 1997.** Classification of methanogenic bacteria by 16S ribosomal RNA characterization. *Proc Natl. Acad. sci. USA*, 74:4537_4541.
- **Franzmann P.D., Wehmeyer U., Stackebrandt E. (1988).** Halomonadaceae fam. nov., a new family of the class Proteobacteria to accommodate the genera *Halomonas* and *Deleya*. *Syst Appl Microbiol* 11:16–19.
- **Fukushima T., Mizuki T., Echigo A., Inoue A., Usami R. (2005).** Organic solvent tolerance of halophilic α -amylase from a haloarchaeon, *Haloarcula* sp. strain S-1. *Extremophiles* 9: 85–89.
- **García L. (2002).** La vie dans les milieux extrêmes. Texte de la 433ème conférence de l'Université de tous les savoirs: 1.
- **Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn T. (2005).** Phylum XIV Proteobacteria phyl nov. In: Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T., Garrity G.M (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 2, 2nd edn, (The Proteobacteria), part B (The Gammaproteobacteria). Springer, New York: 1.
- **Garrity G.M., Holt J.G. (2001).** Taxonomic outline of the archaea and bacteria. In: Boone D.R., Castenholz R.W (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 1, 2nd edn, The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria. Springer, New York: Pp. 155–166.

- **Gauthier M.J., Lafay B., Christen R., Fernandez L., Acquaviva M., Bonin P., Bertrand J.C. (1992).** 107 gen. nov., sp. nov., a new, extremely halotolerant, hydrocarbon-degrading marine bacterium. *Int J Syst Bacteriol* 42: 568–576
- **Ghanem A. (2007).** Trends in lipase-catalyzed asymmetric access to enantiomerically pure/enriched compounds. *Tetrahedron* 63(8): 1721-1754.
- **Gibbons, N. E. (1974)** in *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Edition, Buchanan, R. E.
- **Goldstein, L. (1979)** Communication personnelle. (Woese, C. R. ~ Fox, G. E. (1977).
- **Gonzalez, C., Gutierrez, C. & Ramirez, C. (1978).** *Halobacterium vallismortis* sp. nov., an amylolytic and carbohydrate metabolizing extremely halophilic bacterium. *Can J Microbiol* 24, 710-715.
- **Govender L., Naidoo L., Setati M.E. (2009).** Isolation of hydrolase producing bacteria from Sua pan solar salterns and the production of endo-1, 4- β -xylanase from a newly isolated haloalkaliphilic *Nesterenkonia* sp. *Afr J Biotechnol* 8: 5458-5466.
- **Grant, W. D. & Larsen, H. (1989).** Group III. Extremely halophilic Archaeobacteria Order Halobacteriales ord. nov. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Eds. J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig & J. G. Holt. pp. 2216-2233. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA.
- **Grant, W. D. (2004).** Life at low water activity. *Phil Trans R Soc Lond B* 359, 1249-1267.
- Greenberg, E. P. & Canole-Parola, E. (1976). *Spirochaeta halophila* sp. nov., a fermentative anaerobic bacterium from a high-salinity pond. *Arch Microbiol* 110, 185-194.
- Grimont, P. A. D. (1981). Use of DNA reassociation in bacterial classification. *Can J Microbiol* 34, 541-546.
- **Grant, W. D., Kamekura, M., McGenity, T. J. & Ventosa, A. (2001).** The order Halobacteriales. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2ème édition, Volume 1. D. R. Boone & R. W. Castenholz. pp. 294-334. New York: Springer.
- **Greenberg E.P., Canale-Parola E. (1976).** *Spirochaeta halophila* sp. nov. a facultative anaerobe from a high-salinity pond. *Arch Microbiol* 110: 185–194.
- **Gunde-Cimerman N., Zalar P., de Hoog S., Plemenitaš A. (2000).** Hypersaline waters insalterns e natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiol Ecol* 32: 235–240.
- **Guo B., Chen X.L., Sun C.Y., Zhou B.C., Zhang Y.Z. (2009a).** Gene cloning, expression and characterization of a new cold-active and salt-tolerant endo- β -xylanase from marine *Glaciecola mesophila* KMM 241. *Appl Microbiol Biotechnol* 84: 1107–1115.
