

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR – KHENCHELA



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : **Biologique**

Option : **Microbiologie appliquée**

Thème :

Etude de quelques activités enzymatiques des souches de levures et moisissures isolées d'un échantillon du sol irriguée des eaux usées

Réalisé par :

KADDOURI RABAB

BALLOULI CHAIMA

FARROUDJ MEROUA

Jury de soutenance

Présidente : Dr. SEBIHI F

(MCA) Univ. Abbés Laghrou- Khenchela

Examinatrice : Dr. MALLEL H

(MCB) Univ. Abbés Laghrou- Khenchela

Encadreur : Dr. LEULMI .N

(MCB) Univ. Abbés Laghrou- Khenchela

Remerciements

Avant Tout nous remercions "ALLAH" Le tout puissant, le Miséricordieux, Qui nous a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la persistance pour accomplir ce modeste travail.

Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons nos plus vifs remerciements

A Mme LÉULMI, N. maître de conférence à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abbes Laghrou-Khenchela, pour nous avoir proposé ce sujet, pour son encadrement, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides, sa patience, ses conseils scientifiques judicieux, sa compétence et sa gentillesse qui m'ont permis de bien mener ce modeste travail.

Également à Mes jury :

A. Mme Sebhi Fatima Nous adressons nos remerciements les plus Sincères pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.

A. Mme Malale Hanane, Pour avoir bien voulu siéger dans ce jury afin d'examiner ce mémoire et nous éclairer par ces précieux conseils.

Nos remerciements aussi vont à tous les enseignants et enseignantes qui, Nous ont fait former durant ces 5 années, en nous préparant pour cette dernière année de master.

Merci Pour vos encouragements et votre gentillesse.

Nous Associons mes remerciements à toutes nos amies tous la promotion 2021/2022 master microbiologie appliquée pour leur solidarité, leur aide, et leur disponibilité.

Un grand merci à toute l'équipe du Campus des Laboratoires Pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, en particulier Mme CHORFI Rafika et Mme MIZANE Sarra, qui ont mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie cette mémoire :

A la mémoire de mon mère :

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi

Ma chère maman je t'aime.

A ma chère Père :

En hommage à tous les sacrifices que tu as consenti pour moi durant mes longues années d'études. Je te remercie d'avoir fait de moi ce que je suis maintenant et de m'avoir appris de vivre dans l'honneur et dans la dignité.

Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer réellement ta juste valeur. Chaque ligne de cette mimore, chaque mot et chaque lettre t'exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être toujours avec moi. Je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi.

Ma chère Papa je t'aime.

A mon très cher mari Saddam

Cher mari j'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de Reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et ton soutien, tes encouragements pendant toute cette période de mimore et ta présence à mes côtés dans les moments de joie et de peine.

A mes sœurs : Wassila et Sara

A Mon frère: Adel, Faride, Hamza

À tous les membres de ma famille

A mes amis

A tous les étudiants de microbiologie

Et à tous ceux que ma réussite leur tient à cœur

KADDOURI RABAB...

Dédicaces

Je dédie ce travail

À l'homme héroïque qui a sacrifié sa vie pour que je continue à briller comme une haute étoile dans le ciel, que

Dieu te protège, mon père

Au bijou rare Aux plus belles femmes du monde qui ont travaillé dur pour me voir monter aux plus hauts

échelons, mon amour, ma mère

À l'âme pure de mon frère Fouzi

A mon bras droit mon soutien dans la vie mon frère Bassem

Aux trois plus belles princesses du monde, Amal, Sarah et Botheyna, merci d'être toujours à mes côtés

A Mes Poussins, Adem, Aya

A ma chère grand-mère al hadja za3ra

A Mes Adorable Cousines : Khawla, Salma, Aicha, Sawsene , Zoubida , Rayene , Widade , Bahai ,

A la famille Balouli et la famille Maddakou

A Mes Trinôme: Rabab et Marwa Ceux qui ont partagé la fatigue et la joie et la bounheur avec moi tout au

long du parcours scolaire, je leur souhaite du succès

A Mes collègues tous la promotion 2021/2022 master microbiologie appliquée

A Mes Merveilleuse Copines :Houda, Drain, Kawther, Alima, Rayen , chaïma, chahinaz,

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

BALOULI CHAÏMA...

Dédicaces

Je dédie ce projet aux être les plus chères à mon cœur :

La meilleur de toutes les mères fatima ,

qui ma soutenu durant toute ma vie, qui m'a aidé durant mes années d'études, qui m'a appris à aimer le travail et le bon comportement, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit .

Je souhaite prouver mon grand remerciement qui ne sera jamais suffisant à elle Que j'espère la rendre fière par ce travail

Mon très cher père Ammar

Pour être le bon exemple de père par son soutien ses encouragements et aides des mes premiers d'études jusqu'à ce jour

Mes chères sœurs (Hadil, Rawia, Kawther) je t'aime beaucoup Mon cher frère Ayoub

Je consacre un grand amour à ma grand-mère et mon grand-père décédés et je leurs dédie ce travaille je le dédie aussi pour tous ma familles Faroudj et mes chers amis qui me connaissent

De spéciales dédicaces pour ma belle trinôme Rabab et chaima et je la remercie d'avoir participé à ce travail

FAROUDJ MAROUA...

Table des matières

Résumé	6
Introduction	1
Introduction	1
Etude bibliographique	1
I. Le sol, une ressource dynamique vivant	3
1 Le sol.....	3
2 Les composants du sol	3
2.1 La phase solide	4
a. Fraction minérale	4
b. Fraction organique	5
2.2 La phase liquide du sol	6
2.3 La phase gazeuse : atmosphère du sol	7
II. Diversité des microorganismes du sol	8
1 Bactéries telluriques.....	9
2 Actinobacteries	13
3 Algues	14
4 Les protozoaires	16
5 Champignons telluriques	16
5.1.1 Les champignons symbiotiques :	17
5.1.2 Les champignons phytopathogènes :	17
5.1.3 Les champignons saprophytes (libres) :	17
<input type="checkbox"/> L'importance industrielle des champignons	19
<input type="checkbox"/> L'importance environnementale des champignons	20
<input type="checkbox"/> l'importance médicale des champignons	21
6 Les levures	21
6.1 Habitat	21

6.2	Reproduction des levures.....	22
a.	Reproduction asexuée ou végétative.....	22
b.	Reproduction sexuée.....	23
III.	Enzymes potentiellement importants en industrie.....	24
1	Les enzymes hydrolases.....	24
1.1	Alpha-amylase.....	24
a.	Mode d'action.....	25
b.	Les microorganismes producteurs de l' α -amylase.....	26
c.	Utilisation industrielle de l' α -Amylase.....	26
1.2	La cellulase.....	27
a.	Mode d'action.....	28
b.	Les microorganismes producteurs de la cellulase.....	29
c.	Utilisation industrielle de la cellulase.....	30
a.	Mode d'action.....	32
b.	Les microorganismes producteurs de la pectinase.....	33
c.	Utilisation industrielle de la pectinase.....	33
2	Oxydo-réductases.....	34
2.1	Les chitinases.....	34
a.	Le mode d'action des chitinases.....	34
b.	Les microorganismes producteurs de la chitinase.....	35
c.	Les applications industrielles de la chitinases.....	35
2.2	Biomédical.....	36
2.3	Les protéases.....	37
a.	Mode d'action.....	37
b.	Les microorganismes producteurs de protéase.....	38
c.	Utilisation industrielle de la protéase.....	38
2.4	La Lipase.....	39

a. Mode d'action	39
b. Les microorganismes producteur de lipase.....	41
c. Application de la lipase dans l'industrie.....	41
Matériel et Méthode	43
1 Objectif de l'étude	43
2 Echantillonnage.....	43
3 Préparation de la solution mère et les dilutions.....	44
4 Isolements des levures et des moisissures	44
5 Purification des levures et moisissures	45
6 La conservation.....	46
7 Recherche des quelques activités enzymatiques des isolats sélectionnés de levures et des moisissures	46
7.1 Recherche de l'amylase	46
7.2 Recherche de la cellulase.....	46
7.3 Recherche d'une Gélatinase	47
7.4 Recherche des lipases (Recherche des estérases).....	47
7.5 Recherche de la tyrosinase	47
Résultats Et Discussion.....	42
1 Isolement et purification des levures et des moisissures	48
2 Discussion de dénombrement	48
3 L'identification des levures et moisissures	50
3.1 Observation microscopique des levures	50
3.2 Observation microscopique des moisissures	51
4 Mise en évidence des activités enzymatiques.....	51
4.1 Mise en évidence de l'activité enzymatique Amylolytique.....	52
4.2 Mise en évidence de l'activité cellulotique	53
4.3 Mise en évidence de l'activité protéolytique.....	55

4.4 L'activité enzymatique de tyrosinase	55
Conclusion Générale Et Perspectives.....	58
Références Bibliographique	59
Annexes.....	64

Liste des abréviations

°C	:	Degré Celsius
G	:	Gramme.
H	:	Heure.
HgCl₂	:	Solution de Chlorure de Mercure.
H⁺	:	Hydron
ml	:	Millilitre.
mm	:	Millimètre.
NC	:	Nombre de colonie.
PH	:	Potentiel Hydrogène.
PDA	:	Potato Dextrose Agar.
µm	:	Micromètre.
PE	:	Pectines estérases
PGL	:	Polygalacturonate lyase
PGA	:	Acide polygalcturonique
PG	:	Polygalcturonases
PMG	:	Polymethyl-galacturonase
PMGL	:	Polymethyl-galacturonate lyase
Sab	:	Sabouraud
ka	:	Kilo pascal.
GC	:	coefficient de charge.

Liste des figures

Figure 1 Schema D'une Coupe Du Sol	3
Figure 2 Les Composantes Du Sol.....	4
Figure 3 texture Et Structure Du Sol.....	5
Figure 4 les Fractions De Matiere Organique Et Leur Dynamique Dans Le Sol.....	6
Figure 5 diversite Des Microorganismes Du Sol	9
Figure 6 exemples De Bacteries intervenant sur Le Cycle De L'azote.	11
Figure 7 microbiologie Des Principaux Genres D'actinobacteries.....	13
Figure 8 Representation Schematique De Quelques Protozoaires Flagelles.....	16
Figure 9 principaux Groupes Des Champignons	17
Figure 10 division D'une Cellule De Levure Par Bourgeonnement	22
Figure 11 cycle De Reproduction De La Levure.	23
Figure 12 mode De D'action De L' α -Amylase.....	25
Figure 13 Mode D'action De Divers Composants De La Cellulase	28
Figure 14 Mode D'action De La Pectinase	32
Figure 15 Chitine: Substrat Hydrolyse Totalement Par Les Chitinases.....	34
Figure 16 : Chitosane : Substrat Hydrolyse Partiellement Par Les Chitinase.....	35
Figure 17 Mecanisme D'action Des Proteases.....	37
Figure 18 Modifications Conformationnelles Des Lipases En Presence Et Absence De Substrat	40
Figure 19 Methode De Prelevement De L'echantillon Du Sol.....	43
Figure 20 Schematisations De Methode De Dilution.....	44
Figure 21 Technique D'ensemencement Sur Milieu Sabouraud Et Pda A Partir De Solution Mere Et Des Dilutions Decimales.....	45
Figure 22 Photographe Mise En Evidence L'isolement Des Moisissures Sur Milieu Pda.	48
Figure 23 Photographe Mise En Evidence L'isolement Des Levures Sur Milieu Sabouraud.	48
Figure 24 Aspects Sur Milieu Sabouraud Des Isolants Purs Des Levures.....	49
Figure 25 Aspects Sur Milieu Pda Des Isolats Purs Des Moisissures	49
Figure 26 L'observation Microscopique Des Levures (Observationx40).....	50
Figure 27 L'observation Microscopique Des Moisissures Noires (Observationx10).....	51
Figure 28 L'observation Microscopique Des Moisissures Blanche(Observationx100).	51
Figure 29 Mise En Evidence De L'activite Amylyolytique Des Levures.....	52
Figure 30 Mise En Evidence De L'activite Amylyolytique Des Moisissures.	53

Figure 31 Mise En Evidence De L'activite Cellulolytique De Levure	54
Figure 32 Mise En Evidence De L'activite Cellulotique Des Moisissures.....	54
Figure 33 Mise En Evidence De L'activite Proteolytique Des Levures.	55
Figure 34 Mise En Evidence De L'activite Proteolytique Des Moisissures.....	55
Figure 36 Mise En Evidence De L'activite De Tyrosine Des Moisissures.....	56
Figure 35 Mise En Evidence De L'activite De Tyrosine Des Levures.....	56
Figure 37 Mise En Evidence De L'activite De Lipase Des Levures.	56
Figure 38 Mise En Evidence De L'activite De Lipase Des Isolats Des Moisissures.....	57

Liste des Tableaux

Tableau 1 Principaux Constituants Du Sol 7

Tableau 2 Les Especies Bacteriennes Recentes Isolees Du Sol..... 11

Tableau 3 Les Especies D’algues Recentes Isolees Du Sol. 14

Tableau 4 Caracteres Communs Et Distinctifs Des Principales Classes De Champignons Et Eucaryotes Unicellulaires Assimiles..... 18

Tableau 5 Les Principaux Microorganismes Producteurs D’ α -Amylase 26

Tableau 6 Les Applications Industrielles De L’ α -Amylase.. 27

Tableau 7 Exemples Des Microorganismes Producteur De La Cellulase..... 29

Tableau 8 Les Applications Industrielles De La Cellulase. 30

Tableau 9 Exemples Des Microorganismes Producteurs De La Pectinase..... 33

Tableau 10 Les Exemples Microorganismes Producteur De La Chitinases..... 35

Tableau 11 Les Applications Industrielles De La Chitinases. 35

Tableau 12 Exemples Des Proteases Microbiennes 38

Tableau 13 Exemple Microorganismes Producteur De Lipase 41

Tableau 14 Nombre D’isolats Des Levures Et Champignons Par Site Explore 48

Tableau 15 Resultats D’activite Enzymatique Des Isolats De Levures Selectionnes..... 51

Tableau 16 Resultat D’activite Enzymatique Des Isolats De Moisissures Selectionnes 52

Résumé

Étude de quelques activités enzymatiques de souches de levures et moisissures isolées d'un échantillon du sol irriguée des eaux usées

Résumé

Notre travail s'est intéressé à l'étude de quelques activités enzymatiques des levures et moisissures isolées à partir de sol irriguée par les eaux usées de l'Oued Meskiana Oum albaoughi.

Ce travail s'intéresse à la mise en évidence des activités hydrolase chez les souches levuriennes et moisissures, pour cela la première partie de ces travaux de recherche a porté sur l'isolement des souches levuriennes et moisissures à partir de sol prélevé.

Les souches ont été d'abord purifiées sur le milieu **Sabouraud pour les levures et PDA pour les moisissures**, avant d'être ensemencées sur des milieux spécifiques pour révéler les différentes activités enzymatiques recherchées. En fait, ces milieux contenaient du **l'amidon, de la cellulose, de la L-tyrosine, de la gélatine, et du tween 80** et ceci pour détecter la production du **l'amylase, la cellulase, la L-tyrosinase, la Gélatinase, et lipase** incubée pendant 3 à 7 jours à 25 à 30°C.

La plupart des souches sélectionnées montrent des résultats positifs, la cellulase et l'amylase sont les enzymes les plus produites par nos souches de levures, cependant la gélatinase et la tyrosinase et la lipase sont les moins répondues pour les levures. Et pour les moisissures l'amylase et la cellulase, la lipase sont les enzymes les plus actifs, tandis que la gélatinase et la tyrosinase ne sont pas produits par les isolats testés.

Ces résultats montrent clairement que ce sol irrigué d'eaux usées représente une source importante de souche possédant un potentiel de production des enzymes doté des applications industrielles.

Mots clés : le sol, activité enzymatique, levure, moisissure.

Study of some enzymatic activities of strains of yeasts and molds isolated from soil samples irrigated with wastewater

Abstract

Our work focused on the study of some enzymatic activation of yeasts and molds isolated from soil irrigated by wastewater from the Oued Meskiana Oumalbaoughi.

This work focuses on the demonstration of hydrolase activities in yeast and mold strains, for this the first part of this research work focused on the isolation of yeast and mold strains from sampled soil.

The strains were first purified on Sabouraud medium for yeasts and PDA for molds, before being inoculated on specific media to reveal the different enzymatic activities sought. In fact, these media contained starch, cellulose, L-tyrosine, gelatin, and tween 80 to detect the production of amylase, cellulase, L-tyrosinase, gelatinase, and lipase incubated for 3-7 days at 25-30°C.

In the light of these results, we can say that there are yeast isolates and mold isolates obtained after isolation made one or more enzymatic activity (amylolytic activity proteolytic activity cellulolytic activity lipid activity), as there are isolates that do not do one or more enzymatic activity.

Most of the strains gave positive results which demonstrate their importance, cellulase and amylase are the enzymes most produced by our yeast strains, while gelatin and tyrosine and lipase are the most common yeasts. And for molds amylase and cellulase, lipase are the most active enzymes, while gelatin and tyrosine are not produced by our mold strains.

These results clearly show that this soil irrigated with wastewater represents an important source of strain with a potential for the production of enzymes with industrial applications.

Keywords: soil, enzymatic activity, yeast, mold.

دراسة بعض الأنشطة الأنزيمية لسلاسل الخمائر والعفن المعزولة من عينات التربة المروية بمياه الصرف الصحي.

الملخص

ركز عملنا على دراسة بعض النشاط الأنزيمي للخمائر والقوالب المعزولة من التربة المروية بمياه الصرف الصحي من واد مسكانة أم البواقي.

يركز هذا العمل على عرض أنشطة هيدرولاز في سلاسل الخميرة والعفن ، ولهذا ركز الجزء الأول من هذا العمل البحثي على عزل سلاسل الخميرة والعفن من عينات النعل.

تم تنقية السلاسل أولاً على وسط Sabouraud للخمائر و PDA للقوالب، قبل تلقيحها في وسط محدد للكشف عن الأنشطة الأنزيمية المختلفة المطلوبة. في الواقع ، احتوت هذه الوسائط على النشا ، السليلوز ، L-tyrosine ، الجيلاتين ، و tween 80 للكشف عن إنتاج الأميلاز ، السليلوز ، L-tyrosinase ، الجيلاتيناز ، والليباز المحتضن لمدة 3-7 أيام عند 25-30 درجة مئوية.

