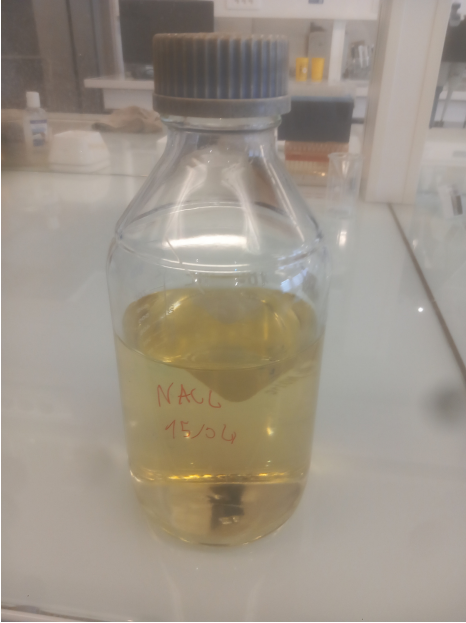


# L'effet du NaCl sur la croissance et la bioluminescence de la bactérie

- [Expérimentation](#)
- [Expérimentation 2](#)
- [Expérimentation 3](#)

# Expérimentation



## 1) Protocole expérimental.

J'ai mesuré la densité optique (DO) avec le spectrophotomètre à 600nm pour évaluer l'évolution de la croissance microbienne en fonction du sel. j'ai donc utilisé deux types de sels :

- Le NaCl pur (99,5%)
- Le sel marin Instant ocean. ( 85% de NaCl)

J'ai donc mis 200  $\mu$ L d'une suspension mère de la souche de photobactéries *Rattail* bioluminescente et 10mL de bouillon de culture avec du NaCl et avec du sel marin pour comparer l'efficacité de ces deux milieux de culture. J'ai ensuite mesuré la DO toutes les heures.

On a utilisé des cuves en polystyrène et le spectrophotomètre biochrom portable. On a fait le blanc avec les milieux et on a mesuré la DO des bactéries toutes les heures.

## 2) Résultats

Temps (heure)	DO sel marin	DO NaCl
1	0,030	0,014
3	0,082	0,042
4	0,164	0,081

5	0,247	0,147
6	0,303	0,194
7	0,368	0,267
8	0,457	0,316

**Tableau 1:** Mesure de la DO le 17/04/2025 en partant de la suspension mère de 42h d'incubation.

Temps (heure)	DO sel marin	DO NaCl
1	0,022	0,017
2	0,054	0,030
4	0,154	0,082
5	0,210	0,134
6	0,240	0,170
7	0,301	0,221

**Tableau 2 :** Mesure de la DO le 18/04/2025 en partant de la suspension mère de 66h d'incubation.

### 3) Discussion

#### 3.1) Croissance microbienne

On observe que la DO est plus élevée avec le sel marin ce qui indique que ce sel est plus favorable à la croissance de la bactérie que le NaCl pur. Le sel marin est riche en différents sels minéraux (figure 1) ce qui doit être plus favorable à la croissance microbienne. En traçant la courbe sur Excel, on obtient une droite sans mettre les valeurs en logarithme. Le temps de génération de la bactérie est plus longue qu'une 1h il faudrait donc mesurer les DO toutes les 2h pour pouvoir tracer une courbe de croissance.

Element	Instant Ocean	Seawater
Potassium	420	399
Calcium	400	412
Carbonate/bicarbonate	200	126
Bromide	56	67
Strontium	8.8	7.9
Boron	5.6	4.5
Fluoride	1.0	1.28
Lithium	0.3	0.173
Iodide	0.24	0.06
Barium	less than 0.04	0.014
Iron	less than 0.04	less than 0.001
Manganese	less than 0.025	less than 0.001
Chromium	less than 0.015	less than 0.001
Cobalt	less than 0.015	less than 0.001
Copper	less than 0.015	less than 0.001
Nickel	less than 0.015	less than 0.001
Selenium	less than 0.015	less than 0.001
Vanadium	less than 0.015	less than 0.002
Zinc	less than 0.015	less than 0.001
Molybdenum	less than 0.01	0.01
Aluminum	less than 0.006	less than 0.001
Lead	less than 0.005	less than 0.001
Arsenic	less than 0.004	0.002
Cadmium	less than 0.002	less than 0.001
Nitrate	None	1.8
Phosphate	None	0.2