- **Gupta A., Roy I., Patel R.K., Singh S.P., Khare S.K., Gupta M.N. (2005).** One step purification and characterization of an alkaline protease from haloalkaliphilic *Bacillus* sp. *J Chromatogr A* 1075: 103-108.

- **Gupta R., Gigras P., Mohapatran H., Goswami K.V., Chauhan B. (2003).** Microbial α amylase: a biotechnological perspective. *Process Biochem* 38: 1599-1616.
- **Hasper A.A., Dekkers E., Mil M.V., Van de Vondervoort P.J.I., De Graaff L.H. (2002).** Egl C, a new endoglucanase from *Aspergillus niger* with major activity towards xyloglucan. *Appl Environ Microbiol* 68(4): 1556-1560
- **Hiraga K., Nishikata Y., Namwong S., Tanasupawat S., Takada K., Oda K. (2005).** Purification and characterization of serine proteinase from a halophilic bacterium, *Filobacillus* sp. RF2-5. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 38-44.
- **Ivanova E.P., Mikhailov V.V. (2001).** A new family, Alteromonadaceae fam. nov., including marine proteobacteria of the genera *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas*, *Idiomarina* and *Colwellia*. *Mikrobiologiya* 70:15–23.
- **Johnsen, U., Selig, M., Xavier, K. B., Santos, H. & Schönheit, P. (2001).** Different glycolytic pathways for glucose and fructose in the halophilic archaeon *Halococcus saccharolyticus*. *Arch Microbiol* 175, 52-61.
- **Kamekura M. (1986).** Production and function of enzymes from eubacterial halophiles. *FEMS Microbiol Rev* 39: 145–150.
- **Kamekura M., Hamakawa T., Onishi H. (1982).** Application of halophilic nuclease H of *Micrococcus varians* subsp. *halophilus* to commercial production of flavoring agent 5'-GMP. *Appl Environ Microbiol* 44: 994–995.
- **Kamekura, M. & Kates, M. (1999).** Structural Diversity of Membrane Lipids in Members of Halobacteriaceae. *Biosci Biotechnol Biochem* 63, 969-972
- **Kamekura, M. (1998).** Diversity of extremely halophilic bacteria. *Extremophiles* 2, 289-295.
- **Kamekura, M. (1999a).** Alkaliphilic microorganisms. In *Enigmatic Microorganisms and Life in Extreme Environments*. Ed. J. Seckbatch. pp. 479-485. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherland.
- **Kamekura, M. (1999b).** Diversity of members of the family Halobacteriaceae. In *Microbiology and Biogeochemistry of Hypersaline Environments*. Ed. A. Oren. pp. 13-25. CRC Press, Boca Raton, London New York Washington, DC. Kamekura, M. & Kates, M. (1999). Structural Diversity of Membrane Lipids in Members of Halobacteriaceae. *Biosci Biotechnol Biochem* 63, 969-972.
- **Kamekura, M., Mizuki, T., Usami, R., Yoshida, Y., Horikoshi, K. & Vreeland, R. H. (2004).** The Potential Use of Signature Bases from 16S rRNA Gene Sequences To Aid Assignment of Microbial Strains to Genera of Halobacteria. In *Halophilic Microorganisms*. Ed. A. Ventosa. pp. 77-87. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- **Karbalaei-Heidari H.R., Amoozegar M.A., Ziaee A.A. (2009).** Production, optimization and purification of a novel extracellular protease from the moderately halophilic bacterium. *Ind Microbiol Biotechnol* 36: 21-27.

- **Kharroub K. (2007).** Identification et étude moléculaire des bactéries et des archéobactéries aérobies halophiles de la sebkha Ezzemoul (Ain M'Lila). Thèse de doctorat, Université Mento
- **Kharroub K., Aguilera M., Quesada T., Morillo A.J., Ramos-Cormenzana A., Boulharouf A., Monteoliva-Sánchez M. (2006a).** *Salicola salis* sp. nov., an extremely halophilic bacterium isolated from Ezzemoul sabkha in Algeria. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 2647–2652.
- **Kharroub K., Jiménez-Pranteda M.L., Aguilera M., Boulahrouf A., Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sánchez M. (2008a).** *Halomonas sabkhae* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from an Algerian sabkha. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 40–44.