في ضوء هذه النتائج يمكننا القول أن هناك عزلات خميرة وعزلات العفن التي تم الحصول عليها بعد العزل قامت بنشاط إنزيمي واحد أو أكثر (نشاط أميلوريت نشاط بروتيني نشاط سلولوزي نشاط دهني) ، حيث أن هناك عزلات لا تقوم بواحد أو أكثر من الأنشطة الأنزيمية.

أعطت معظم السلاسل نتائج إيجابية تدل على أهميتها ، السليولازوالأميلاز هما أكثر الإنزيمات التي تنتجها سلاسل الخميرة لدينا ، في حين أن الجيلاتين والتيروزين والليباز هما الخمائر الأكثر شيوعاً. وبالنسبة لقوالب الأميلاز والسيلولوز ، فإن الليباز هو أكثر الإنزيمات نشاطاً ، بينما لا يتم إنتاج الجيلاتين والتيروزين بواسطة سلاسل العفن لدينا.

تظهر هذه النتائج بوضوح أن هذه التربة المروية بمياه الصرف الصحي تمثل مصدراً مهماً للضغط مع إمكانية إنتاج الإنزيمات مع التطبيقات الصناعية.

الكلمات المفتاحية: التربة ، النشاط الأنزيمي ، الخميرة ، العفن.

Introduction

Introduction

Le sol est un produit écologique largement exploré comme niche pour les microorganismes qui produisent des composés naturels biologiquement actifs (**Ganesh Kumar et al, 2010**).

Les microorganismes (les champignons, les bactéries, les algues, les protozoaires...) Jouent un rôle important à la fois dans la formation du sol et dans son fonctionnement (**Robert et Chenu, 1992**).

Les champignons microscopiques (ou mycètes) sont des organismes hétérotrophes non photosynthétiques. Ils se répartissent en deux grands groupes : les levures et les moisissures (**Bousseboua 2003**).

En général, les moisissures du sol forment une biomasse aussi importante que celle des bactéries. Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologiques des sols, par : leurs interactions avec les systèmes racinaires des plantes, leur aptitude de colonisation et de dégradation des débris organiques de grande taille et des composés de structures complexes. De nombreux travaux indiquent la prédominance de : *Mucor*, *Trichoderma* et *Aspergillus*, alors que *Rhizopus*, *Fusarium*, *Zygorhynchus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium* et *Verticillium* sont couramment isolés.

Les levures sont des micro-organismes eucaryotes qui incluent un groupe hétérogène de microbes représentant les phylums ascomycètes et basidiomycètes. La levure joue plusieurs rôles importants fermentation alimentaire, y compris la production d'alcool, la production et utilisation d'acides organiques, amélioration de la saveur, de l'arôme et de la texture, amélioration des propriétés nutritionnelles et réduction des facteurs antinutritionnels et des toxines (**Amit et al, 2018**).

Les enzymes d'origine microbienne présentent des propriétés et des spécificités diverses. Ces propriétés reflètent de plus en plus leurs utilisations dans divers domaines d'applications, tels que l'industrie alimentaire humaine et animale, les détergents pour lessives, l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique. Environ 40% des enzymes industrielles sont d'origine fongique (**Botton et al. 1990**). Appartenant aux enzymes de la famille des hydrolases telles que, l' α -amylase, la cellulase, la gélatinas, tyrosinase, lipase, sont parmi les plus importantes enzymes à l'échelle industrielle, ce qui les rendent l'un des outils-clés des biotechnologies (**Little, 2004**).

En effet, le marché mondial des enzymes est représenté par 80% des hydrolases, Particulièrement les amylases et les protéases et les cellulases et Gélatinase... (**Morvan ,2010**).La

demande de différentes enzymes est en augmentation continue. Les enzymes de champignons sont de plus en plus utilisées en industries pour faciliter les procédés et diminuer le coût énergétique du produit fini en particulier dans les IAA (Industrie Agro- Alimentaire).

Ce travail a pour objectif est l'étude de quelques activités enzymatiques des souches de levures isolées d'un échantillon du Sol irriguée des eaux usées.

Il s'articule autour de deux axes principaux. Nous avons isoler des souches de levures et de moisissures à partir d'un sol bien déterminé. Par la suite, nous avons étudiés quelques activités enzymatique de quelques isolats choisi aléatoirement à savoir (Recherche de l'amylase, Recherche de la gélatine, Recherche de lipase, Recherche de l-tyrosine, Recherche de cellulose).

Cette mémoire est scindée en trois parties : La première partie est consacrée à une revue bibliographique composée de deux chapitres. Le premier chapitre décrit la biodiversité de la flore du sol particulièrement en levures et en moisissures .

La deuxième partie de ce travail est dédiée à la partie expérimentale, qui regroupe les différentes étapes utilisées dans cette étude : isolement des souches, purification, conservation et le test enzymatiques.

La troisième partie est consacrée à une synthèse des principaux résultats obtenus, qui sont discutés et suivis par une conclusion générale et des perspectives pour ce travail de recherche.

Etude
bibliographique

I. Le sol, une ressource dynamique vivant

1 Le sol

Le sol est un milieu fragile et très complexe, trop longtemps considéré comme un simple support de l'agriculture. C'est un milieu vivant, interface entre la biomasse, l'atmosphère et l'hydrosphère. Le sol joue un rôle prépondérant dans le déterminisme de la qualité des eaux, de l'air et de la chaîne alimentaire (Sara raouia ; 2008). Les cinq principaux facteurs impliqués dans la formation du sol sont la roche mère, le climat, la topographie, l'activité biologique et le temps (Figure 1) (Atlas et al. 1992).

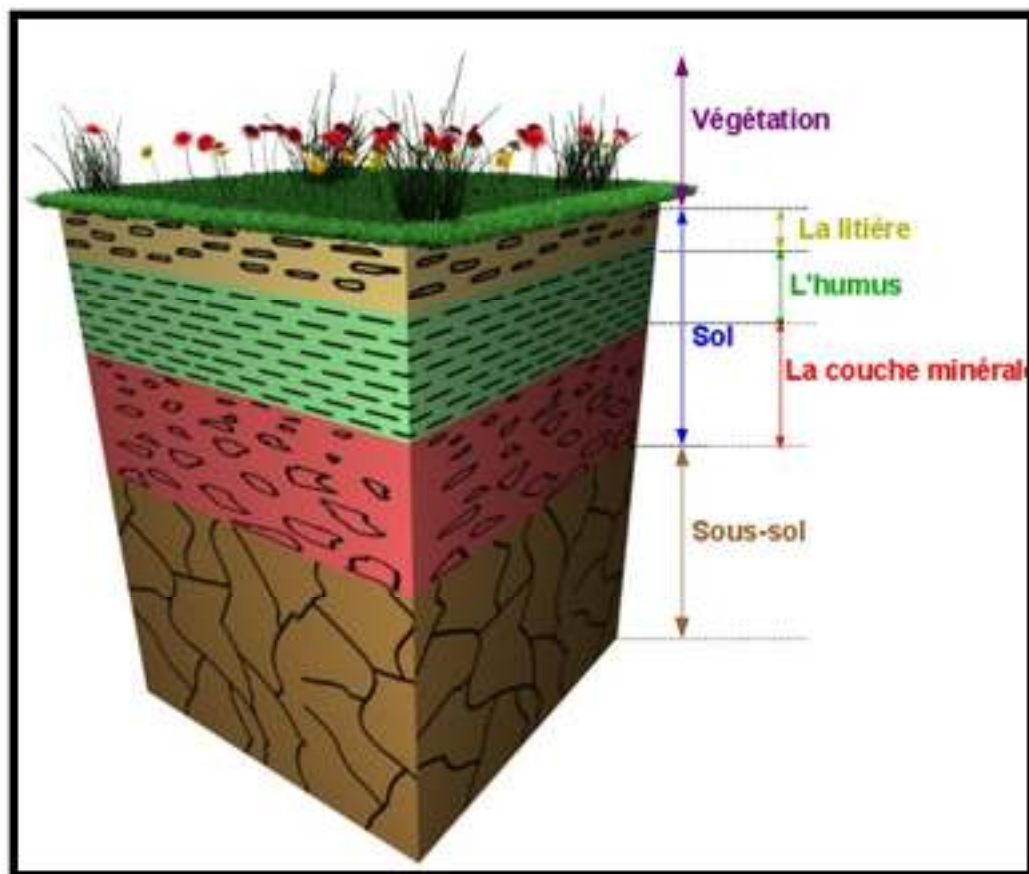


Figure 1 Schéma d'une coupe du sol (Ed.Didier, 2005).

2 Les composants du sol

Les propriétés et le fonctionnement du sol, qu'il soit naturel ou cultivé, sont largement déterminés par les propriétés individuelles de ses constituants et par leurs proportions relatives. Le sol est un milieu polyphasique composé d'une phase solide (minérale et organique), d'une phase

liquide, d'une Phase gazeuse et solide, colonisé par des organismes vivants (**Tableau 1**) (**Djigal, 2003**), dont quelques exemples (**Figure 2**).

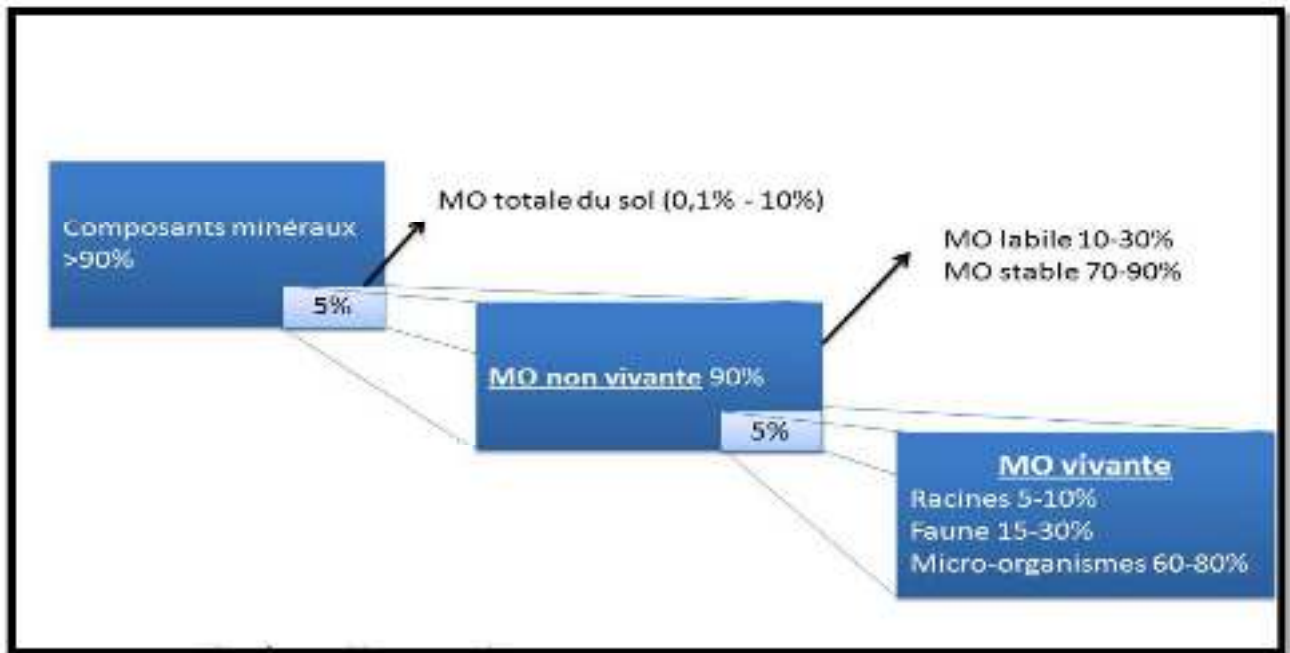


Figure 2 Les composantes du sol (**Pankhust et al, 2012**).

2.1 La phase solide

Elle est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. On pourrait considérer les organismes vivants du sol comme une partie de la phase solide, puisqu'ils ne sont ni gazeux ni liquides (**Tableau 1**)(**Calvet, 2003**).

On distingue deux fractions dans le sol :

a. Fraction minérale

Les minéraux constituent, en général, de 95 à 99% du sol. La composition minérale dépend de la nature de la roche-mère. La nature des minéraux peut être extrêmement diverse avec des tailles granulométriques différentes : Sable ($\emptyset = 2000$ à $50 \mu\text{m}$), Limon ($\emptyset = 50$ à $2 \mu\text{m}$),-Argile granulométrique ($\emptyset < 2\mu\text{m}$) (**Figure3**) (**Quenea, 2004**).



Figure 3 Texture et structure du sol (Atlas et al. 1992).

Texture d'un sol correspond à la répartition des minéraux par catégorie de grosseur, indépendamment de la nature et de la composition de ces minéraux. Les sols sont classés suivant leurs proportions relatives en particules argileuses, limoneuses et sableuses (Atlas et al. 1992).

b. Fraction organique

La fraction organique d'un sol est constituée à plus de 80% de matière organique morte (résidus de plantes et d'animaux en état de décomposition naturelle) (PAUL et al. 1996). On trouve aussi des organismes vivants : des bactéries dont beaucoup d'*actinobactéries*, des Champignons et une microfaune formée de protozoaires, nématodes, insectes et vers de terre (Figure4) .(Quenea, 2004).

Le sol est un habitat généralement favorable à la prolifération des microorganismes, leur nombre est supérieur à celui trouvé dans les eaux douces ou marines : La population microbienne s'élève à des valeurs comprises entre 10^6 et 10^9 bactéries par gramme de sol (Artiola-Fortuny et al. 1982).

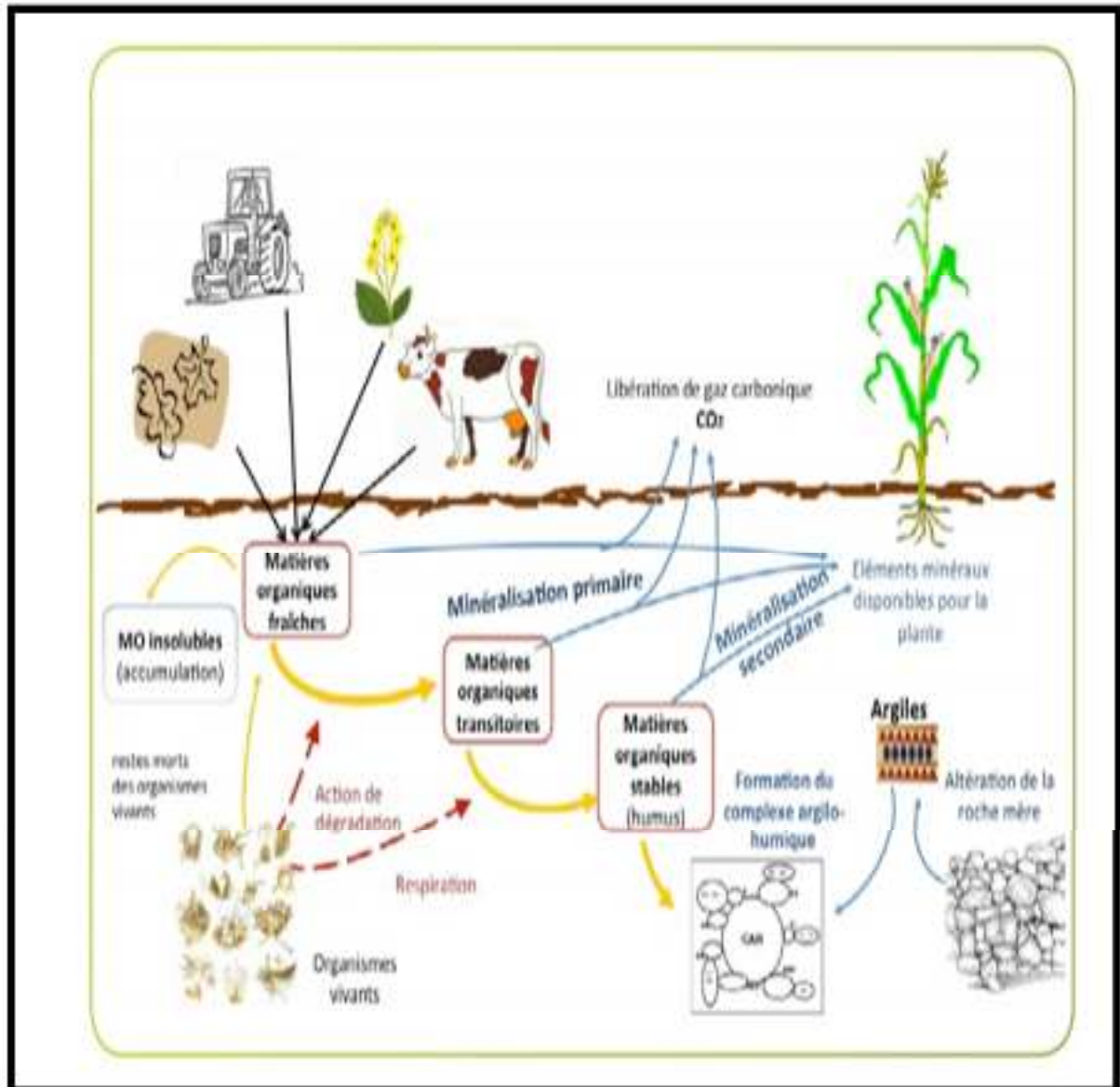


Figure 4 Les fractions de matière organique et leur dynamique dans le sol. (Gaillard ; 2001).

2.2 La phase liquide du sol

L'eau peut être présente dans les sols sous forme de solide, de vapeur et dans sa forme habituelle à l'état liquide (**Tableau 1**) (Lavelle et Spain, 2002). L'état liquide de l'eau se présente sous trois formes.

- ✓ L'eau libre des fissures, à laquelle s'ajoute l'eau de ruissellement superficiel ; elles circulent en entraînant une partie des composés du sol.
- ✓ l'eau interstitielle ou de percolation, circulant entre les grains du sol et constituant les nappes phréatiques.
- ✓ l'eau d'imbibition qui est soit adsorbée à la surface des grains, soit absorbée par certains corps hygroscopiques comme les argiles (**Frontier et Pichod-Viale, 1995**).

L'eau qui circule dans les pores du sol (eau de percolation) véhicule une grande diversité de matériels dissous ou en suspension (organiques, inorganiques, organo-minéral).

Les échanges ioniques entre l'eau et le substrat solide, en particulier les argiles constituent une des fonctions du sol les plus importantes pour la nutrition végétale (**Frontier et Pichod-Viale, 1995**).