\* Data for seawater values taken from *An Introduction to the Chemistry of the Sea*, 1998, M.E.Q. Pilson

Product	Concentration (g/L)	Alkalinity (mEq/L)	Calcium ion (mg/L)	Magnesium ion (mg/L)	Salinity (ppt)
Instant Ocean	38.0	3.0 – 4.0	349 - 392	1150 - 1310	32
Reef Crystals	38.0	3.0 – 4.0	381 - 429	1150 - 1310	32

Instant Ocean




Figure : 1 composition du sel marin

### 3.2) Bioluminescence

J'ai comparé l'intensité de bioluminescence. à 4h on commence à voir une bioluminescence mais qui est pale. on atteint le maximum de la bioluminescence au bout de 7h. Au bout de 17h, on remarque une intensité de bioluminescence plus importante avec le NaCl qu'avec le sel marin mais la différence est moins visible après 7h d'incubation. Il n'y a pas de corrélation entre croissance et bioluminescence. En effet, quand la DO est plus élevée en présence avec le sel marin qu'avec le NaCl alors qu'à l'inverse la bioluminescence est plus élevée en présence de NaCl. On rappelle que le sel marin est à 99,5% de pureté.

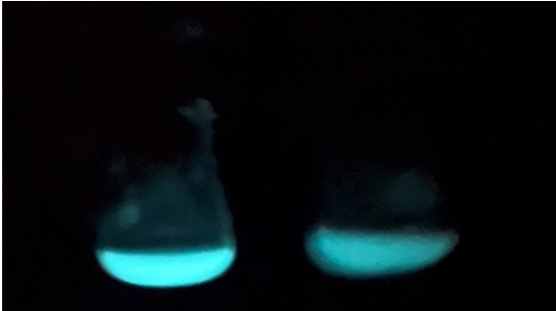
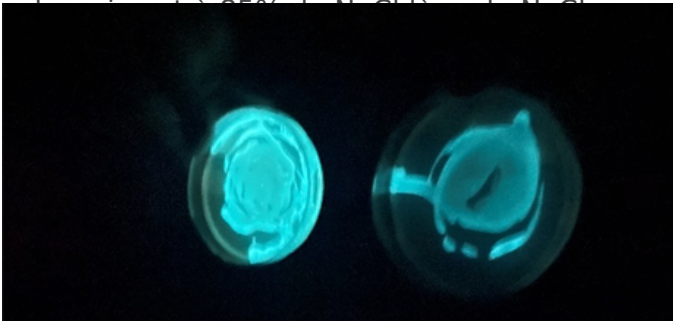


Figure 2 : Bioluminescence de *Rattail* sur milieu solide

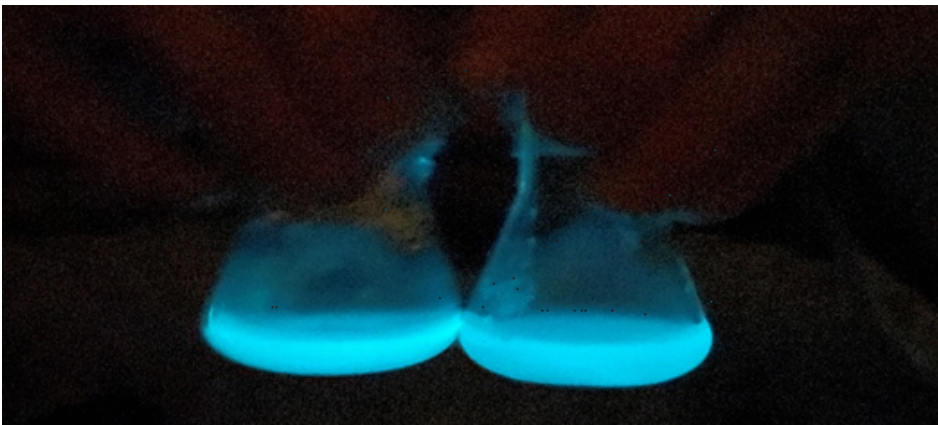


Figure 3 : Bioluminescence de *Rattail* sur milieu liquide (17h).