- **Kharroub K., Lizama L., Aguilera M., Boulahrouf A., Campos V., Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sánchez M. (2008b).** *Halomicrobium katesii* sp. nov., an extremely halophilic archaeon. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 2354–2358
- **Kharroub K., Quesada T., Ferrer R., Fuentes S., Aguilera M., Boulahrouf A., Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sánchez M. (2006b).** *Halorubrum ezzemoulense* sp. nov., a halophilic archaeon isolated from Ezzemoul sabkha, Algeria. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1583–1588.
- **Kim K.K., Lee K.C., Oh H-M., Lee J-S. (2010).** *Halomonas stevensii* sp. nov., *Halomonas hamiltonii* sp. nov. and *Halomonas johnsoniae* sp. nov., isolated from a renal care centre. *Int J Syst Evol Microbiol* 60:369–377.
- **Kim S-J., Park S-J., Yoon D-N., Park B-J., Choi B-R., Lee D-H., Roh Y., Rhee S-K. (2009).** *Marinobacterium maritimum* sp. nov., a marine bacterium isolated from Arctic sediment. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 3030–3034.
- **Kis-Papo T., Oren A., Wasser S.P., Nevo E. (2003).** Survival of filamentous fungi in hypersaline Dead Sea water. *Microb Ecol* 45:183-190.
- **Kobayashi K., Kanai H., Aono R., Horikoshi K., Kudo T. (1994).** Cloning, expression, and nucleotide sequence of the α -amylase gene from the haloalkaliphilic archaeon *Natronococcus* sp. strain Ah-36. *J Bacteriol* 176:5131–5134
- **Larsen, H. (1962).** Halophilism. In *The Bacteria: a treatise on structure and function*. Volume IV. Eds. I. C. Gunsalus & R. Y. Stanier. pp. 297-342. Academic Press Inc, New York.
- **Leicht, W., Werber, M. M., ~ Eisenberg, H. (1978)**
- **Lequerica JL, O'Connor JE, Such L, Alberola A, Meseguer I, Dolz M, Torreblanca M, Moya A, Colom F, Soria B. J Physiol Biochem 2006; 62(4): 253–262)**
- **Intolerant xylanases from a novel halophilic bacterium. Extremophiles 7: 423- 431.**
- **Ludwig W., Klenk H.P. (2001).** Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. In: Boone D.R., Castenholz R.W., Garrity G.M (edn) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 1, 2nd edn. Springer, New York. Pp. 49–65.

- **Ludwig W., Klenk H.P. (2001).** Overview: a phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. In: Boone D.R., Castenholz R.W., Garrity G.M (edn) Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 1, 2nd edn. Springer, New York. Pp. 49–65.
- **Ludwig W., Schleifer K.H., Whitman W.B. (2008).** Revised road map to the phylum Firmicutes. In: de Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whitman W.B (eds) Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 3, 2nd edn, The firmicutes. Springer, New York. Pp. 1–13
- **Lynd L. R., Weimer P. J., Van Zyl W.H., Pretorius I. S. (2002).** Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol and Molecul Biol Rev* 66 (3): 506-577.
- **Makhdoumi-Kakhki A., Amoozegar M.A., Ventosa A. (2012).** *Salinibacter iranicus* sp. nov. and *Salinibacter luteus* sp. nov., isolated from a salt lake, and emended descriptions of the genus *Salinibacter* and *Salinibacter ruber*. *IJSEM*: 1-26 (sous presse)
- **Mamo G., Thunnissen M., Hatti-Kaul R., Mattiasson B. (2009).** An alkaline active xylanase: Insights into mechanisms of high pH catalytic adaptation. *Biochimie* 91: 1187-1196.
- **Mates, M. (1988).** Biosynthetic studies of polar lipids of *Halobacterium cutirubrum*: Formation of isoprenyl ether intermediates. *Biochim Biophys Acta* 960, 162-182
- **Matheson, A. T., Yaguchi, M., Nazar, R. N., Visentin, L. P., (1978)** vide ref. 7, pp. 489-).biochemical characterization of the recombinant enzyme. *Microbiol* 148: 2343-2349.
- **Matheson, A. T., Yaguchi, M., Nazar, R. N., Visentin, L. P., ~ Willick, G. E. (1978)** vide ref. 7, pp. 481-.biochemical characterization of the recombinant enzyme. *Microbiol* 148: 6943-5869.
- **Maturrano L., Valens-Vadell M., Rosselló-Mora R., Antón J. (2006).** *Salicola marasensis* gen. nov., sp. nov., an extremely halophilic bacterium isolated from the Maras solar salterns in Peru. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1685–1691.