2.3 La phase gazeuse : atmosphère du sol

Un mélange de gaz et de vapeur d'eau forme l'atmosphère à l'intérieur des pores du sol. Les plus importants de ces gaz sont l'O₂ provenant de l'atmosphère et le CO₂ provenant des respirations et fermentations des organismes du sol et des organes non chlorophylliens des plantes supérieures (**Tableau 1**)(**Frontier et Pichod-Viale, 1995**).

Tableau 1 Principaux constituants du sol (**soltaner, 2003**).

	Constituants solides		Constituants liquides	Constituants gazeux
	Minéraux	organiques	(solution du sol)	(atmosphère du sol)
Origine	Désagrégation physique et altération biochimique des roches.	Décomposition des êtres vivants	Précipitations, nappes, ruissellement.	Air hors sol, matière en décomposition, respiration.
Critères de classement	Taille (granulométrie) qualité (minéralogie)	Etats (vivants, morts) chimique (originelle, transformée)	Etat physique (potentiel hydrique) qualité chimique	Origine (air, organismes) qualité chimique.
	Selon granulométrie Squelette (2mm)	Organismes vivants Organismes morts Matières	Eau Substances dissoutes :	Gaz de l'air, N ₂ , O ₂ , Co ₂ , Gaz issus de la

Catégorie	Terre fine (<2mm)	organiques	glucides, alcools, acides organiques et minéraux	respiration et de la décomposition des organismes : CO ₂ , H ₂ , CH ₄ , NH ₄
	Selon minéralogie :	lignine résines.		
	Quartz	Matières organiques		
	Minéraux silicatés	Humifiées : acides fulviques, humiques, humines.	Cation et anion	
	Minéraux carbonatés			

Les taux de CO₂ (0,3-3,0%) y sont aussi plus élevés que ceux de la surface du sol. L'O₂ doit diffuser rapidement dans le sol pour répondre aux besoins respiratoires des racines et des microorganismes, le CO₂ aussi doit être capable de diffuser à l'extérieur (**Lavelle et Spain, 2001**).

A part, le CO₂ et l'O₂, une variété d'autres gaz (N₂O, CH₄, H₂, CO...) sont présents dans l'atmosphère du sol. Ils peuvent servir de substrats ou d'inhibiteurs à l'activité des microorganismes. La composition de l'atmosphère du sol est cruciale pour la croissance des plantes et l'activité des organismes. (**Lavelle et Spain, 2001**).

II. Diversité des microorganismes du sol

Les micro-organismes sont des êtres microscopiques, pour la plupart unicellulaires. La majeure partie de ces organismes appartient aux règnes procaryotes bactéries et Archaea, mais sont aussi représentés chez les eucaryotes comme les Protozoaires et les Fungi. Les bactéries, les actinobactéries et les champignons représentent l'essentiel de la biomasse microbienne du sol. (**Tableau 2**) comprend les espèces bactériennes récentes isolées du sol (**Lavelle et Spain, 2001**).

Le sol est un milieu oligotrophe, la plupart des microorganismes telluriques (algues, protozoaires, champignons, bactéries) sont impliqués dans de nombreux processus biogéochimiques. La communauté microbienne tellurique, qui joue un rôle primordial dans les cycles biogéochimiques du carbone, de l'azote et d'autres éléments, exercent également des effets bénéfiques ou délétères sur la croissance et la santé des plantes. (**Zinger, 2009**).

La diversité microbienne est donc vaste tant du point de vue de la diversité taxonomique du point de vue des fonctions. En effet, les agents de la microflore du sol se divisent en quatre groupes:

Les bactéries, les champignons, les bactéries filamenteuses ou actinobactéries et les algues (**Figure5**) (**Heijden et al. 2008**).



Figure 5 Diversité des microorganismes du sol (Heijden et al. 2008) .

1 Bactéries telluriques

C'est le groupe le plus nombreux et le plus varié, puisque leur densité peut s'élever de dix millions à un milliard par gramme de sol. Du fait de leur petite taille, leur poids reste inférieur à une tonne par hectare du sol. Ce qui donne aux bactéries une place importante dans le sol, c'est leur extraordinaire variabilité biochimique qui leur permet de transformer toutes les substances du sol et de les faire entrer dans le monde vivant (Bourguignon et al, 2008).

Les bactéries sont des procaryotes unicellulaires de formes très diverses. Leur taille peut varier entre 0,3 et 3 ppm. Leur classification était habituellement basée sur des caractères phénotypiques incluant par exemple la morphologie des cellules (bâtonnets, cocci, bacilles...), la structure de la paroi cellulaire (Gram positif, Gram négatif), la présence d'endospores, la mobilité des cellules et la position des flagelles (Lavelle et Spain, 2001), et aussi sur des groupes nutritionnels (hétérotrophes et autotrophes).

En effet, c'est la classification en groupe fonctionnel qui est souvent préférée, parce qu'elle donne plus d'informations (Lavelle et Spain, 2001). Cette classification divise les bactéries en 4 groupes selon la source d'énergie utilisée (énergie lumineuse ou des réactions redox) et la nature du donneur d'électron (organique ou minéral): les photolithotrophes, les photoorganotrophes, les

chémolithotrophes et les chémo-organotrophes. Les bactéries forment une population très diversifiée avec une estimation de 30000 espèces dans le sol (**Hawksworth et Mound, 1991**). Les bactéries hétérotrophes constituent les types dominants dans le sol. De par leur consommation et minéralisation des matériels organiques, elles représentent la plupart des flux d'énergie à travers le sol (**Bakken, 1997**).

Les bactéries interviennent dans un grand nombre de processus, et d'interactions mutualistes ou antagonistes avec les autres organismes du sol. Elles jouent un rôle fondamental dans les cycles de l'azote (ammonification, nitrification, dénitrification fixation symbiotique du N₂), du carbone (décomposition et minéralisation), du phosphore, du soufre, et dans le recyclage des déchets et des polluants comme les pesticides (**Leung et al. 1997**). Elles interviennent également dans le maintien de la structure du sol, par la formation d'agrégats.

Exemples de groupes fonctionnels impliqués dans la dégradation des matières organiques :

- **Les bactéries cellulolytiques** : elles dégradent la cellulose. C'est le groupe le plus important dans la dynamique de la matière organique, car elles décomposent la cellulose, molécule structurelle la plus répandue chez les végétaux. (**Solag, 2018**).
- **Les bactéries pectinolytiques** : elles dégradent la pectine et ses dérivés. Les bactéries les plus abondantes sont du genre *Arthrobacter*. (**Supagro Montpellier, 2015**).

Exemples de groupes fonctionnels impliqués dans le cycle de l'azote (**Supagro Montpellier**) :

- **Les bactéries ammonifiantes** : Elles décomposent les matières organiques azotées en ammoniac ou en ions ammonium.
- **Les bactéries nitrifiantes** : elles permettent l'oxydation de l'ammoniac en nitrate.
- **Les bactéries fixatrices d'azote** : Elles captent l'azote atmosphérique (N₂) et le transforment en composés utilisables par les plantes (ammoniac). Ce sont notamment les bactéries symbiotiques localisées dans la rhizosphère des plantes cultivées (rhizobium chez les légumineuses) (**Figure6**) (**Laurent philippot.2008**).

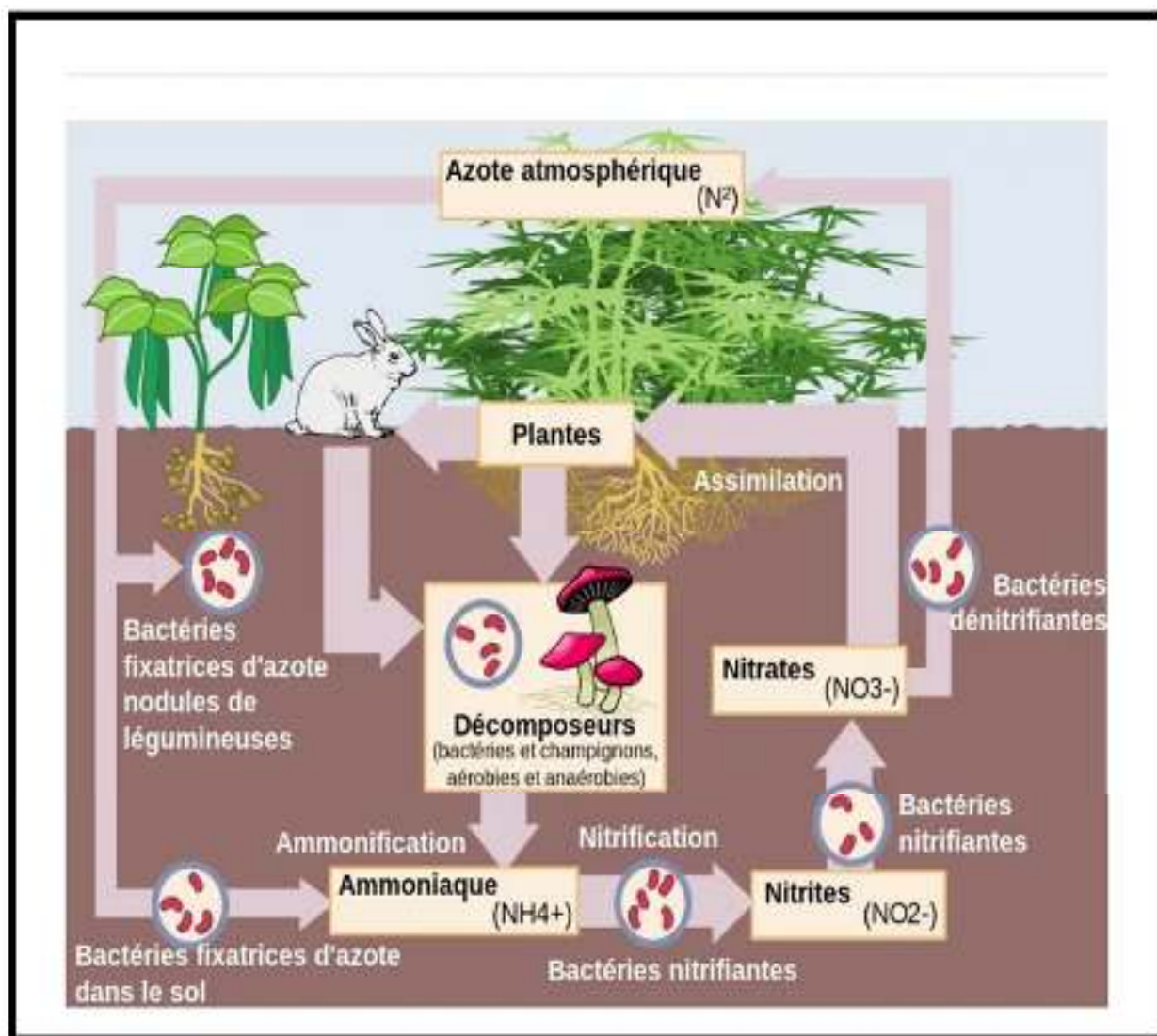


Figure 6 Exemples de bactéries intervenant sur le cycle de l'azote (Laurent philippot.2008).

Tableau 2 Les espèces bactériennes récentes isolées du sol

Espèce bactériennes	L'endroit d'isolement	Références	Application
<i>Noccaeacaerulescems</i>	Sud-Est Asiatique (thailand)	Reeves et al, 2013	L'hyper accumulation du Ni débute par son absorption par les racines, suivie par son transport vers les parties aériennes et en fin par son stockage sous des formes nom les organes aériens.
<i>Hordeumvulgare</i>	Sud Est Asiatique (Malaisie)	Jiang et al, 2019	Augmentation l'efficience de phyto-extrachom des métaux.

<i>Odontarrhenachalcidica</i>	Sol ultramafique dans le sud-Est asiatique	Rue et al, 2019.	Facilitation la getion des parcelles d'agroméne, à planter de nouvelles pousses de cette espèce
<i>Rinoreabengalesisiz</i>	Malaisie (région de sabah)	Cecchi et al, 2020	Montre des comcententions en Ni de 2.71 dans les feinlles et jusqu'à 5% dans la séve.
<i>Alyssumbrtolonu</i>	Suède (région de stockholm)	Fierer et Lennon 2020	Influence sur Certaines activité enzymatique micobiennes, en qarticulier, Cette impliquée dans les cycles biogéochimiquesL'augmentation du ph.
<i>Alocasiamacrorrhiza</i>	² Brésil (montagnes du Neblima)	Dennis et al, 2020.	La respiration racinaire, l'excrétion de protons et le prélèvement de l'eau et des solutés par les racines.

2 Actinobacteries

Etymologiquement, le mot Actinomycète a été dérivé des mots grecs «Aktis» qui veut dire rayon et «mykes» qui veut dire champignon «Champignons à rayons» ou «Champignons rayonnants» (Lamari, 2006). Les actinobactéries ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignons. Actuellement, ils sont reconnus comme des organismes procaryotes. Pourtant, ces micro-organismes présentent des similitudes à la fois avec les bactéries et avec les champignons (Andriambololona, 2010). Les actinomycètes, également connus sous le nom des actinobacteria (Perry et al. 2004), sont des bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies circulaires et à une morphologie complexe (Figure 7) (Colombié, 2005).

Elles sont constituées d'hyphes c'est-à-dire des filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance.

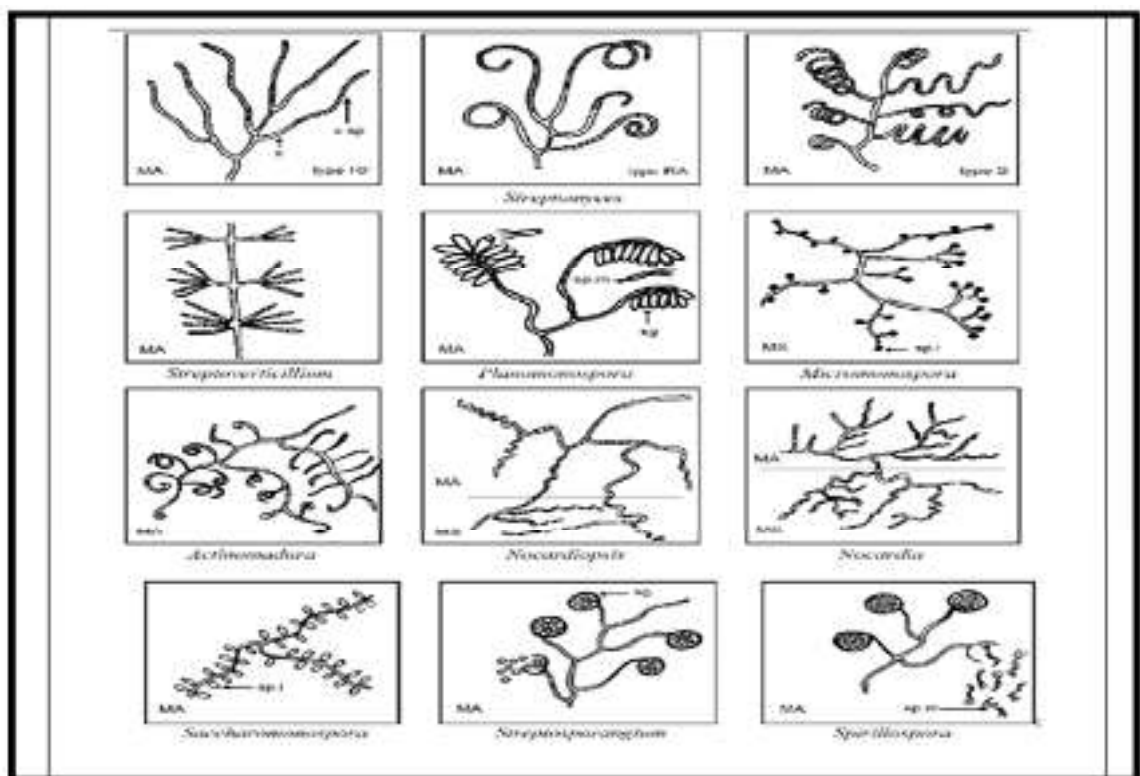


Figure 7 Microbiologie des principaux genres d'actinobactéries (sabaou, 2002).

Les actinobactéries constituent l'ordre des actinomycétales. Ce sont des bactéries saprophytes formant des filaments minces et ramifiés, septées, bacilles à Gram positif (Dgital, 2003); possédant un coefficient de Chargaff (GC%) élevé compris entre 60-

70%(Larpen, 2011). La plupart des espèces sont immobiles, hétérotrophes mais certaines sont chimio-autotrophes (Ensign et al.2007), aérobies, mésophiles et poussent de façon optimale dans une gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité. (Williams et Wellington, 2015).

3 Algues

Les algues ne sont jamais aussi nombreuses dans le sol que les bactéries, les actinobactéries et les champignons. Elles sont présentes en grand nombre là où la lumière accède et/ ou l'humidité est adéquate. Les techniques de dénombrement ont permis de déceler de 100 à 10 000 cellules d'algues vivantes par gramme de sol à partir d'échantillons prélevés immédiatement sous la surface d'un sol composé de terre arable(Tableau3). Exceptionnellement, on a pu trouver dans certains sols jusqu'à 50 000 de ces cellules par gramme de sol. (Boileau, 2015).

- C'est en raison du besoin de lumière solaire que l'on trouve les algues surtout dans les 5 à 10 premiers centimètres du sol ; en dessous, la population d'algues diminue rapidement avec la profondeur.
- Les principaux facteurs qui influencent la flore des algues sont l'humidité et le pH. (Seagren et Aydilek, 2010).
- Les Chlorophyceae (algues vertes) et les Cyanophyceae (algues bleues) sont moins sensibles à la sécheresse que les diatomées. Les fleurs d'eau se produisent surtout en saison fraîche, humide, durant la quelle l'intensité lumineuse n'est pas nécessairement à son maximum (Gobat et al. 1998).

Tableau 3 les espèces d'algues récentes isolées du sol.