Figure 4: Bioluminescence de *Rattail* sur milieu liquide (7h).

# Expérimentation 2

## 1) Protocole expérimental

J'ai lancé deux cultures de bactérie :

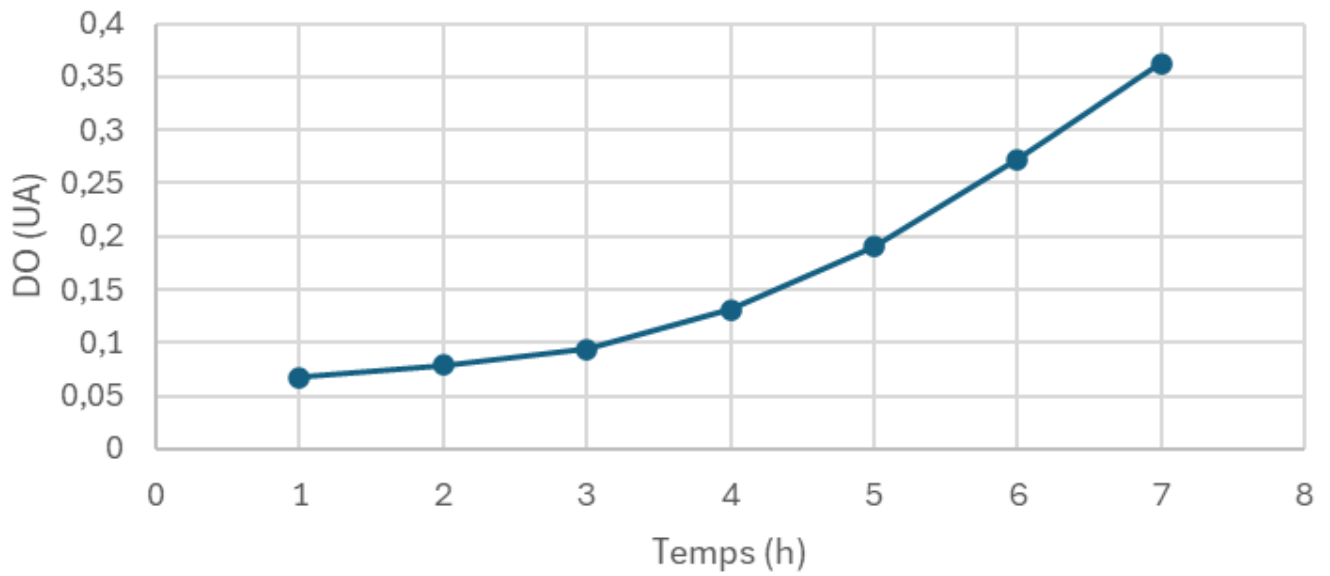
- 200 $\mu$ L de bactéries + 10mL de milieu classique
- 200  $\mu$ L de la suspension bactérienne + 10mL de milieu avec du NaCl

J'ai mesuré la DO toutes les heures à 600nm au spectrophotomètre portable biochrom.