- **Mescher, M. F. & Strominger, J. L. (1976).** Purification and characterization of a procaryotic glycoprotein from cell envelope of *Halobacterium salinarum*. *J Biol Chem* 251, 2005-2010.
- **Mijts B.N., Patel B.K.C. (2002).** Cloning, sequencing and expression of an α -amylase gene, amyA, from the thermophilic halophile *Halothermothrix orenii* and purification and biochemical characterization of the recombinant enzyme. *Microbiol* 148: 2343-2349.
- **Moreno M.D.L., Garcia M.T., Ventosa A., Mellado E. (2009).**Characterization of *Salicola* sp. IC10, a lipase- and proteaseproducing extreme halophile. *FEMS Microbiol Ecol* 68: 59-71.
- **Mullakhanbhai, M. F. & Larsen, H. (1975).***Halobacterium volcanii* sp. nov., a Dead Sea halobacterium with moderate salt requirement. *Arch Microbiol* 104, 207-214.

- **Nazar, R. N., Matheson, A. T. ~ Bellemare, G. (1978)** J. Biol. Chem., ~a3. 5464-5469)A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology and Biochemistry. Springer, New York 2. Pp..5464-5469
- **Nedashkovskaya O.I., Kim S.B., Lysenko A.M., Frolova G.M., Mikhailov V.V., Bae K.S., Lee D.H., Kim I.S. (2005).** Gramella echinicola gen. nov., sp. nov., a novel halophilic bacterium of the family Flavobacteriaceae isolated from the sea urchin Strongylocentrotus intermedius. Int J Syst Evol Microbiol 55:391–394.
- **Nordberg P., Von Hofsten B. (1969).** Proteolytic enzymes from extremely halophilic bacteria. J Gen Microbiol 55: 251-256.
- **Olsen, G. J., Woese, C. R. & Overbeek, R. (1994).** The winds of (evolutionary) change: breathing a new life in the microbiology. J Bacteriol 176, 1-6.
- **Oren A. (1983).** A thermophilic amyloglucosidase from Halobacterium sodomense, a halophilic bacterium from the Dead Sea. Curr Microbiol 8: 225-230.
- **Oren A. (1999).** Bioenergetic aspects of halophilism. Microbiol Mol Biol Rev 63: 334-348.
- **Oren A. (2002a).** Diversity of halophilic microorganisms: environments phylogeny, physiology, and applications. J Ind Microbiol Biotechnol 28: 56-63.
- **Oren A. (2002b).** Halophilic microorganisms and their environments. In: Seckbach J(ed) Cellular Origin and Life in Extreme Habitats. Kluwer Academic, Dordrecht. P. 595.
- **Oren A. (2006).** Life at high salt concentrations. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E (eds) The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology and Biochemistry. Springer, New York 2. Pp. 263-282.
- **Oren A. (2008).** Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. Saline Syst 4(2): 1746-1448.
- **Oren A. (2011).** Diversity of halophiles, In: Horikoshi K. (ed.), Extremophiles Handbook, Springer: 1-1248.
- **Oren A., Gurevich P., Azachi M., Henis Y. (1992).** Microbial degradation of pollutants at high salt concentrations. Biodegradation 3: 387–398.
- **Oren A., Rodriguez-Valera F. (2001).**The contribution of Salinibacter ruber species to the red coloration of saltern crystallizer ponds. FEMS Microbiol Ecol 36: 123-130.
- **Oren A., Ventosa A., Grant W. D. (1997).**Proposed Minimal Standards for Description of New Taxa in the Order Halobacteriales. Int J Syst Bacteriol 47: 233-238.
- **Peduzzi R., Tonolla M., Boucher-Rodoni R. (2006).** Milieux extrêmes: Conditions de vie en milieu alpin et milieu marin, Actes et contributions scientifiques: 9
- **Pérez-Pomares F., Bautista V., Ferrer J., Pire C., Marhuenda-Egea F.C., Bonete M.J. (2003).**Alpha-amylase activity from the halophilic archaeon Haloferax mediterranei. Extremophiles 7:299–306.