<i>L'espèce</i>	<i>L'endroit d'isolement</i>	<i>Référence</i>	<i>L'application</i>
<i>Ulva lactuca</i>	Europe du Nord	Bedoux et al, 2019	Accélération la décomposition de la matière organique grâce sur acide alginique et amélioration la

			rétention en eau du sol.
<i>Laminariadigitata</i>	Europe du sud (Alpane)	Bonaly, 2019	Utilisation en agriculture comme engransbrologique pour la fertilisation du sol pauvre par l'abondance des ions sodium dans l'eau d'irrtation.
<i>Fucus vesiculosucs</i>	Amérique du sud (Argentine)	Bourgeois, 2020	Exploitation industrielle comme source de gélifiant (agar, algimating). De nombreux projet industrielle comme la production de pigments d'acide gras oméga largement -3 ou plus largement de lipidenenvue d'un futur usage comme source de biocarburant.
<i>Ascophyllumnodos um</i>	Nord Asie (Russia)	Leveau et Bouix, 2020	Utilisation pour les empreintes dentaires.
<i>Palmariapalmata</i>	Sud-Est asiatique (le vietman)	Guirand, 2020	Il est utilisé comme agent désintégrant et disperrant, l'acide algimique gonfle en présence d'eau assurant une disperssion rapide du médicament.
<i>ParphyraUmbilical is</i>	Amérique du Nord (canada)	Bouchet et al, 2021	Les utilisations en cosmétologie : comme agent texturent en conférant au dertifrice une stabilité pendant le stockage. Et comme gel désodorisents.

4 Les protozoaires

Les protozoaires isolés des sols sont variés et se développent dans les zones superficielles humides, au niveau des films d'eau entourant les particules. (**Figure 8**).

Les protozoaires possèdent tous les constituants classiques que l'on retrouve chez la cellule eucaryote (**T. J.G. Ettema, 2016**).

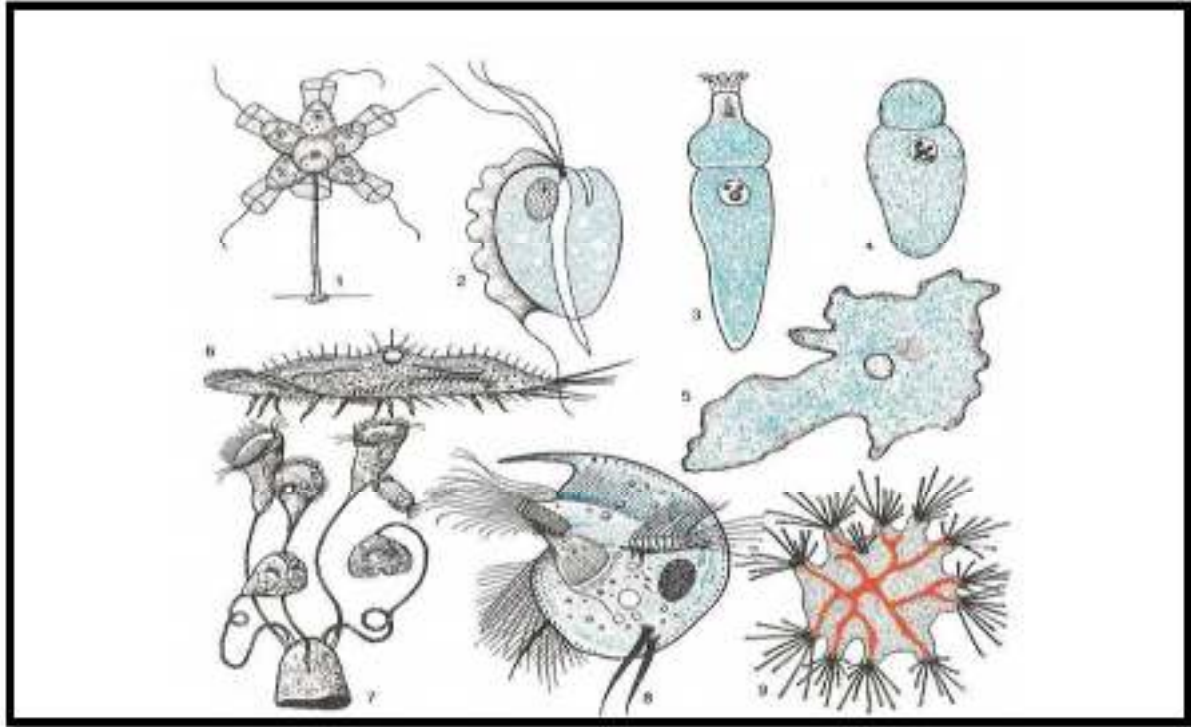


Figure 8 Représentation schématique de quelques protozoaires Flagellés (**Golossinapalpis, 2011**)

: 1. Codonosiga; 2. Trichomonas, sporozoaires; 3. Corycella; 4. Gregarina, rhizopodes; 5. Amoeba, ciliés; 6. Stylonychia; 7. Vorticella; 8. Discomorpha; 9. Lernaephyra.

5 Champignons telluriques

En général, les champignons du sol forment une biomasse aussi importante que celle des bactéries. Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique des sols, par leurs interactions avec les systèmes racinaires des plantes, leur aptitude de colonisation et de dégradation des débris organiques de grande taille et des composés de structures complexes. De nombreux travaux indiquent la prédominance de : *Mucor*, *Trichoderma* et *Aspergillus*, alors que *Rhizopus*, *Fusarium*, *Zygorhynchus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium* et *Verticillium* sont couramment isolés. (**Figure 9**) (**Sablonnier, 2002**).

Les champignons sont des organismes eucaryotes ne constituent pas une entité monophylétique mais forment au contraire un groupe très hétérogène dont la caractéristique essentielle commune est la nutrition hétérotrophe par absorption, celle-ci pouvant prendre la forme du saprophytisme, du parasitisme ou de la symbiose (Nasraoui, 2006).

5.1.1 Les champignons symbiotiques :

Il s'agit des champignons mycorhiziens, qui aboutissent des interactions à bénéfiques avec les racines des plantes (Vander et al.1998).

5.1.2 Les champignons phytopathogènes :

Ils établissent des interactions antagonistes avec les plantes (Vander, 2003).

5.1.3 Les champignons saprophytes (libres) :

Ils participent notamment aux processus de décomposition des matières organiques, d'immobilisation des éléments minéraux et établissent des interactions neutres avec la plante (KleinetPaschke, 2004).

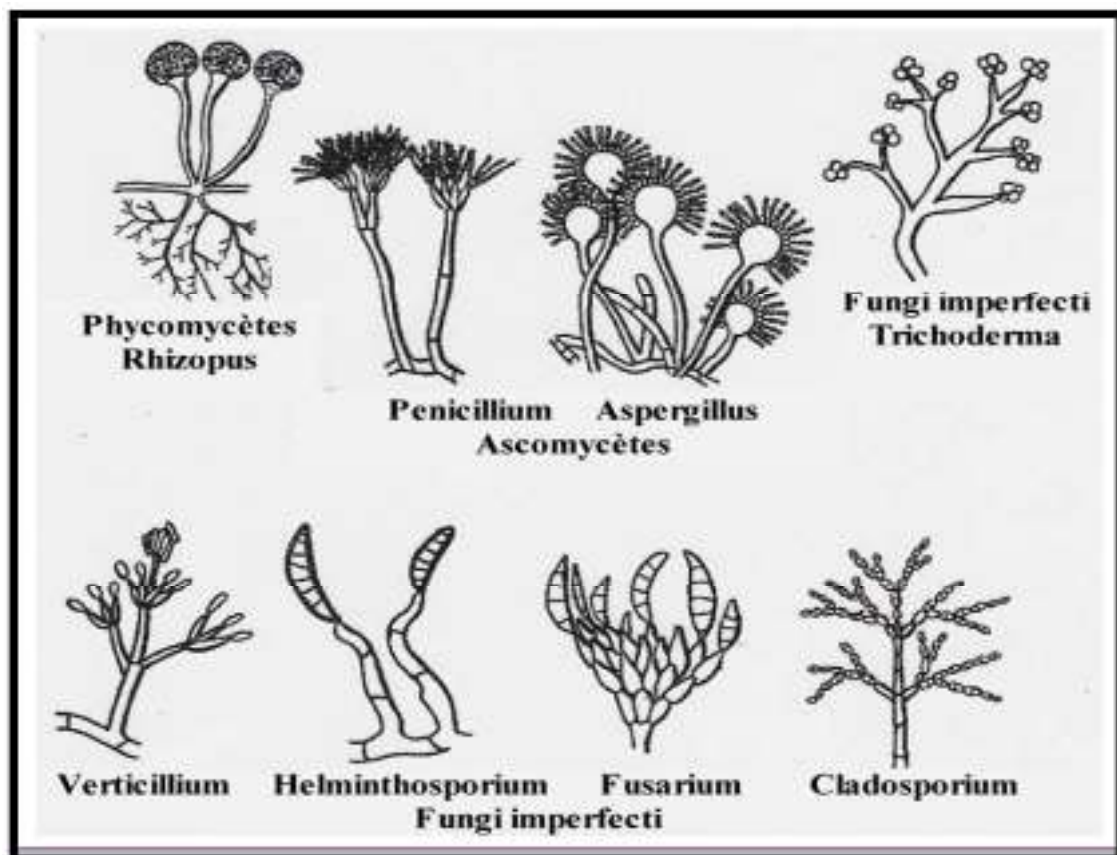


Figure 9 Principaux groupes des champignons (Roger ET Garcia, 2001).

Tableau 4 Caractères communs et distinctifs des principales classes de champignons et eucaryotes unicellulaires assimilés (Nieguitsila A, 2008).

Classes	Aspects du mycélium	Spores asexuées	Spores sexuées	Polysaccharides pariétaux principaux	Nutrition	Habitats, nutrition
Oomycète	Nom cloisonné coenocytique	Zoospores biflagellées mobiles	Oospores	Cellulose	Phagocytose	Aquatiques et terrestres, saprobes ou parasites de poissons et de végétaux (agents de mildiou). Rares parasites des mammifères et de l'homme.
Chytridiomycète	Nom cloisonné cœnocytique	Zoospores biflagellées mobiles	Présence	Chitine	Absorption	Saprobes du sol et des eaux, parasites d'insectes. Certains vivent en symbiose. rares parasites des végétaux et de l'homme.
Zygomycètes	peu cloisonné cœnocytique	Sporangiospores	Zygosporos	Chitine	Absorption	Saprobes du sol et des eaux, parfois parasites des animaux et de l'homme. Comportement opportunistes marqué.
Ascomycètes	Cloisonné à bords parallèles	Conidies, chlamydospores	Ascospores formées dans un asque	Chitine	Absorption	Saprobes du sol et des eaux. La plupart des espèces parasites des animaux et de l'animal appartiennent aux ascomycètes.

Basidiomycètes	Cloisonné à bords parallèles	Conidies, chlamydo­spores	Basidiospores formées et émises par une baside	Chitine	Absorption	Saprobies du sol, parasites des végétaux, rares parasites de l'homme ou de l'animal.
Deutéromycètes ou champignons imparfaits	Cloisonné à bords parallèles	Conidies, chlamydo­spores	Inconnues	Chitine	Absorption	Saprobies du sol. De nombreuses espèces parasites de l'homme et/ou de l'animal (champignons opportunistes).
Basidiamycètes	Cloisonné à bords parallèles	Conidies, chlamydo­spores	Basidiospores formées et émises par un baside	Chitine	Absorption	Saprobies du sol, parasites des végétaux, rares parasites de l'homme ou de l'animal.
Deutéromycètes ou champignons imparfaits	Cloisonné à bords parallèles	Conidies, chlamydo­spores	Inconnues	Chitine	Absorption	Saprobies du sol. De nombreuses espèces parasites de l'homme et/ou de l'animal (champignons opportunistes).

➤ L'importance industrielle des champignons

Actuellement, les moisissures jouent un rôle primordial dans divers domaines d'applications ; elles sont utilisées dans les industries alimentaires, chimiques, la biolixiviation et la biotransformation, etc. Cependant l'industrie n'exploite commercialement qu'un petit nombre de métabolites de quelques espèces seulement (**Boiron, 1996**). Leur intérêt économique repose sur leur activité biologique dans la production d'une grande diversité de molécules produites au cours des métabolismes primaires et secondaires, exploitées en particulier par l'industrie pharmaceutique et en médecine (**Larpen-Gourgaud et Sanglier, 1992**).

Les champignons filamenteux sont des producteurs importants d'acides organiques tels que les acides gluconique, malique, acétique et citrique (**Leveau et Bouix, 1993 ; Boiron, 1996**). Ce dernier est notamment produit par *Aspergillus niger*, où 60% de sa production est destinée au secteur alimentaire (**Botton et al. 1999**).

Les enzymes fongiques restent toujours les outils clés de la biotechnologie et reflètent de plus en plus l'importance et le rôle infini des moisissures dans les différentes applications alimentaires. *Aspergillus niger* est un bon exemple, il produit la cellulase, l'amylase, l'invertase et la pectinase, employées principalement comme des catalyseurs biologiques en glucoserie, brasserie et pour la fabrication des boissons (**Kosikowski, 1988 ; Scriban, 1999**).

Il est également à noter, l'utilisation des protéases alcalines d'*Aspergillus oryzae* et de *Stachybotry schartarum* dans les détergents (**Miller, 2002**). La production de cellulase par *Aspergillus niger* et *Trichoderma harzianum* présente une diversité d'applications industrielles, où 48% de sa production par ces deux espèces fongiques et le genre *Penicillium* est utilisée pour l'industrialisation des papiers et les textiles (**Delgado- Jarana et al. 2002**). Certains genres fongiques tels qu'*Aspergillus*, *Mucor* et *Penicillium* sont capables de produire des lipides en quantités importantes et constituent une source potentielle d'utilisation chimique (**Botton et al.1999**).

En biotransformation les moisissures ont une zone étroite d'application. Un exemple remarquable est l'hydrolyse enzymatique de la pénicilline V par *Penicillium chrysogenum* et *Fusarium* entraînant la formation d'acide amino-6-pénicillanique qui est un intermédiaire important de la production de pénicillines semi synthétiques telles que l'ampicilline et l'amoxicilline (**Durand et Monson, 1988**).

Enfin, les moisissures sont d'un grand intérêt dans le domaine médical où les premiers produits d'origine fongique en médecine sont les alcaloïdes de l'ergot de seigle (ergotamine), utilisés en gynécologie et pour diverses autres indications (**Boiron, 1996 ; Botton et al. 1999**).

➤ **L'importance environnementale des champignons**

Les champignons mycorhiziens de type arbusculaire (AMF : Arbuscular Mycorrhizal Fungi) sont le groupe le plus important dans la rhizosphère, ils peuvent établir une association symbiotique avec les racines, ce qui permettra à la plante de capter différents éléments nutritionnels, l'exemple le plus discuté est le phosphore qui se trouve dans le sol, qui est transporté le long des hyphes et ensuite délivré à la plante hôte.

Les interactions avec les mycorhizes peuvent stimuler aussi les mécanismes de défense contre les parasites et les pathogènes (**Ben Djeddoud ,2001**).

➤ **l'importance médicale des champignons**

Les champignons médicinaux sont, parmi les espèces de Fungi, des champignons qui produisent des métabolites ayant des propriétés thérapeutiques significatives ou bien qui peuvent être utilisés pour produire ces composés organiques intermédiaires par les méthodes de la biotechnologie. La gamme des composés actifs sur le plan médical qui ont été identifiés comprend des antibiotiques, des médicaments anti-cancer, des inhibiteurs du cholestérol, des substances psychotropes, des médicaments immunosuppresseurs et même des antifongiques. Après les premières découvertes centrées sur des moisissures simples, du type de celles qui dégradent les aliments, des travaux ont identifié des composés utiles chez de nombreuses espèces

6 Les levures

Le terme levure provient du mot latin « **levare** » qui se traduit par la « **levée** » des pâtes panifiables (**Bouchet et al. 2005**).

Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes faisant partie du groupe de champignons unicellulaires (**Meyer et al. 2004**); dont certaines forment des bourgeons non détachables sous forme de courte chaîne de cellules, immobiles, appelée pseudohyphes (**Guiraud, 1998 ; Tortora et al. 2003**). Les cellules de levures ont des formes plus au moins sphériques ou ovoïdes, parfois cylindriques ou de formes plus spécifiques (**Perscott et al. 2007**).

Elles sont généralement plus grandes que celles des bactéries et présentent une structure plus complexe, notamment par la présence de noyau et d'organites divers. Elles se trouvent isolées, en paires, en chaînes ou en petits amas; leur taille est très variable suivant les espèces: 2,5-10,5µm de largeur contre 4,5-21µm de longueur. Ces dimensions et aspects dépendent fréquemment des conditions de culture et l'âge des cellules (**Scherr et Weaver, 1953**).

6.1 Habitat

Les levures sont très répandues dans les milieux riches en glucides, se présentent sous forme de poudre blanche sur les fruits et les feuilles et sont saprophytes du nectar de fleurs (**Larpen, 1992 ; Scriban, 2003**). Certaines levures se développent abondamment dans des eaux douces et profondes associées au plancton, certaines espèces sont présentes dans le tube digestif des animaux et des insectes ; comme elles peuvent persister libres dans le sol (**Van uden et Fell, 1986**).

6.2 Reproduction des levures

Généralement, dans des conditions favorables à leur croissance, les levures se multiplient par reproduction asexuée (bourgeonnement ou scissiparité) mais dans des conditions défavorables, la reproduction est sexuée (**Bonaly, 1991**)

a. Reproduction asexuée ou végétative

Généralement les levures se multiplient par bourgeonnement. (**Larpent et Larpent-Gourgaud, 1997**). C'est le processus asexué au cours duquel la cellule mère émet une petite excroissance ou bourgeon qui augmente de taille et s'organise à l'aide d'une partie du matériel nucléaire et cytoplasmique de la cellule parentale (**Leclerc *et al.* 1983**). Cette multiplication se traduit, lors de la séparation des cellules, par la formation d'une cicatrice de bourgeonnement sur la cellule mère et d'une cicatrice de naissance sur le bourgeon (**Belin, 1972**). Dans le mode de multiplication par bourgeonnement, il ne se forme pas deux bourgeons sur le même site (sauf cas de bourgeonnement bipolaire) et le nombre de bourgeons par cellule se trouve donc limité. (**Figure 10**) (**Miller, 1983**).