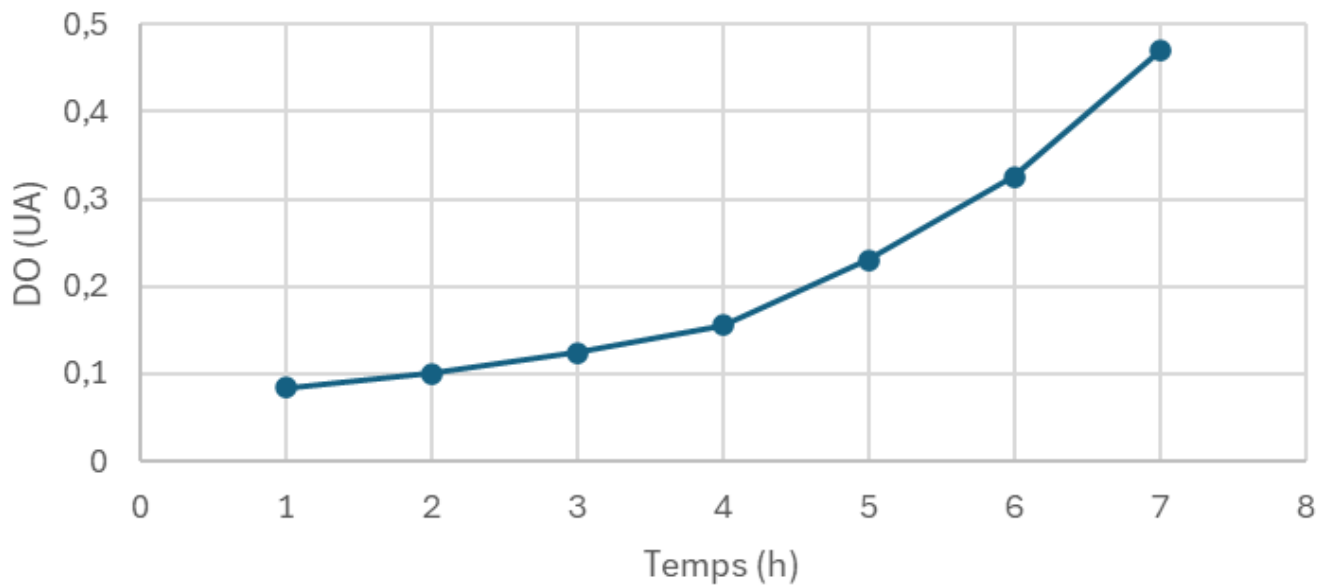
## 2) Résultats

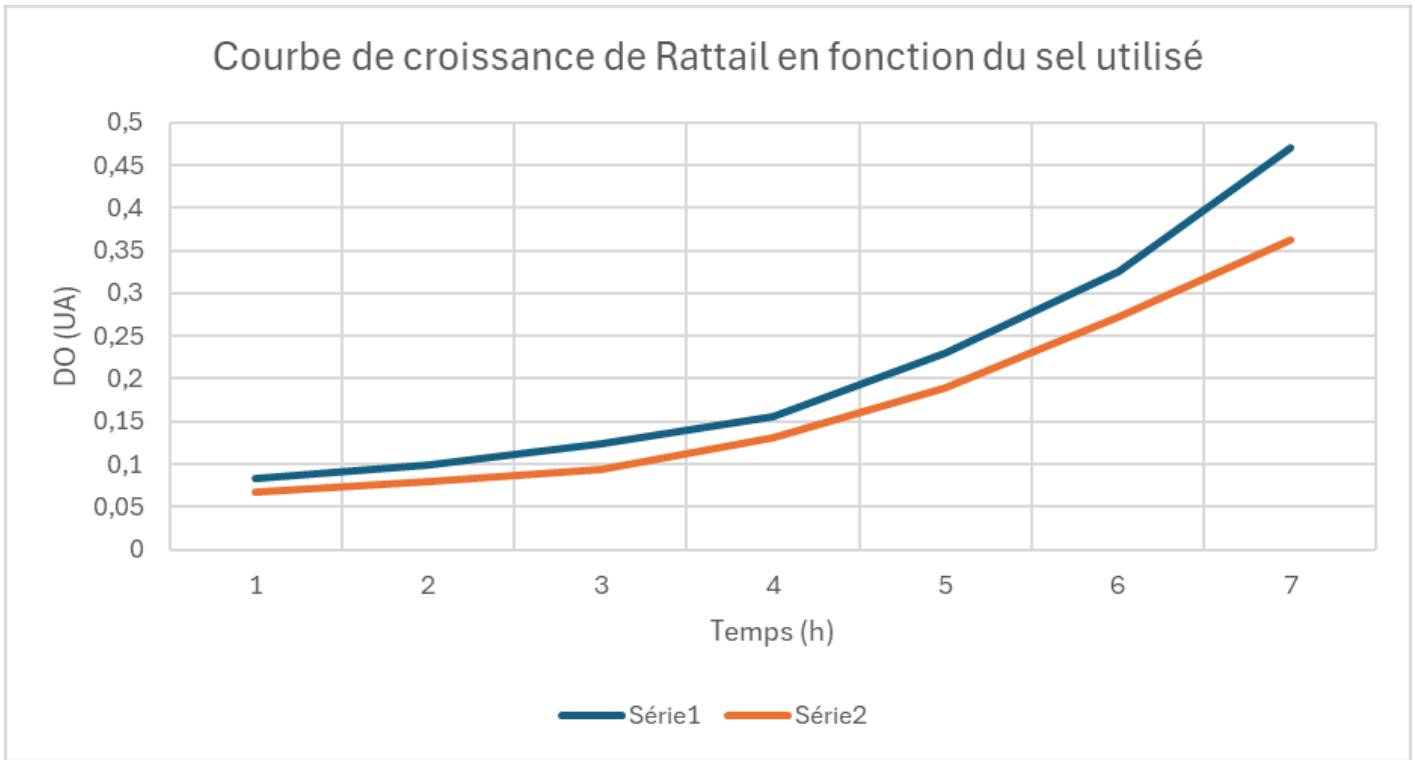
DO avec le Nacl	DO avec le sel marin		
DO 1h= 0,067	DO 1h=0,084		
DO 2h= 0,079	DO 2h= 0,100		
DO 3h= 0,094	DO 3h= 0,124		
DO 4h= 0,131	DO 4h= 0,156		
DO 5h= 0,190	DO 5h= 0,230		
DO 6h= 0,272	DO 6h= 0,326		
DO 7h= 0,363	DO 7h= 0,470		