- **Prakash B., Vidyasagar M., Madhukumar M.S., Muralikrishna G., Sreeramulu K. (2009b).** Production, purification, and characterization of two extremely halotolerant, thermostable, and alkali-stable α -amylase from *Chromohalobacter* sp. TVSP 101. *Process Biochem* 44: 210-215
- **Prakash B., Vidyasagar M., Madhukumar M.S., Muralikrishna G., Sreeramulu K. (2009c).** Purification and characterization of two extremely halotolerant, thermostable, and alkali-stable α -amylase from *Chromohalobacter* sp. TVSP 101. *Process Biochem* 44: 210-215
- **Prakash S., Veeranagouga Y., Kyoung L., Sreeramulu K. (2009a).** Xylanase production using inexpensive agricultural wastes and its partial characterization from a halophilic *Chromohalobacter* sp. TPSV101. *Process Biochem* 25: 197-204.
- **Rambaud J-C., Buts J-P., Corthier G., Flourié B. (2004).** Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives. Edn John Libbey Eurotext, Paris. Pp. 3-245.
- **Rawal, N., Kelkar, S. M. & Altekar, W. (1988).** Alternative routes of carbohydrate metabolism in halophilic archaeobacteria. *Indian J Biochim Biophys* 25, 674-686.
- **Receveur V., Czjek M., Schulein M., Panine P., Henrissat B. (2002).** Dimension, shape, and conformational flexibility of two domaine fungal cellulases in solution probed by small angle X-ray scattering. *J Biol Chem.* 277 (43): 40887-40892.
- **Receveur V., Czjek M., Schulein M., Panine P., Henrissat B. (2003).** Dimension, shape, and conformational flexibility of two domaine fungal cellulases in solution probed by small angle X-ray scattering. *J Biol Chem.* 277 (43): 40887-40892.
- **Reistad, R. (1972).** Cell wall of an extremely halophilic coccus: Investigation of ninhydrine positive compounds. *Arch Microbiol* 82, 24-30.
- **Reistad, R. (1974).** 2-Amino-2-deoxyglucuronic acid: a constituent of the cell wall of *Halococcus* sp., strain 24. *Carbohydr Res* 36, 420-425.
- **Rodriguez-Valera, F. (1993).** Introduction to Saline Environments. In *The Biology of Halophilic Bacteria*. Eds. R. H. Vreeland & L. I. Hochstein. pp.1-23. CRC Press Inc, Boca Raton.
- **Rodriguez-Valera, F. (2002).** Approaches to prokaryotic biodiversity: a population genetics perspective. *Environ Microbiol* 4, 628-633.. A. Oren. pp. 27-36. CRC Press, Boca Raton. London, New York, Washington D. C.
- **Rodriguez-Valera, F., Acinas, S. G. & Antøn, A. (1999).** Contribution of Molecular Techniques to the Study of Microbial Diversity in Hypersaline Environments. In *Microbiology and Biogeochemistry of Hypersaline Environments*. Ed. A. Oren. pp. 27-36. CRC Press, Boca Raton. London, New York, Washington D. C.
- **Rodriguez-Valera, F., Juez, G. & Kushner, D. J. (1982).** Halocins: Salt-dependant bacteriocins produced by extremely halophilic rods. *Can J Microbiol* 28, 151-154. Rodriguez-

Valera, F., Juez, G. & Kushner, D. J. (1983). *Halobacterium mediterranei* sp. nov., a new carbohydrate-utilizing extreme halophile. *Syst Appl Microbiol* 4, 369-381.

- **Rodriguez-Valera, F., Ruiz-Berraquero, F. & Ramos-Cormenzana, A. (1980).** Isolation of Extremely Halophilic Bacteria Able to Grow in Defined Media with Single Carbon Sources. *J Gen Microbiol* 119, 535-538.
- **Rodriguez-Valera, F., Ruiz-Berraquero, F. & Ramos-Cormenzana, A. (1981).** Characteristics of the heterotrophic bacteria populations in hypersaline environments of differing salinities. *Microbiol Ecol* 7, 335-243.
- **Rodriguez-Valera, F., Ventosa, A., Juez, G. & Imhoff, J. F. (1985).** Variation of environmental features and microbial populations with salt concentrations in a multi-ponds saltern. *Microb Ecol* 11, 107-115. Rodriguez-Valera, F. & Lillo, J. G. (1992). Halobacteria as producers of polyhydroxyalkanoates. *FEMS Microbiology Rev* 103, 181-186.