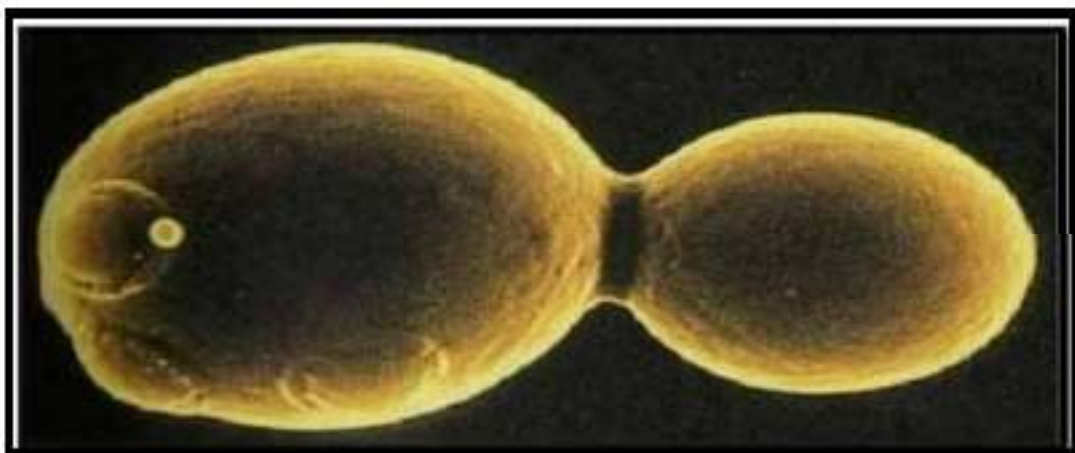


Figure 10 Division d'une cellule de levure par bourgeonnement (**Madigran et Martinka, 2007**).

b. Reproduction sexuée

Les levures appartiennent aux eucaryotes et de ce fait, présentent les caractéristiques de la division méiotique: fusion de deux noyaux haploïdes, formation d'un noyau diploïde. La persistance de la membrane nucléaire pendant la division conduit à une structure en 4 lobes autour desquels se forme une paroi qui entraîne la rupture de la membrane nucléaire et l'individualisation des spores. La reproduction sexuée s'effectue par conjugaison de deux cellules qui donnent naissance à un zygote. Les levures ascomycètes présentent des phénomènes de reproduction sexuée par formation d'un asque renfermant des ascospores issues de la méiose. (Bourgeois et Leveau, 1991). Après différenciation et méiose un asque à 4 ascospores haploïdes se forme (Oteng-Gyang, 1984).

Certaines levures sporogènes forment des spores sur n'importe quel milieu, en revanche, d'autres exigent des conditions de croissance ou de sporulation bien déterminées. En l'absence de ces conditions, une levure sporogène peut se multiplier indéfiniment par voie végétative (Bourgeois et Larpent, 1989).

Un exemple de cycle de reproduction asexuée et sexuée d'une levure à ascospore, est donné par la (Figure 11).

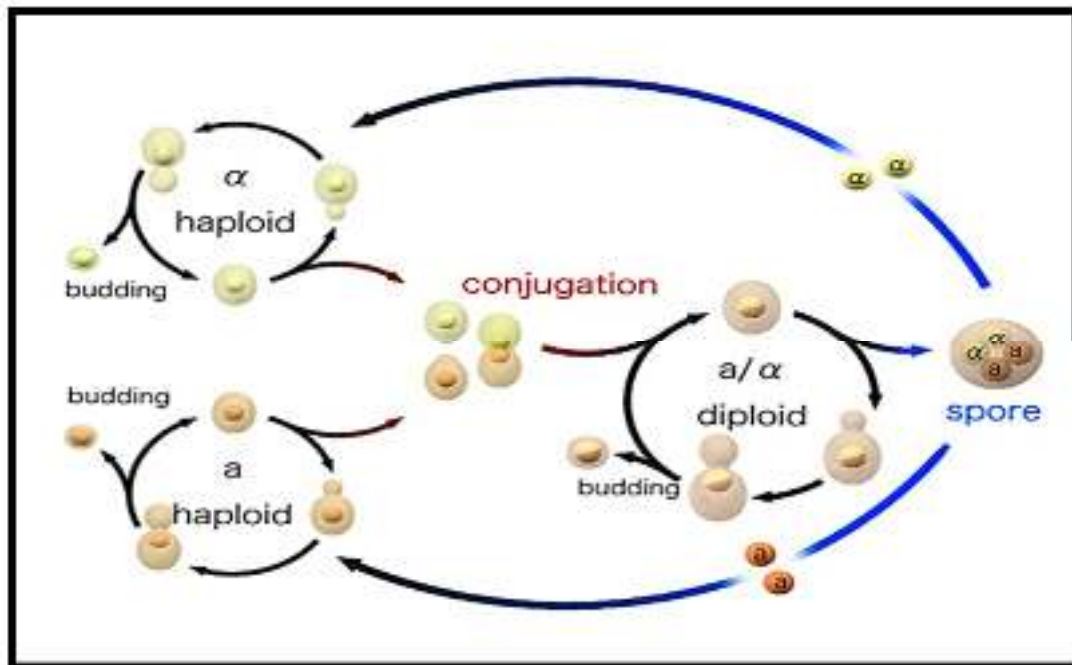


Figure 11 cycle de Reproduction de la levure (Leclerc et al.1995).

III. Enzymes potentiellement importants en industrie

Les enzymes, catalyseurs biologiques spécifiques des organismes vivants, sont des macromolécules majoritairement de nature protéique. Elles sont constituées de plusieurs acides α -aminés de la série *L* unis entre eux par une liaison formée par condensation entre le groupement carboxyle d'un acide aminé et le groupement amine d'un autre acide aminé afin de former une liaison amide. Les enzymes sont donc des polypeptides de masses moléculaires élevées (entre 10 à 1000 kDa). Elles montrent une instabilité importante, leur dénaturation peut s'effectuer par chauffage à hautes températures, hydrolyse en présence d'acides, bases ou protéases, ... (**Jarrar, 2011**).

1 Les enzymes hydrolases

Les enzymes hydrolases ce sont des enzymes de dégradation. Elles provoquent la coupure d'une molécule et fixent les radicaux H et OH de l'eau sur les valences libérées. Ces enzymes ne nécessitent pas généralement de coenzymes, elles sont activables par des cations. Elles interviennent sur les fonctions éthers, acétals, esters phosphoriques, liaisons O-O des peroxydes, C-N des amides (**Bornscheuer, 2002**).

Il est très difficile de les classer. Le plus simple est d'étudier leur action sur quelques groupes de molécules. Généralement les hydrolases, sont produites par les champignons. Il s'agit d'enzymes endocellulaires (catalase, lactase et invertase) ou exocellulaires (amylases, cellulases, pectinases et protéases).

1.1 Alpha-amylase

L' α -amylase, comme toute enzyme, est une macromolécule appartenant à la classe des Protéines globulaires, dont le rôle biologique est d'hydrolyser l'amidon (**Mercier, 1985**).

L' α -amylase [α -(14)-D-glucaneglucanohydrolase (E.C.3.2.1.1)] est une endo amylase qui hydrolyse au hasard les liaisons osidiques de (14) l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et de du glycogène à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaines(**Mercier, 1985 et Keating et al. 1998**).

a. Mode d'action

L'amidon est un composé glucidique abondant et peu coûteux, dont la fonctionnalité et la valeur ajoutée peuvent être améliorées par un ensemble de modifications physiques, chimiques et/ou enzymatiques, afin de répondre à des besoins technologiques ou nutritionnels spécifiques (**Buelon et al. 1990**).

L' α -amylase par sa capacité à modifier un certain nombre des propriétés de l'amidon, participe à de nombreuses applications, permettant de fabriquer des sucres adaptés aux demandes spécifiques des utilisateurs en industrie alimentaire (**Palmer, 1975**). L' α -amylase agit sur les polysaccharides (amidon, glycogène) et les oligosaccharides (**Figure 12**). Elle hydrolyse les liaisons glu osidiques (α -1,4) de l'amidon et des substrats relatifs (**Heslot, 1996**).

Son action peut se faire de différentes façons:

- Attaque aléatoire, en coupant les liaisons (α -1,4) à partir de l'extrémité non réductrice. Il en résultera, principalement, la formation de glucose, de maltose et surtout d' α -dextrines (**Scriban, 1999**).
- Mécanisme uni-chaîne où l' α -amylase dégrade une chaîne avant de passer à l'autre. Cette action est due à la formation du complexe actif avec le premier substrat. L'enzyme catalyse la réaction et ne forme pas de complexes actifs, jusqu'à l'achèvement de la dégradation de la première chaîne (**Berry et Paterson, 1990**).
- Mécanisme multi-chaîne, la dégradation des chaînes est simultanée (**Pazur et Marchetti, 1992**).

Attaque multiple ou répétitive, le déplacement de l'enzyme, fixée tout au long de la chaîne, conduit à plusieurs hydrolyses avant la dissociation du complexe enzyme-substrat (**Figure 12**) (**Nakatani, 1996; Kandra et al. 1997**).

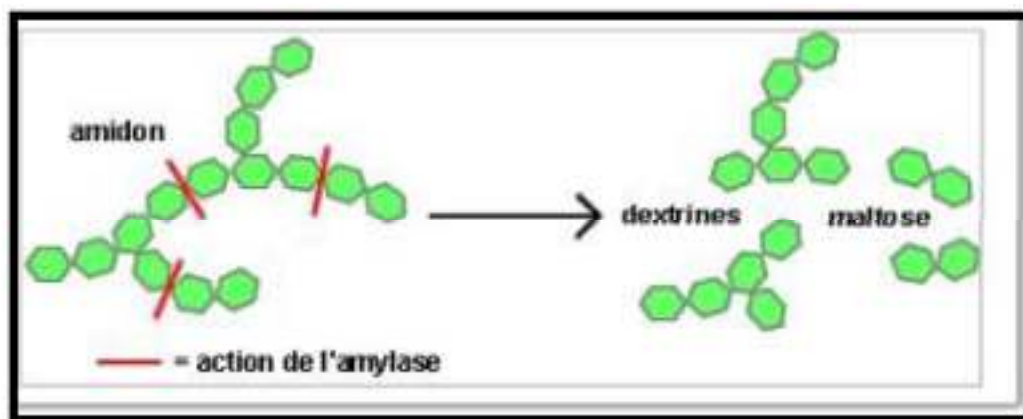


Figure 12 Mode de d'action de l' α -amylase (**Florimont, 2013**).

b. Les microorganismes producteurs de l' α -amylase

Les principaux microorganismes producteurs de l' α -amylase sont consignés dans le (Tableau 5).

Tableau 5 Les principaux microorganismes producteurs d' α -amylase (Berry et Paterson, 1990).

Microorganismes	Espèces	Références
Moisissures	<i>Penicillium fellutanum</i> <i>Penicillium chrysogenum</i>	Kathiresan et Mannivanan (2006) ; Ertan et Balkan (2007).
	<i>Rhizopusoryzae</i> <i>Aspergillus Niger</i>	Akbache et Bariout, 2007; Mama, 2009; Açourène et Ammouche, 2011)
Levures	<i>Candida guilliermondii</i>	Akbache et Bariout, 2007; Mama, 2009; Açourène et Ammouche, 2011)
	<i>Candida tropicalis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(Liese et al. 2000).
Bactéries	<i>Bacillus licheniformis</i>	Tamura (1993).
	<i>Bacillus subtilis</i>	(Liese et al. 2000).
	<i>Lanuginosusthermomyces</i>	
	<i>Lactobacillus casei</i>	
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	

c. Utilisation industrielle de l' α -Amylase

Les α -amylases microbiennes sont parmi les enzymes les plus utilisés dans les procédés industriels autres qu'alimentaires (industrie pharmaceutique, textile, papeterie et détergents), en raison de leur productivité et thermo stabilité (Tableau 6) (Burhan et al. 2003)

Tableau 6 Les Applications industrielles de l'alpha-amylase. (Burhan et al. 2003).

Industries	Applications
Glucoserie	Solubilisation de l'amidon, accompagnée d'une chute importante de la viscosité (liquéfaction).
Sucrerie	Réduction de la viscosité des sirops de cannes à sucre, en hydrolysant les contaminants amylicés pour réussir le processus de cristallisation.
Biscuiterie et Panification	Amélioration de la propriété rhéologique et fermentaires de la pâte, ainsi que la coloration de la croûte
Industrie textile	Le désencollage textile, qui permet d'éliminer la colle d'amidon qui enduit les fibres et les protège au cours du tissage.
Papeterie	Liquéfaction de l'amidon pour préparer des sauces découchage, permettant d'éliminer les irrégularités superficielles de la feuille.
Détergents	Dégradation des taches à base d'amidon. Les oligosaccharides et les dextrines libérés de l'action hydrolytique sont solubles, par conséquent, la tâche est physiquement découpée.
Industrie Pharmaceutique	-Agent anti-inflammatoire. -Traitement du diabète et de l'obésité

1.2 La cellulase

La cellulase se rapporte à un groupe d'enzymes qui, agissant ensemble. Elle est produite principalement par les moisissures, les bactéries et autres organismes cellulolytiques. L'enzyme de cellulase qui peut hydrolyser la cellulose en sucres simples (Kader ,1999; Korish, 2003), formant un système enzymatique complexe.

a. Mode d'action

Les cellulases sont maintenant classées selon leur structure, comme toutes les enzymes agissant sur les sucres. Il existe trois types d'activités enzymatiques cellulolytiques complémentaires pour l'hydrolyse totale de la cellulose (**Figure 13**) (**Scriban, 1993**).

- Endo-1,4- β -glucanases: Ces endoglucanases (EG) attaquent au hasard les liaisons Oglycosidiques internes donnant ainsi des chaînes glucanes de différentes longueurs.
- Exo-1,4- β -D-glucanases: Agissent sur les extrémités de la chaîne de la cellulose et libèrent le β -cellobiose comme produit final.
- β -glucosidases: Douées d'une action spécifique sur les disaccharides « β -cellobiose » et produisent le glucose (**E.A.Bayer et al. 1994 ; Singh, 1999**).

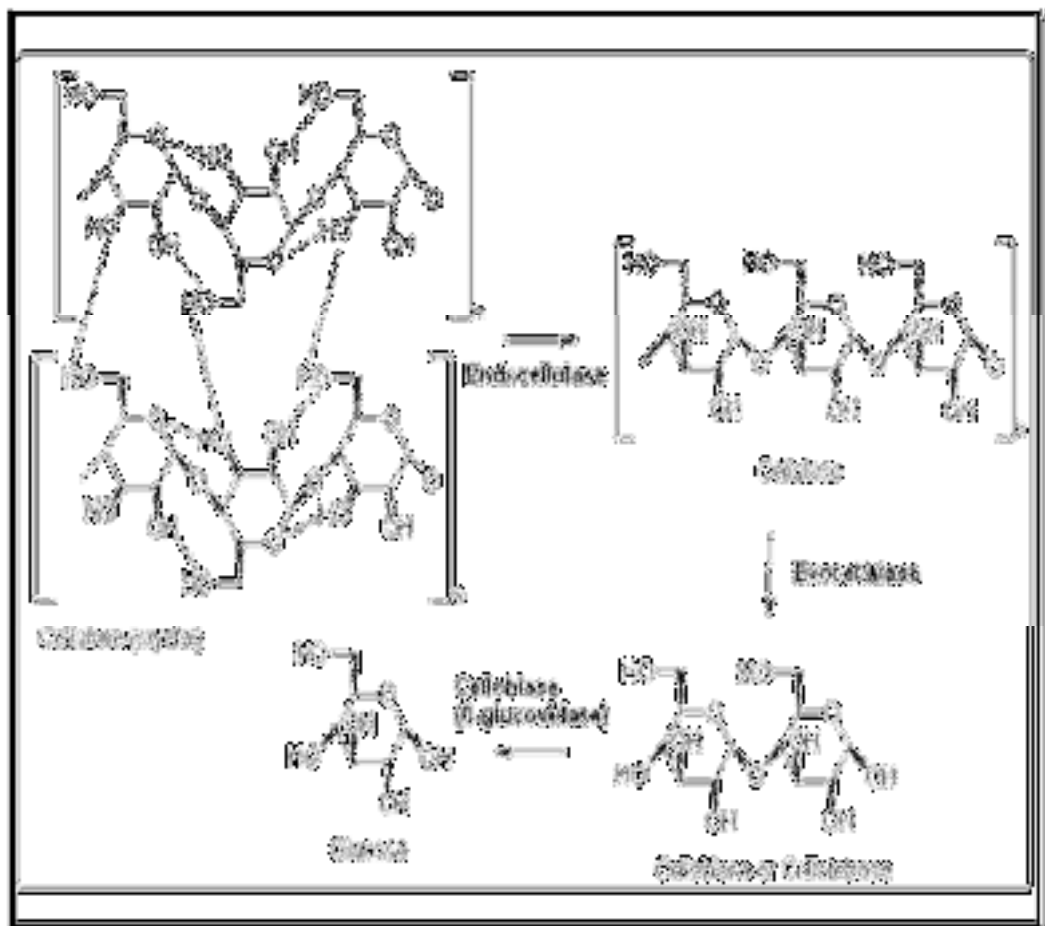


Figure 13 Mode d'action de divers composants de la cellulase (**KarmakaretRay ; 2011**).

b. Les microorganismes producteurs de la cellulase

Le (tableau 7) regroupe les différents microorganismes producteurs de la cellulase.

Tableau 7 Exemples des microorganismes producteur de la cellulase (Béguin et Aubert, 1992).

Microorganisms	Espèces
Moisissures	<i>Neocallimastixfrontalis</i> , <i>Sphaeromonascommunis</i> , <i>Piromonascommunis</i> , <i>Chytridomycètes</i> , <i>Trichodermaviridae</i> , <i>Aspergillus aculeatus</i> <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Fusariumsolani</i> ,
Levures	<i>Candida molischiana</i> , <i>C. pulcherrima</i> , <i>Cryptococcusflavus</i> , <i>Kloeckeraapiculata</i> , , <i>Rhodotorulaglu</i> , <i>Saccharomyces</i> <i>fibuligeratinis</i> , <i>Trichosporoncutanum</i>
Bactéries	<i>Thermomonosporafusca</i> , <i>Cellulomonasfimi</i> , <i>C.bioazotea</i> , <i>C.uda</i> , <i>Streptomyces</i>

c. Utilisation industrielle de la cellulase

Les cellulases étaient commercialement valables pour plus de 30ans, et présentaient une cible pour les recherches académiques comme celles industrielles (**Singh. A, 1999 et al.2007**).son utilisation permet potentiellement la production de glucose, élément de base, qui une fois fermentée permet d'accéder à d'autres substances clés à savoir alcools, acétones et acides organiques notamment des gras volatiles d'où l'importance, écologique et industrielle, considérable des cellulases (**Receveur et al., 2002**) ce qui revoie à différentes applications industrielles (**Tableau 8**).

Tableau 8 Les Applications industrielles de la cellulase. (**Receveur et al. 2002**).