Courbe de croissance de Rattail en fonction du NaCl



Courbe de croissance de Rattail en fonction du sel marin





### 3) Discussion

La tendance se confirme. Le NaCl ralentit la croissance de la bactérie. Cependant, on observe que la bactérie a une intensité de bioluminescence plus élevée en présence de NaCl. On peut supposer que le NaCl à 99% de pureté induit un stress à la bactérie ce qui doit augmenter l'activité de la luciférase bactérienne.

# Expérimentation 3

## 1) Bibliographie

Des chercheurs malaisiens ont testé des concentrations de NaCl sur la bactérie *Photobacterium* sp. Ils ont mesuré la bioluminescence de la bactérie en fonction de différentes concentrations de NaCl : 5g/L, 10g/L, 15g/L, 20g/L, 30g/L, 40 g/L et 50g/L .

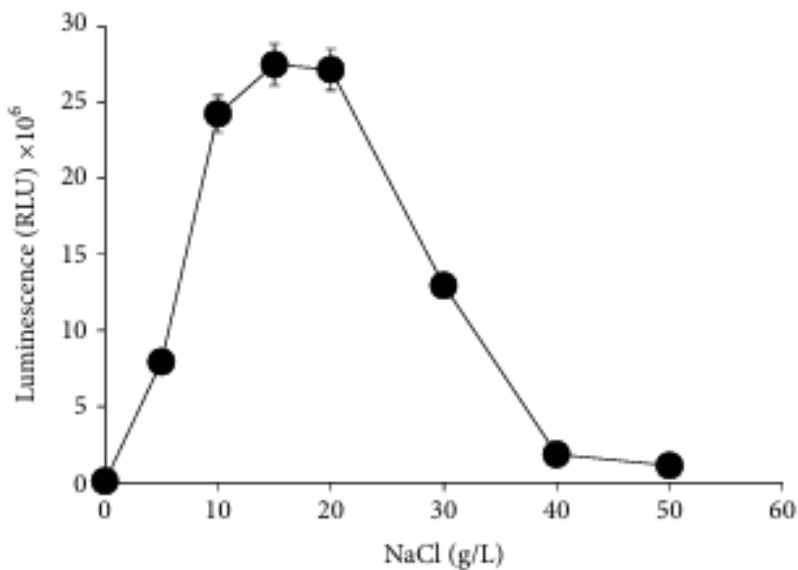
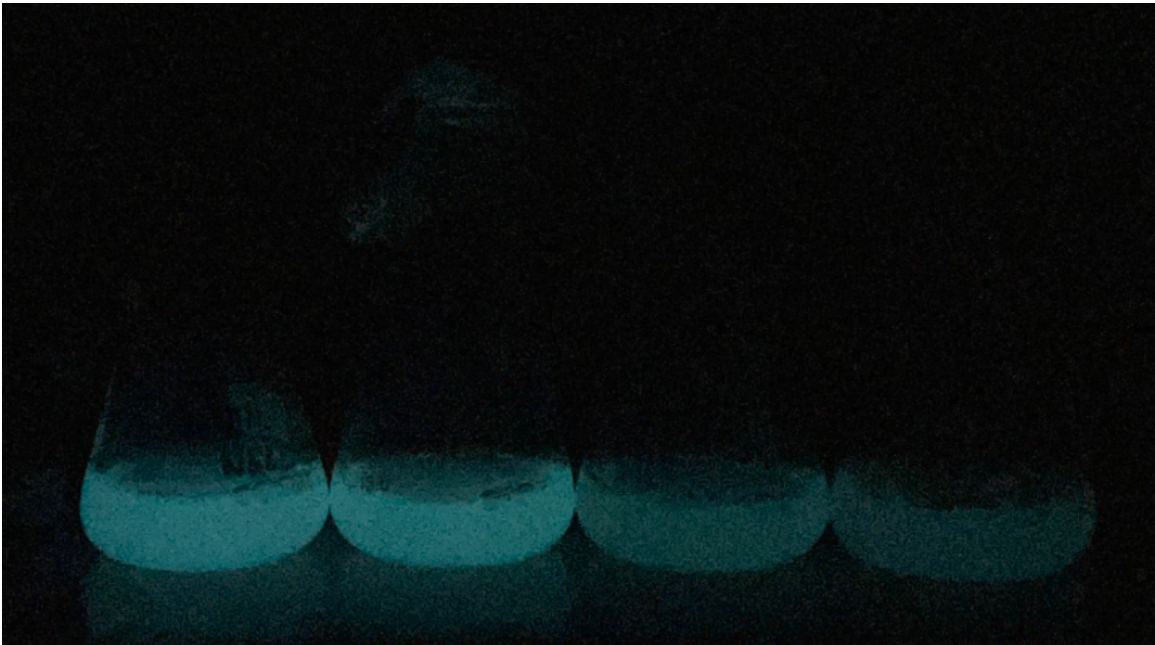


FIGURE 6: Effects of sodium chloride on bioluminescence production by *Photobacterium* sp. strain MIE. The cultures were grown in luminescence media containing different concentrations of sodium chloride and incubated in an orbital shaker (100 rpm) for 12 hours at room temperature. Data is mean  $\pm$  standard error of the mean ( $n = 3$ ).

## 2) Protocole expérimental

J'ai préparé des milieux classiques aux concentrations de NaCl de 10g/L, 20g/L, 30 g/L et 40g/L. Ces milieux ont été autoclavés. J'ai ensuite préparé 5 petits erlenmeyer dans lequel j'ai mis 200  $\mu$ L de suspension bactérienne dans 10 mL de milieu. J'ai également lancé une culture avec 10ml de milieu sel marin et 200 $\mu$ L de suspension bactérienne.

## 3) Résultats



**Figure 1: la bioluminescence de la bactérie en fonction de la concentration en NaCl**

Le milieu utilisé	Intensité de la bioluminescence
NaCl 10g/L	0
Sel marin	+
NaCl 20g/L	+
NaCl 30g/L	+++
NaCl 40g/L	+++

#### **4) Discussion**

Nous avons obtenu des résultats différentes de la littérature. En effet, à 10g/L nous obtenons aucune bioluminescence. En revanche à 40g/L, la bioluminescence est très élevée contrairement à la littérature où ils ont obtenus aucune bioluminescence. Ces différences peuvent s'expliquer par le fait que nous ne manipulons pas la même espèce de photobactrium que dans la littérature et que la composition du milieu utilisé dans la littérature est différente.