- **Roeßler M., Müller V. (1998).** Quantitative and physiological analyses of chloride dependence of growth of *Halobacillus halophilus*. *Appl Environ Microbiol* 64: 3813-3817.
- **Roeßler M., Müller V. (2002).** Chloride, a new environmental signal molecule involved in gene regulation in a moderately halophilic bacterium, *Halobacillus halophilus*. *J Bacteriol* 184: 6207-6215.
- **Roeßler M., Wanner G., Müller V. (2000).** Motility and flagellum synthesis in *Halobacillus halophilus* are chloride dependent. *J Bacteriol* 182: 532-535.
- **Rohban R., Amoozegar M.A., Ventosa A. (2009).** Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolyses from Howz Soltan Lake, Iran. *Ind Microbiol Biotechnol* 36: 333-340.
- **Rohban R., Amoozegar M.A., Ventosa A. (2010b).** Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolyses from Howz Soltan Lake, Iran. *Ind Microbiol Biotechnol* 36: 333-440.
- **Saha B.C., Freer S.N., Bothast R.J. (1994).** Production, purification and properties of a thermostable (beta)-glucosidase from a color variant strain from *Aureobasidium pullulans*. *Appl Environ Microbiol* 60(10): 3774-3780.
- **Sánchez-Porro C., Amoozegar M. A., Rohban R., Hajighasemi M., Ventosa A. (2009).** *Thalassobacillus cyri* sp. nov., a moderately halophilic Gram-positive bacterium from a hypersaline lake. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 2565–2570.
- **Sánchez-Porro C., Martín S., Mellado E., Ventosa A. (2002).** Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. *J Appl Microbiol* 94:295–300.
- **Sanchez-Porro C., Martín S., Mellado E., Ventosa A. (2003a).** Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. *Appl Microbiol* 94: 295-300.

- **Sánchez-Porro C., Mellado E., Bertoldo C., Antranikian G., Ventosa A. (2003b).** Screening and characterization of the protease CP1 produced by the moderately halophilic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain CP76. *Extremophiles* 7: 221-228.
- **Sánchez-Porro C., Tokunaga H., Tokunaga M., Ventosa A. (2007).** *Chromohalobacter japonicus* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a Japanese salty food. *Int J Syst Evol Microbiol* 57, 2262–2266.
- **Saxena K.R., Dutt K., Agarwal L., Nayyar P. (2007).** A highly and thermostable alkaline amylase from a *Bacillus* sp. PN5. *Bioresource Technol* 98:260–265.
- **Setati M.E. (2009).** Diversity and industrial potential of hydrolase producing halophilic/halotolerant eubacteria. *Afr J Biotechnol* 9 (11): 1555-1560.
- **Shafiei M., Ziaee A-A., Amoozegar M.A. (2010).** Purification and biochemical characterization of a novel SDS and surfactant stable, raw starch digesting, and halophilic α -amylase from a moderately halophilic bacterium, *Nesterenkonia* sp. strain F. *Process Biochem*: 1-36.
- **Sorokin D.Y., Tourova T.P., Galinski E.A., Belloch C., Tindall B.J. (2006a).** Extremely halophilic denitrifying bacteria from hypersaline inland lakes, *Halovibrio denitrificans* sp. nov. and *Halospina denitrificans* gen. nov., sp. nov., and evidence that the genus name *Halovibrio* Fendrich with the type species *Halovibrio variabilis* should be associated with DSM 3050. *Int J Syst Evol Microbiol* 56:379–388
- **Stackebrandt E., Rainey F.A., Ward-Rainey L. (1997).** Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int J Syst Bacteriol* 47:79–491.
- **Tan T.C., Mijts B.N., Swaminathan K., Patel B.K.C., Divne C. (2008).** Crystal structure of the polyextremophilic α -amylase AmyB from *Halothermothrix orenii*: Details of a productive enzyme-substrate complex and an N domain with a role in binding raw starch. *J Mol Biol* 378: 852-870.
- **Tapingkae W., Tanasupawat S., Itoh T., Parkin K.L., Benjakul S., Visessanguan W., Valyasevi R. (2008).** *Natrinema gari* sp. nov., a halophilic archaeon isolated from fish sauce in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 2378–2383.
- **Thongthai C., McGenity T.J., Suntainalert P., Grant W.D. (1992).** Isolation and characterization of an extremely halophilic archaeobacterium from traditionally fermented Thai fish sauce (nam pla). *Lett Appl Microbiol* 14: 111–114.