Industries	Applications
Alimentaires	Les cellulases sont utilisées pour faciliter la filtration de diverses suspensions, riches en fibres cellulosiques (Scriban, 1993). Des traitements de différents produits pour améliorer leurs qualités, où les cellulases sont utilisées sous forme de mélange d'enzymes.
des textiles et des détergents	Elles sont utilisées au cours de la finition, pour donner l'aspect aux vêtements en jean après lavage et améliorer l'apparence des tissus par élimination des tâches (Gusakov et al. 2007). Elles sont utilisées aussi dans les lessives afin d'améliorer l'apparence et la brillance des couleurs (Maurer, 1997 ; Cavako-Paulo, 1998).
Papeterie	Dans la fabrication des pâtes à papier, l'addition de cellulases, aux suspensions de pâtes encours de lavage et surtout aux suspensions de pâtes de papier de recyclage, améliore significativement leur filtrabilité et conduit à des économies importantes de consommation d'eau (Scriban, 1993).

Nutrition animal	utilisées comme additifs dans l'alimentation animale car l'addition des cellulases, aux aliments pour porcins, améliore leur digestibilité, ce qui réduit l'excrétion de cellulose non digérée (et donc diminue la charge polluante des excréta) (Scriban, 1993; Gusakov et al. 2000).
Thérapeutique	L'utilisation quasi confidentielle de certaines cellulases dans des formules médicamenteuses à vocation d'aide digestive (Odier et Rouau, 1985 ; Scriban, 1993).

1.1 La pectinase

Les enzymes pectinolytique « pectinase » constituent un groupe unique, complexe et hétérogène de différentes enzymes agissant spécifiquement sur les substrats pectinolytique, notamment les polymères de pectine qui représentent le polysaccharide majeur de la paroi cellulaire primaire et la lamelle moyenne de la paroi végétale. Cette action se résume dans le scindement de l'acide polygalacturonique (PGA) en acide monogalacturonique, ouvrant ainsi les liaisons glycosuriques, réduisant l'adhésion intracellulaire et la rigidité tissulaire (**Tatiana dacosta et Flevo, 2005 ; Fogarty et Kelly, 1983**). Ce qui aboutit par conséquent à la dégradation de la paroi cellulaire, l'éclatement des cellules, et donc, au symptôme de macération (**Bateman et Basham, 1976**).

Il est important de mentionner que les pectinase peuvent être classées en se basant sur la nature du substrat (pectine, acide pectique et oligogalacturonate), le mécanisme de dégradation (trans-élimination ou hydrolyse) et le type de clivage (endo ou exo) (**Favela-Torres et al. 2006**) en deux groupes principaux d'enzymes dont les propriétés et le mode d'action sont les pectines estérases (PE) et dépolymérases (polygalacturonases et lyases) (**figure13**).

Les pectines estérases (PE):Catalysent l'hydrolyse des liaisons esters méthyliques adjacents à un groupe carboxyle libre des pectines, enlevant ainsi les groupes méthyles de la chaîne les uns après les autres dans une direction donnée. Le résultat est la libération du méthanol et la formation du PGA (**Sakai et al, 1993**). Leur mode d'action reste toujours mal élucidé. Selon le mécanisme d'attaque des PE varie en fonction de leur origine. L'activité des PE peut être suivie soit par le dosage du méthanol libéré, soit par la détermination de

l'augmentation du nombre des carboxyles Libres, ou encore en utilisant un régulateur du pH puisque, l'ionisation du groupe carboxyle produit dans le milieu un proton causant une variation du pH (Jayani et al, 2005).

Dé polyméras (polygalacturonases et lyases): Sont des hydrolases qui possèdent des activités endo-ou exogalacturonases. En fonction du substrat et du mécanisme de clivage des liaisons glycosuriques, on distingue quatre catégories différentes : Les PG et les PMG :qui agissent respectivement sur les pectases et les pectines par hydrolyse. Les PGL et les PMGL: agissant par β -élimination sur les pectases et les pectines respectivement. (Alkortaet al, 1998).Suivant le mode d'attaque, la réaction peut se faire soit de manière aléatoire ou bien de l'extrémité de la chaine. Ce qui permet la distinction des endo-et des exo-dépolyméras (Figure 14) (Jayani et al, 2005).

a. Mode d'action

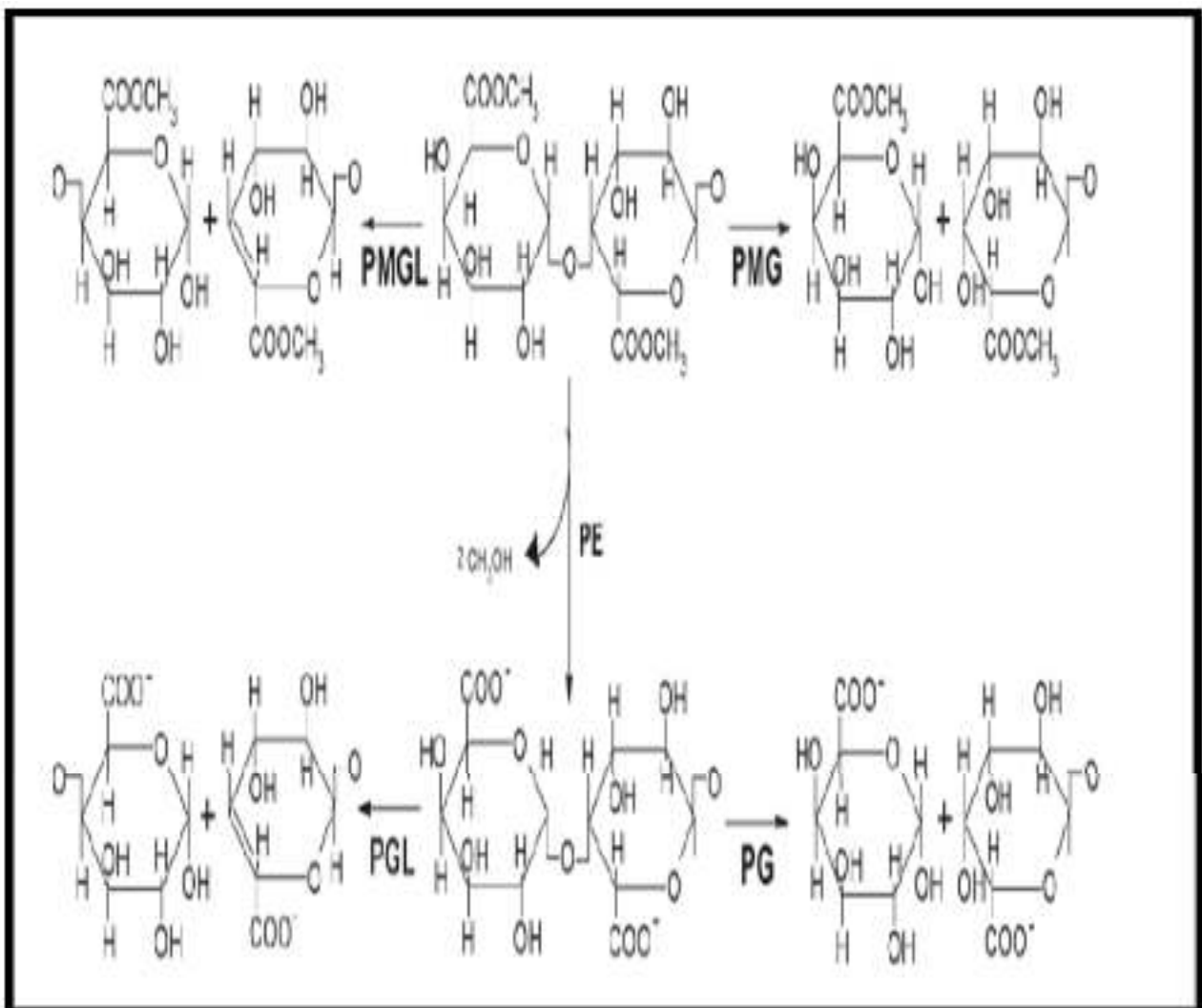


Figure 14 Mode d'action de la pectinase(Jayanietal, 2005).

b. Les microorganismes producteurs de la pectinase

Les microorganismes producteurs de la pectinase sont récapitulés dans le (Tableau 9)

Tableau 9 Exemples des microorganismes producteurs de la pectinase (Priya.andSashi., (2014).

Microorganismes	Espèces	Références
Moisissures	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> <i>Rhizopusstolonifer</i> , <i>Mucor racemous</i> , <i>Penicillium jenseni</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , <i>trichodermaviride</i>	Priya.andSashi., (2014).
Levures	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Candida tropicalis</i>	DjouldéDarman et al. (2005).
Bactéries	<i>Bacillus sp</i> <i>Lactobacillus cellobiosus</i>	DjouldéDarman et al. (2005).

c. Utilisation industrielle de la pectinase

Ces enzymes sont classées parmi les enzymes les plus importantes dans le secteur industriel (Kashyap, D.R et al. 2001), en raison de leurs fréquentes et multiples utilisations. Comme titre d'exemple, on cite les pectinase acides utilisées dans l'extraction et la clarification des jus de fruit (Rombouts et Pilnik, 1986) et les pectinase alcalines faisant l'objet d'une immense utilisation dans le dégommeage des fibres de ramie (Cao et al.,1992), pourtant en réponse à l'extrême usage biotechnologique de ces enzymes, ces dernières sont produites par plusieurs organismes comme les champignons (Aguilar et Huitron, 1990), les levures (Gainvors et Belarbi, 1995) ainsi que, les bactéries (Horikoshi, 1972 ; Karbassi et Vaughn, 1980).Les principaux obstacles associés à la production de ces enzymes sont liés à

leur isolement cellulaire, à la répression catabolique et à une récupération inefficace et coûteuse.

2 Oxydo-réductases

Il s'agit d'enzymes de type "respiratoire", dont le plus courant est la déshydrogénase. Cette mesure est parfois incluse dans des tests éco toxicologiques (**Rossel et Tarradellas, 1991**) pour une estimation rapide de l'activité globale du sol ; toutefois les résultats sont assez variables en fonction des conditions opératoires (**Merlin et Rossel, 1992**).

L'activité catalase a été parfois aussi déterminée sur des échantillons de sol ; la mesure consiste à enregistrer la formation d'oxygène gazeux lors de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée). Mais des réactions abiotiques sont fréquentes et peuvent sérieusement biaiser les résultats (activité physico-chimique des oxydes de manganèse). Les poly phénol-oxydases interviennent dans les processus d'humification à travers la dégradation de la lignine.

2.1 Les chitinases

Les différents organismes produisent une large variété d'enzymes hydrolytiques spécifiques aux différents substrats. Les chitinases font partie de ces enzymes qui hydrolysent la chitine au niveau de la liaison glucosidique β (1-4) N-acétyl glucosamines.

a. Le mode d'action des chitinases

Les chitinases agissent en hydrolysant la liaison β glycosidique entre les résidus GlcNAc. En général, cette hydrolyse se déroule de l'une ou de l'autre manière, l'une avec conservation anomérique dans le produit, l'autre avec une inversion anomérique.

(**Figures 15 et 16**) représentent les substrats (chitine et chitosane) hydrolysés par les chitinases.

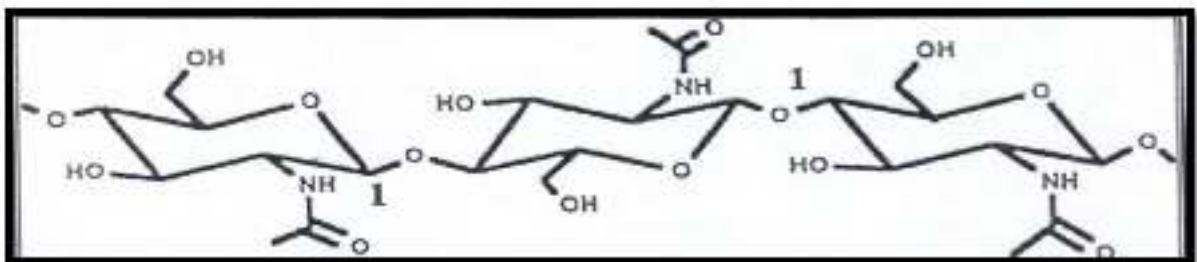


Figure 15 Chitine: Substrat hydrolysé totalement par les chitinases au niveau des liaisons N-Acétyle- glucosamine indiquées en 1 sur ce schéma (**Neuhaus, 1999**).

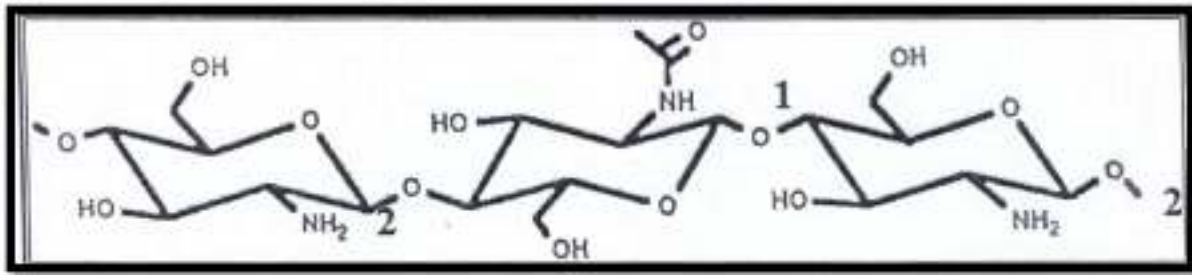


Figure 16 : chitosane : substrat hydrolysé partiellement par les chitinase au niveau des liaisons N-Acétyle-glucosamine indiquées en 1 sur ce schéma. Les liaisons indiquées en 2 sont hydrolysées par les chitosanase (Neuhaus, 1999).

b. Les microorganismes producteur de la chitinase

Tableau 10 Les exemples microorganismes producteur de la chitinases

Microorganismes	Espèces	Références
Moisissures	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Rathiresan et Mannivanan, 2006
	<i>Aspergillus</i>	
		Priya ana sashi, 2014
Levures	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Djouldédraman et al.2005
	<i>Candida tropicalis</i>	
Bactéries	<i>Bacillus subtilis</i>	Liese et al.2000
	<i>Lactobacillus Cellobiosus</i>	

c. Les applications industrielles de la chitinases

Tableau 11 Les applications industrielles de la chitinases.

Domaines D'application	Applications
Agriculture	Enrobage des semences
	Alimentation des volailles
	Fertilisant
Alimentaire	Additifs alimentaires (liant, émulsifiant, stabilisant..)
	Clarification des boissons

2.2 Biomédical

Agent hémostatique,
 bactéristatique, spermicide
 Anticoagulant
 Vaisseaux sanguins artificiels
 Gel dentaire
 Lentille cristalline (ophtalmologie)
 Membrane pour dialyse
 Capsules pour le relargage des
 Médicaments
 Réduction du taux de cholestérol
 Peaux artificielles
 Pansements
 Accélération de la cicatrisation des
 blessures
 Fils de suture chirurgicaux
 Biorésorbables

Cosmétique

Agent de liaison dans les crèmes
 Émulsifiant
 Humidifiant
 Soins capillaires

Environnement (Traitement des eaux usées et des déchets)

Purification des eaux par floculation
 Formation de complexes avec les
 Métaux

Autres Acoustique Biotechnologie Industrie papetière Textile Photographie

Membrane des hauts-parleurs
 Immobilisation des cellules et des
 enzymes
 Additifs
 Additifs (imperméabilisant...)
 Films

2.3 Les protéases

Les protéases sont un groupe d'enzymes très complexe Elles appartiennent à la classe des hydrolases (EC 3.4.21-24.x), formées d'une ou plusieurs chaînes **poly peptidiques** (Kumar *et al.*2008). Les protéases catalysent le clivage des liaisons peptidiques de toute molécule protéique (Figure 15). Elles scindent les protéines en fragments polypeptidiques qui seront par la suite transformés sous l'influence des peptidases en leurs sous-unités constitutives, les acides aminés, offrant une multitude de structures (Frazier, 1967; Scriban, 1999). La formation des enzymes protéolytiques est parfois réprimée par l'adjonction au milieu d'un hydrolysate de protéines ou d'un mélange d'acides aminés.

a. Mode d'action

Le mode d'action des protéases diffère d'une enzyme à l'autre par la nature de leur site actif, bien qu'elles aient toutes le même principe de base. Ce processus catalytique est résumé dans trois étapes : Dans les deux premières étapes, l'enzyme déforme la liaison peptidique et renforce-la polarité du carbonyle, qui facilite son attaque nucléophile conduisant à la formation d'une liaison covalente transitoire entre le morceau portant le carbonyle du substrat et l'enzyme avec la libération de l'autre morceau (le premier produit) protoné par un proton cédé d'un résidu enzymatique. Dans la troisième étape, une nouvelle substitution nucléophile est exercée par le OH- d'une molécule d'eau et libère le deuxième produit de la réaction, où le site actif de l'enzyme se trouve régénérer par un proton (de l'H₂O) (Figure 17) (Pelmont, 1995).

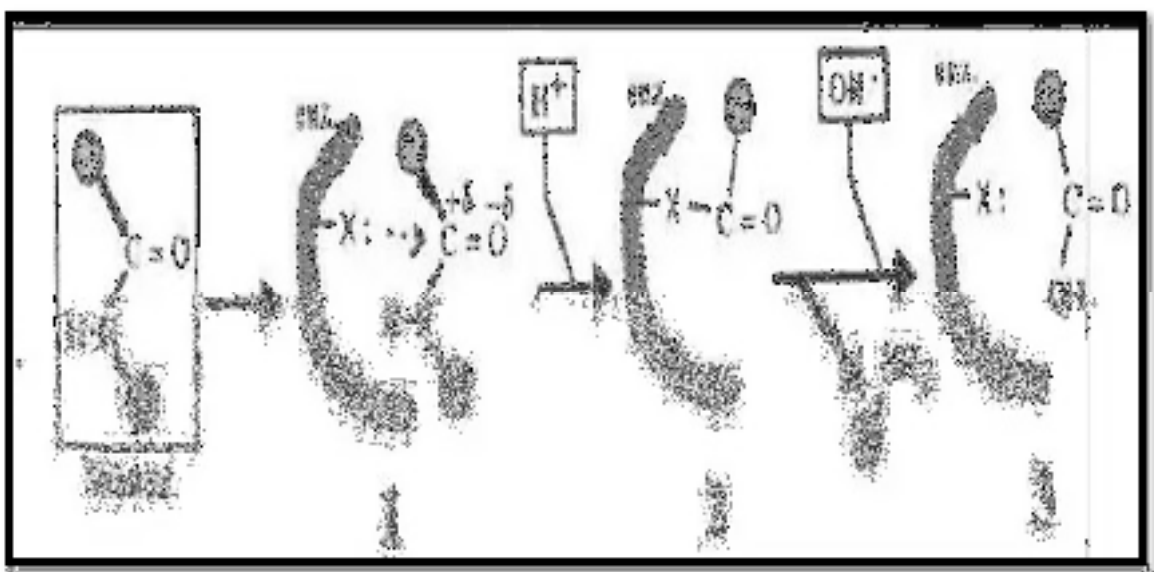


Figure 17 Mécanisme d'action des protéases (Pelmont, 1995).

b. Les microorganismes producteurs de protéase

Tableau 12 Exemples des protéases microbiennes (Devi et al.2008).

Source	Espèces	Références
Moisissures	<i>Aspergillus oryzae</i>	Garcia-Gomez et al., 2009
	<i>Mucor circinelloides</i>	Sathya et al., 2009
	<i>conidiobolus coronatus</i>	Laxman et al., 2005
	<i>Penicillium sp.</i>	Germano et al., 2003
	<i>Aspergillus terreus</i>	Wu et al., 2006
	<i>Bauveria felina</i>	Agrawal et al., 2005
	<i>Aspergillus clavatus</i>	Hajji et al., 2007
	ESI	
Levures	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Chi et al., 2007
	<i>candida lypolytica</i>	Tobe et al., 1976
Bactéries	<i>Bacillus licheniformis</i>	Ferrero et al., 1996
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	George et al., 1995
	<i>Bacillus subtilis</i>	Soares et al., 2005
	<i>Bacillus sp.</i>	Patel et al., 2005
	<i>Virgibacillus sp. SK33</i>	Sinsuwan et al., 2008
	<i>Synergistes sp.</i>	Kumar et al., 2008
Actinomycètes	<i>Streptomyces sp.</i>	Mehta et al., 2006
	<i>Nocardio psisalkaliphila sp.</i>	Hozzein et al., 2004

c. Utilisation industrielle de la protéase

➤ Boulangerie

La farine de blé est grandement utilisée en boulangerie. Cette farine contient du gluten, une protéine insoluble, qui est responsable des propriétés de la pâte. Les protéases d'*Aspergillus oryzae* sont utilisées pour hydrolyser le gluten, à un degré plus ou moins important, selon les caractéristiques désirées de la pâte. Le traitement de la pâte facilite sa manipulation et permet la production d'une grande variété de produits. Également des protéases d'origine bactérienne sont souvent utilisées pour améliorer l'élasticité et la force de la pâte (Rao et al. 1998).

➤ La fabrication fromagère

Des recherches approfondies ont permis de prouver que la majorité des protéases microbiennes acides possède une grande capacité à coaguler le lait pour former le caillé, l'étape clé dans la production fromagère (Neelakantan et al. 1999; Sumantha et al. 2006); ce qui facilite l'expansion de l'industrie fromagère, dont le développement a été limité par la pénurie de la présure animale. (Aguilar et al., 2008).

Dans l'industrie du lait, les protéases acides, neutres et basiques produites par *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Thermoascus aurantiacus*, *Irpex lactis*, *Endothia parasitica* et autres espèces du genre *Mucor* ont été également utilisées (**Channe et Shewale, 1998; Merhebet al. 2007; Aguilar et al.2008**). La protéase produite par *Pseudomonas fluorescens*R098 s'utilise actuellement comme un agent d'amélioration (**Koka et Weimer, 2000**).

➤ **Domaine pharmaceutique et médical**

Les enzymes protéolytiques sont également utilisées pour développer des produits d'importance médicale. Par exemple, des protéases d'*Aspergillus oryzae* sont utilisées comme aide à la digestion chez certains individus souffrant de déficits en enzymes lytiques au niveau du système digestif. Également, des collagénases provenant de *Clostridium sp.* ou des subtilisines sont utilisées en combinaison avec des antibiotiques dans le traitement de brûlures et de plaies. Une élastotérase provenant de *Bacillus subtilis* peut être utilisée pour le traitement de furoncles d'abcès et de plaies profondes (**Kudrya et Simonenko, 1994**).

2.4 La Lipase

Les triacylglycérol acyle hydrolases-EC 3.1.1.3 (lipases) sont des enzymes produites par divers organismes, animaux, végétaux et microbiens (**Gonçalves Filho et al., 2019**). Ces enzymes jouent un rôle clé dans la biochimie des lipides (**Mireille Alloue et al., 2008**). Elles ont été déterminées par Claude Bernad en 1856 dans le jeu pancréatique comme enzyme qui hydrolyse les gouttelettes d'huile insolubles et les convertit en produits solubles. Sur le marché mondial des enzymes les lipases sont classées après les protéases et les amylases et représentent 5% de ce marché (**Ilesanmi, 2020**).

a. Mode d'action

Les lipases présentent deux conformations en fonction de l'environnement ils sont : une conformation «fermée» et l'autre «ouverte». La structure 3D de certaines lipases contient une structure amphipathique. Le chapeau contient à la fois les faces hydrophiles et hydrophobes. La face hydrophobe du chapeau s'orienterait vers le site actif par interaction hydrophobe avec ses résidus et la face hydrophile vers l'extérieur.

En présence du solvant organique et/ou de substrat lipidique, le chapeau se déplacerait et sa face interne, devenue accessible au solvant, créerait une surface hydrophobe qui interagirait avec l'interface huile/eau. Le site actif deviendrait alors accessible au substrat (**Figure 18**) (**Neang, 2013 et Agboet al.2017**).

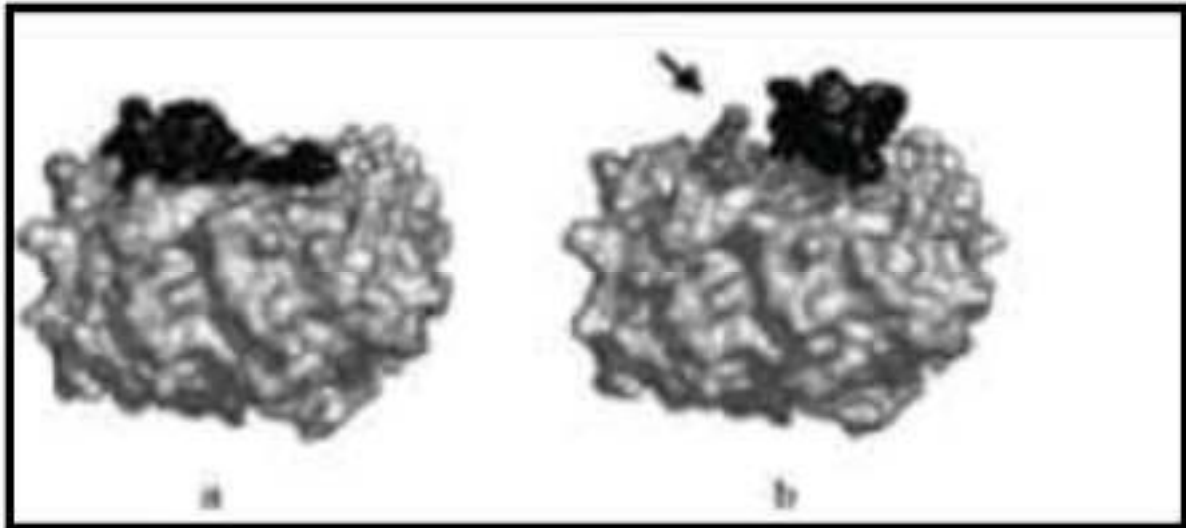


Figure 18 Modifications conformationnelles des lipases en présence et absence de substrat

(a) L'enzyme présente une conformation en l'absence du substrat. (b) En présence du substrat, le couvercle sera ouvert et l'enzyme prend alors une nouvelle conformation, ce qui en fait une enzyme active (Agboet *et al.*, 2017).

Le mécanisme de ce site catalytique est bien déterminé. Lors de la présentation du substrat dans la poche catalytique. L'hydrolyse d'un ester carboxylique peut se dérouler en six grandes étapes (Fickers *et al.*, 2008 et El alaoui, 2015) :

- Le carbone de la fonction carboxylique du substrat subit une attaque nucléophile du groupement hydroxyle de la sérine dont le caractère nucléophile est augmenté par le résidu histidine suite à la formation d'une liaison hydrogène. L'anneau imidazole de l'histidine devient alors protoné et chargé positivement. Cette charge positive est stabilisée par une charge d'un résidu acide (Asp ou Glu).
- La formation d'un premier intermédiaire tétraédrique, stabilisé par deux liaisons hydrogènes avec des résidus du trou oxyanion (oxygène chargé négativement).
- Par la suite, il y a libération d'une molécule d'alcool, formation de l'acyl-enzyme.
- Une attaque nucléophile de l'acyl-enzyme par une molécule d'eau.
- Cette seconde attaque nucléophile aboutit à la formation d'un second intermédiaire tétraédrique, stabilisé par le trou oxyanion.
- Finalement, il y a libération de l'acide gras et retour de l'enzyme dans sa conformation initiale (Fickers *et al.* 2008 et El alaoui, 2015).

A. Conformation initiale de la triade catalytique et approche du substrat.

B. Formation du premier intermédiaire tétraédrique et sa stabilisation par le trou oxyanion.

C. Libération de l'alcool et formation du complexe acyl-enzyme (El alaoui, 2015).

b. Les microorganismes producteurs de lipase

Tableau 13 Exemple microorganismes producteur de lipase

Microorganismes	Espèces	Références
Moisissures	<i>Permcillum chrsoyennum</i> <i>Aspergillus aculeatus</i>	Ertan et Balkan .2007 Guxkov et al, 2007
Levures	<i>Candida rugosa</i> <i>Yarroouwia lipolytica</i>	Li et Zhang, 2005
Bactéries	<i>Pseudomonas acuginox</i> <i>Geobacillus sp</i>	Ruchi et al, 2007

c. Application de la lipase dans l' industrie

Les lipases sont un groupe important d'enzymes à valeur industrielle en raison de leur nature polyvalente. On peut les utiliser en tant qu'hydrolase ou comme catalyseur et synthèse organique. Leurs domaines d'applications sont donc très vastes et variés. Parmi lesquelles nous citons quelque industrie (**Fickerset al. 2008 et Gupta et al.2015**) :

- **Industrie alimentaire** : La lipase a été utilisé dans les produits laitiers pour le développement de la saveur dans la transformation d'autres aliments tels que les produits carnés, aliments cuits au four, transformation du beurre de cacao et autres (**Guerrand, 2017**).
- **Industrie des détergents** : Les lipases constituent d'un groupe d'enzymes détergentes très importantes pour contribuer à l'élimination des taches et des traces d'huile et de graisse. Les lipases sont utilisées à la fois dans la lessive et la vaisselle, dans les formulations de détergents commerciaux où elles ont été optimisées pour fonctionner à différents pH et à différentes températures. Lipex et Lipolase de Novozymes sont deux exemples de lipases vendues à l'industrie des détergents (**Guerrand, 2017**).
- **Industrie des cosmétiques et de la parfumerie** : les lipases permettent de produire des mono- et diacylglycérols qui sont employés en tant que surfactants et composés aromatiques (arômes) (**Ximena Zottig, 2016**).

- **Industrie de pâte à papier et du papier** : La présence de composants hydrophobes (principalement des triglycérides et des cires) dans le bois est préjudiciable de nombreux procédés de production de papier et de pâte à papier, et les lipases peuvent être utilisées pour éliminer ces triglycérides indésirables (**Guerrand, 2017**).
- **Industrie de biodiesel** : A partir de diverses matières premières telles que l'huile de palme ou les graisses animales, des lipases thermostables ont été développées pour optimiser l'application d'enzymes dans la production de biodiesel (**Guerrand, 2017**).
- **Industrie pharmaceutique** : Ces enzymes sont largement utilisées pour la synthèse des médicaments par exemple les anti-inflammatoires non stéroïdiens, certains antibiotiques vitamines (**Lagrari, 2019**).

Matériel et Méthode

Matériel et méthodes

1 Objectif de l'étude

Objectif de ce travail est l'isolement des levures et de moisissures dotées des activités hydrolytiques, à partir d'un sol irrigué des eaux usées.

2 Echantillonnage

Le prélèvement d'un échantillon de sol est une opération délicate, l'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol. L'échantillon du sol sur lequel nous avons réalisé notre étude, est prélevée des terres agricoles irriguées par l'Oued Meskiana (**Figure 19**) de la wilaya d'Oum Elboughi. .

Oued Meskiana couvre une superficie de 465.6km², avec une longueur de 53.80Km et les coordonnées suivantes (**Zidi, 2021**).

- Latitude : 35,51' Nord et 35,13' Nord.
- Longitude : 7,50' Est et 7,14' Est

L'échantillon est placé dans un flacon stérile et transporté au laboratoire. Cet échantillon à été séché à l'air libre et broyé dans un mortier pour éliminer les grumeaux de terre et faciliter l'isolement des souches levuriennes et de moisissures.

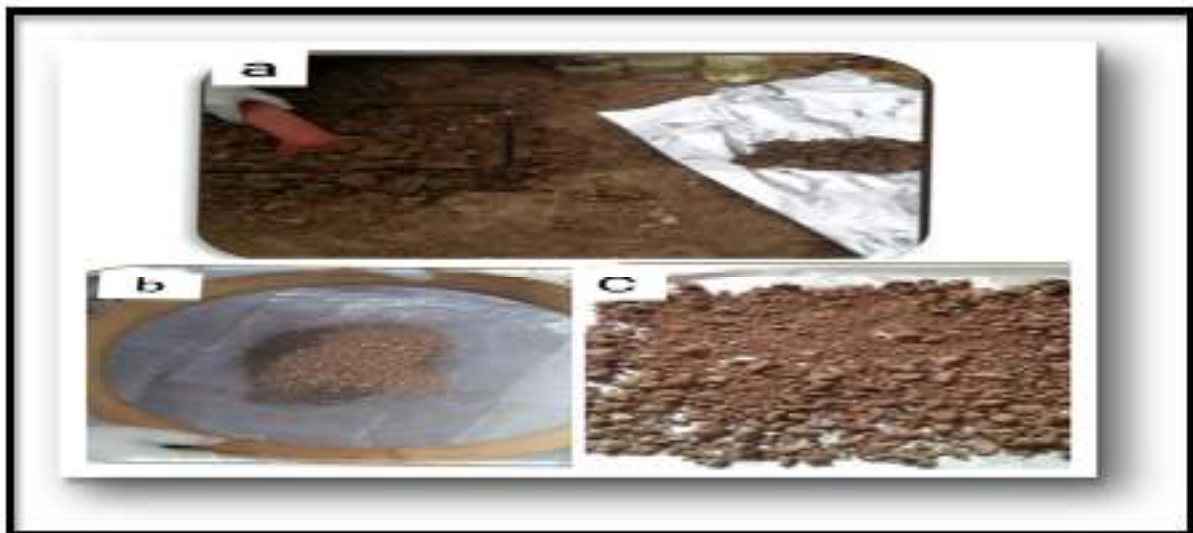


Figure 19 Méthode de prélèvement de l'échantillon du sol.

(a) : prélèvement du sol forestier, (b) : tamiser du sol, (c) : séchage du sol .

3 Préparation de la solution mère et les dilutions.

La solution mère a été préparée après avoir introduit 10g de chaque échantillon dans des flacons contenant 100ml d'eau physiologique stérile.

Des dilutions décimales sont préparés par l'ajouté successif de 1 ml de la solution mère à 9 ml d'eau distillée stérile jusqu' à obtention de la dilution de 10^{-6} . (**Figure 20**).

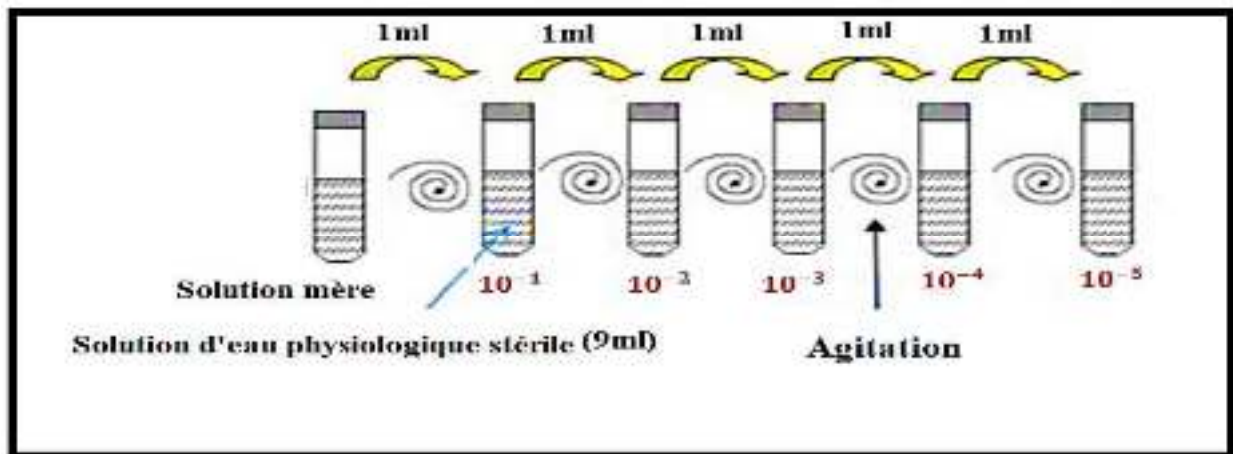


Figure 20 Schématisations de méthode de dilution

4 Isolements des levures et des moisissures

L'isolement des levures a été réalisé sur milieu gélosé Sabouraud (**annexe I**). Alors que pour les moisissures, a été réalisé sur milieu gélosé PDA (**annexe I**).

Des dilutions décimales de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} sont préparées à partir de la solution mère. Par la suite, 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur le milieu sabouraud pour les levures et PDA pour les moisissures précédemment stérilisés et coulés dans des boîtes de Pétri stériles. Ces dernière sont, alors incubées 25 à 30 °C et observées après 3 à 7 jours d'incubation.

À l'aide d'un microscope optique, les colonies levuriennes sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique. Les colonies possédant un aspect typique aux levures sont purifiées sur milieu Sabouraud (**annexe I**). Les colonies possédant un aspect typique aux moisissures sont purifiées sur milieu PDA (**annexe I**).