- **Tomlinson, G. A. & Hochstein, L. I. (1972).** Studies on acid production during carbohydrate metabolism by extremely halophilic bacteria. *Can J Microbiol* 18, 1973-1976.
- **Tomlinson, G. A., Koch, K. & Hochstein, L. I. (1974).** The metabolism of carbohydrates by extremely halophilic bacteria: glucose metabolism via a modified Entner-Doudoroff pathway. *Can J Microbiol* 20, 1085-1091.

- **Vaisman N., Oren A. (2009).** *Salisaeta longa* gen. nov., sp. nov., a red, halophilic member of the Bacteroidetes. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:2571–2574.
- **Ventosa A., Nieto J.J., Oren A. (1998).** Biology of aerobic moderately halophilic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 62: 504–544.
- **Verhees, C. H., Kengen, S. W. M., Tuininga, J. E., Schut, G. J. & Adams M. W. W. (2003).** The unique features of glycolytic pathways in Archaea. *Biochem J* 375, 231-246.
- **Vidyasagar M., Prakash S., Mahajan V., Shouche Y.S., Sreeramulu K. (2009).** Purification and characterization of an extreme halothermophilic protease from a halophilic bacterium *Chromohalobacter* sp. TVSP101. *Braz J Microbiol* 40: 12-19.
- **Wang C-Y., Chang C-C., Chai Ng C., Chen T-W., Shyu Y-T. (2008a).** *Virgibacillus chiguensis* sp. nov., a novel halophilic bacterium isolated from Chigu, a previously commercial saltern located in southern Taiwan. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 341–345.
- **Wang C-Y., Ng C-C., Tzeng W-S., Shyu Y-T. (2009).** *Marinobacter szutsaonensis* sp. nov., isolated from a solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 2605–2609.
- **Wang X., Xue Y., Yuan S., Zhou C., Ma Y. (2008b).** *Salinicoccus halodurans* sp. nov., a moderate halophile from saline soil in China. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1537–1541. 90 .
- **Wejse P.L., Ingvorsen K., Mortensen K.K. (2003).** Purification and characterization of two extremely ha
- **Werber, M. M. (1980).** Halophilisme. *Biochimie* 62, 411-422.
- **Werber, M. M., Mevarech, M., Leieht, W. ~ Eisenberg, H. (1978)**In *Halophilic Bacteria*, Ed. F. Rodriguez-Valera. pp. 55-65. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- **Wieland, F. (1988).** The cell surfaces of halobacteria. In *Halophilic Bacteria*, Ed. F. Rodriguez-Valera. pp. 55-65. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- **Wieland, F. (19889).** The cell surfaces of halobacteria. In *Halophilic Bacteria*, Ed. F. Rodriguez-Valera. pp. 55-65. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- **Wright, A.-D. (2006).** Phylogenetic relationships within the order Halobacteriales inferred from 16S rRNA gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 1223-1227. Wu, L. C., Chow, K. C. & Mark, K. K. (1983). The role of pigments in *Halobacterium cutirubrum* against UV radiation. *Microbios Letters* 24, 85-90
- **YachaiM. (2009).** Carotenoid production by halophilc Archaea and its applications. Thesis of Doctorat, university Prince of Songkla. P. 173
- **Yachai M., Tanasupawat S., Itoh T., Benjakul S., Visessanguan W., Valyasevi R. (2008).** *Halobacterium piscisalsi* sp. nov., from fermented fish (pla-ra) in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 2136–2140.
- **Zalar P., de Hoog G.S., Gunde-Cimerman N. (1999).**Ecology of halotolerant dothideaceous black yeasts. *Studies in Mycology* 43: 38–48.

- **Zhi X.Y., Li W.J., Stackebrandt E. (2009).** An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol* 59: 589–608.
- **Zhilina T.N., Zavarzin G.A., Rainey F., Kevrim V.V., Kostrikina N.A., Lysenko A.M. (1996).** *Spirochaeta alkalica* sp. nov., *Spirochaeta africana* sp. nov., and *Spirochaeta asiatica* sp. nov., alkaliphilic anaerobes from the continental soda lakes in Central Asia and the East African Rift. *Int J Syst Evol Microbiol* 46: 305–312.