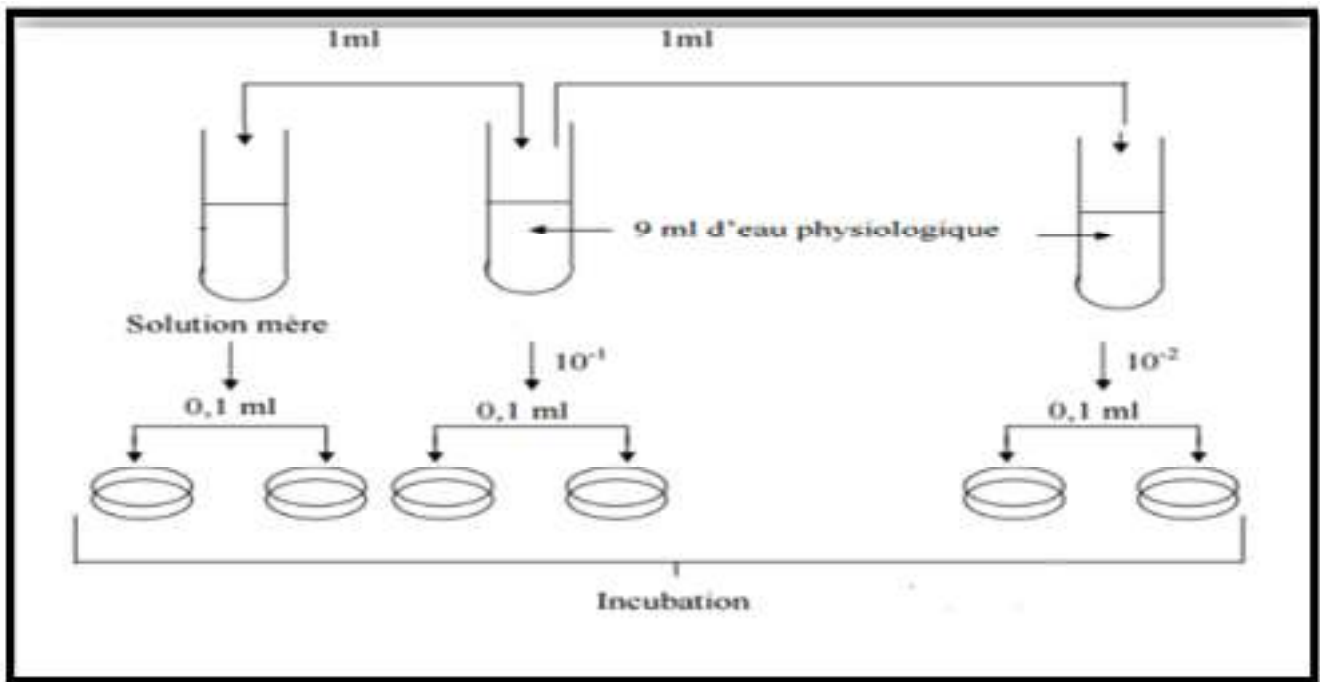


Figure 21 Technique d'ensemencement sur milieu Sabouraud et PDA à partir de solution mère et des dilutions décimales

5 Purification des levures et moisissures

Après la croissance des isolats, des colonies présentant les caractères cultureux des levures et des moisissures sont purifiées par réensemencement (selon la méthode des stries) sur boîtes contenant le milieu Sabouraud et milieu PDA respectivement (**Annexe I**). L'incubation des boîtes est effectuée à 30°C pendant 72h (**Harrigon et Mc lace, 1976**).

Les caractéristiques des isolats purs ont été notées en se basant sur l'aspect microscopique et macroscopique (**Leveau et al, 1979 ; Bourgeois et al, 1996**).

➤ L'observation macroscopique des levures

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation des isolats. Les éléments d'identifications macroscopiques sont ceux qui sont déclarés par (**Joffine et Leyral ; 2006**); en l'occurrence:

- ✓ **Forme des colonies** : rondes, punctiforme.
- ✓ **Taille des colonies**: 6 à 8 micromètre.
- ✓ **Couleur de la colonie**: blanche.
- ✓ **Élévation** : convexe, plate.
- ✓ **Opacité** : opaque, translucide.
- ✓ **Surface** : lisse.

➤ **L'observation macroscopique des moisissures**

- ✓ L'aspect morphologique des colonies et la texture du thalle (**laineux**).
- ✓ La couleur du thalle (pigmentation du mycélium, (**blanc, vert, noire, maronne**))
- ✓ Couleur du revers de la culture. (**translucide**)

Ces caractères sont étudiés à l'œil nu.

6 La conservation

La conservation des souches levuriennes et des moisissures consiste à procéder des repiquages successifs sur gélose incliné de Sabouraud et de milieu PDA. Une incubation à 30°C pendant un intervalle de temps de 3-5 jours été réalisé. Par la suite les boites ont été conservées à une température de 4°C (**UI-Haq et al. 2002**).

7 Recherche des quelques activités enzymatiques des isolats sélectionnés de levures et des moisissures

Cette étape de travail consiste à réaliser quelques testes permettent la mise en évidence de quelques activités enzymatiques de quelques isolats des levures et des moisissures.

7.1 Recherche de l'amylase

Dans ce test, les isolats sélectionnés de moisissures et de levures (six isolats de levures et quatre isolats de moisissures) ont étéensemencées sur la gélose de Gausse (**AnnexeI**). Après 14 jours d'incubation à 28°C. Les boites de Pétri contenant le milieu gélosé est recouverte d'une solution de Lugol. L'hydrolyse est mise en évidence par la présence d'une zone claire autour des colonies après ajout du Lugol (**Geraldine et al. 2014**).

7.2 Recherche de la cellulase

Cette activité a été testée sur une gélose additionnée de la cellulose (**Annexe I**). Le milieu est coulé sur boites de Pétri puisensemencé par stries des isolats testés et incubés à 30°C. Après sept jours, une solution aqueuse de rouge Congo à 1% suivie d'une solution de Na Cl pendant 15 min permet de mettre en évidence la dégradation de la cellulose (**Pinky et al. 2012**).

7.3 Recherche d'une Gélatinase

Les isolats sont cultivés sur gélose nutritive contenant 1% de la gélatine (**Annexe I**) pendant 14 jours à 30°C. Les zones où la gélatine n'est pas dégradée s'opacifient lorsqu'une solution de chlorure mercurique est ajoutée. Les zones claires correspondent aux zones de l'hydrolyse (**Geraldine et al. 2014**).

7.4 Recherche des lipases (Recherche des estérases)

Le test de l'activité lipasique a été réalisé sur le milieu de Sierra additionné de tween 80 (**Annexe I**) (**Sierra, 1957**). Après sept jours d'incubation, l'apparition d'un halo opaque autour des colonies traduit la présence d'une estérase.

7.5 Recherche de la tyrosinase

Ce test a été réalisé sur une gélose à la tyrosine (**Annexe I**) Les boîtes sont incubées à 30°C. La dégradation de la tyrosine se manifeste par une auréole de coloration marron autour des colonies qui peut se transformer graduellement en noir (**Roy et al. 2014**).

Résultats Et Discussion

Les analyses microbiologiques de l'échantillon de sol ont été réalisées au niveau du campus des laboratoires pédagogiques de la faculté de la science de la nature et de la vie – khanchela.

1 Isolement et purification des levures et des moisissures

Les colonies de levures et de moisissures apparaissent après 2 à 5 jours d'incubation (Figure 22 ;23). Après observation microscopique, les colonies de levure et de moisissures ont été purifiées par repiquage dans le milieu Sabouraud et PDA respectivement et incubées à 30 °C pendant 3-7 jours.

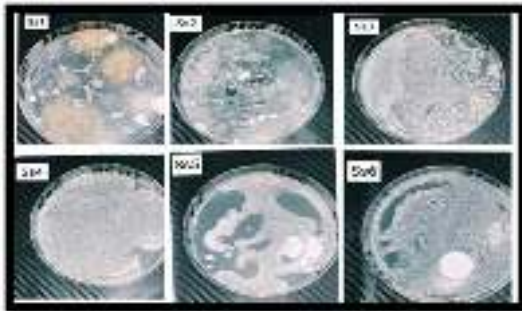


Figure 23 photographie mise en évidence l'isolement des levures sur milieu Sabouraud.

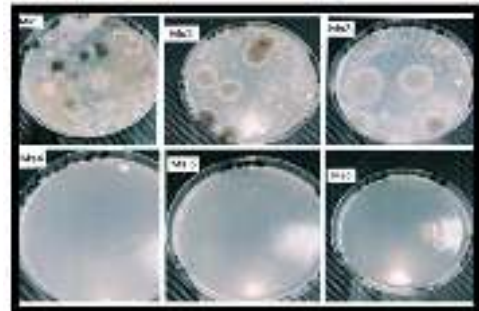


Figure 22 photographie mise en évidence l'isolement des moisissures sur milieu PDA.

Ainsi, on a 148 isolats des levures et 14 isolats des moisissures ont été obtenus et se répartissent comme suit : (tableau 14)

Les Figures24 Et 25 montres l'aspect de quelques isolats de levures et de moisissures après l'étape de purification.

Tableau 14 nombre d'isolats des levures et champignons par site exploré

	site de prélèvement	Nombre d'isolats
Moisissures	Sol irriguée des eaux usées	14
Levures	Meskiana Oum Bouaghi	148

2 Discussion de dénombrement

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires eucaryotes. D'après les résultats présentés dans Le Tableau 14, on remarque que la population de levures

enregistrées dans l'échantillon du sol irrigué par les eaux usées d'Oued Meskiana est supérieure à 100 isolats (**Figure 24**).

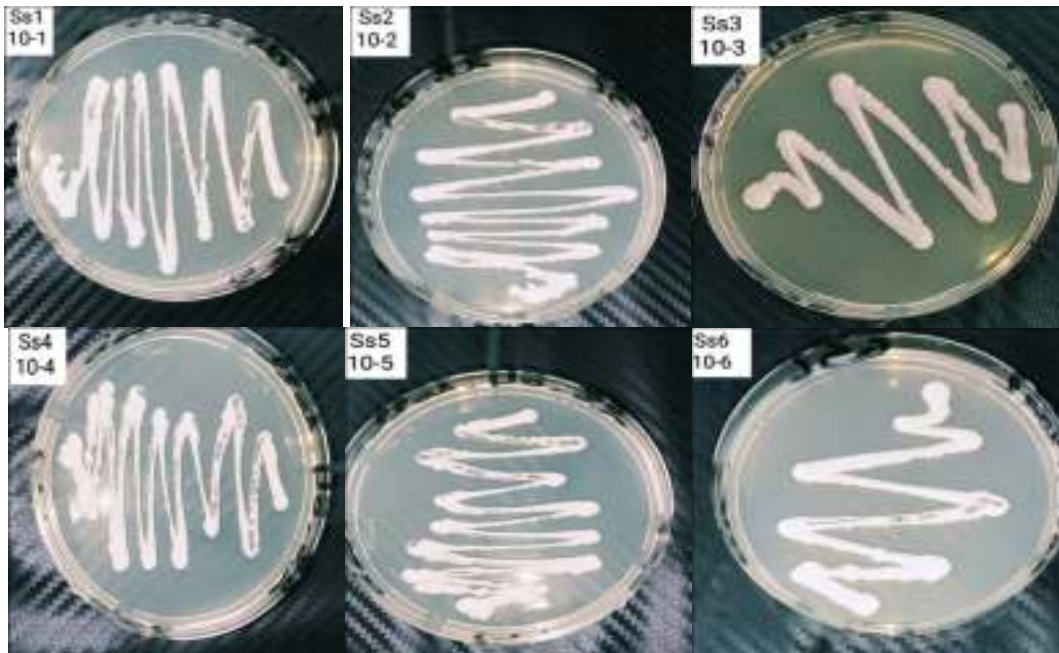


Figure 24 Aspects sur milieu Sabouraud des isolants purs des levures.

Le nombre d'isolats des levures obtenu par notre étude sont plus de 100 isolats par contre le nombre d'isolats obtenu à partir du sol forestier est proche avec celui obtenu par **Amara et Boukhoursa (2019)** qui ont pu récupérer 15 isolats à partir d'un échantillon de sol forestier (site Abd elmalek Ramdane, Ouillis de la wilaya de Mostaganem).

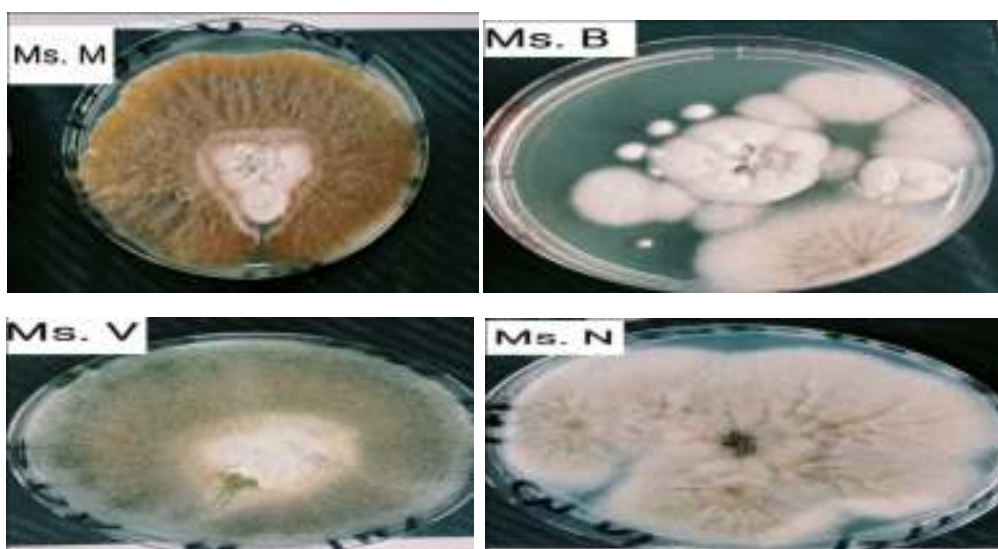


Figure 25 Aspects sur milieu PDA des isolats purs des moisissures

Les champignons sont des micro-organismes capables de coloniser différents écosystèmes. Le nombre des moisissures et des levures est très différent d'un site à un autre et qui peut être influencé par la disponibilité de la matière organique essentielle pour leur croissance. Dans ce travail, l'isolement des champignons a été réalisé à partir d'un sol irrigué des eaux usées de la région de Oum El Bouaghi).

Le dénombrement de la microflore fongique présente dans l'échantillon de sol étudié à été réalisé par comptage des colonies apparues dans des boîtes d'à l'œil nu.

D'après les résultats présentés dans **Le Tableau 14**, on remarque que la charge fongique enregistré dans sol irrigué par les eaux d'Oued Meskiana est très faible.

Ces résultats rejoignent les résultats obtenus par Boiron (1996) qui a signalé que certaines espèces fongiques se retrouvent sur différents types du sols, comme les *Aspergillus*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Mortierella*, *Zygorhynchus*, *Chaetomium*, *Gymnoascus* (**Figure 25**).

3 L'identification des levures et moisissures

3.1 Observation microscopique des levures

Des préparations microscopiques (objectif x40) ont été effectuées entre lame et lamelle après l'ajoute de bleu de mythélen ; L'étude microscopique permet de définir ; d'une part la forme (ovoïde,), la taille des cellules est 6à 8 Micromètre, (**Figure 26**) (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

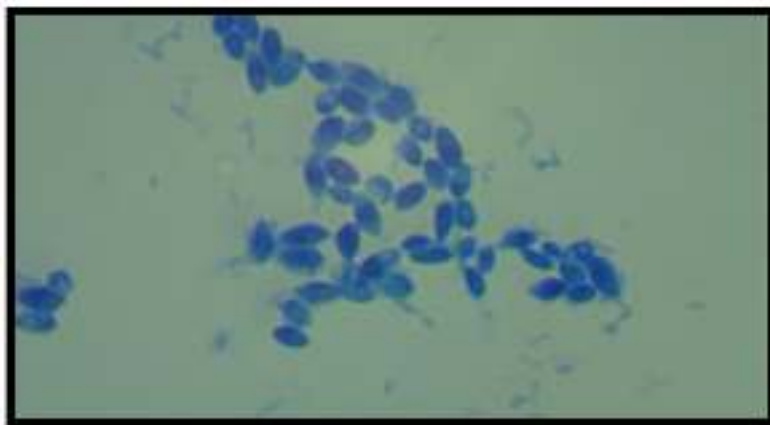


Figure 26 l'observation microscopique des levures (observationX40).

3.2 Observation microscopique des moisissures

On fait l'observation microscopique des moisissures à l'aide de la technique de drapeau par l'utilisation d'un morceau de cellophane ou un morceau de scotch qui appliquée sur la surface de la culture étudiée (moisissure), il est ensuite examiné entre lame et lamelle. L'étude microscopique permet l'observation (X 10, X100) des thalle (mycélium) et des spores (**Figure 27, 28**).



Figure 28 L'observation microscopique des moisissures noires (observation X10).



Figure 27 L'observation microscopique des moisissures blanche (observation X100).

4 Mise en évidence des activités enzymatiques

Les résultats des activités enzymatiques des quelques isolats des levures et de moisissures isolés à partir d'échantillon du sol étudié sont illustrés dans le (**Tableau 15 et 16**) ci dessous :

Tableau 15 Résultats d'activité enzymatique des isolats de levures sélectionnés (SS1-SS6).

	SS1	SS2	SS3	SS4	SS5	SS6
Amylase	++	--	+-	--	++	+
Cellulase	+-	-	+-	++	++	++
Gélatinase	--	--	--	--	--	--
Lipase	--	--	--	--	--	--
Tyrosinase	--	-	--	--	--	--

(-) pas d'activité, (±) activité faible, (+) activité modérée, (++) activité forte.

Tableau 16 Résultat d'activité enzymatique des isolats de moisissures sélectionnés

	Ms.N	Ms.V	Ms.M	Ms.B
Amylase	++	+	++	+
Cellulase	+	+	+	-
Gélatinase	-	-	-	-
Lipase	-	+	-	+
Tyrosinase	-	-	-	-

(-) pas d'activité, (±) activité faible, (+) activité modérée, (++) activité forte

4.1 Mise en évidence de l'activité enzymatique Amylolytique

A partir du (Tableau 15 et 16), les isolats de levures et de moisissures isolés à partir d'échantillon du sol étudié montrent une activité amylolytique intéressante. Après l'addition du Lugol, l'apparition d'un halo clair autour de chaque colonie traduit la dégradation de l'amidon (Figure 29 et Figure30) cela montre que les isolats testés possèdent une amylase.

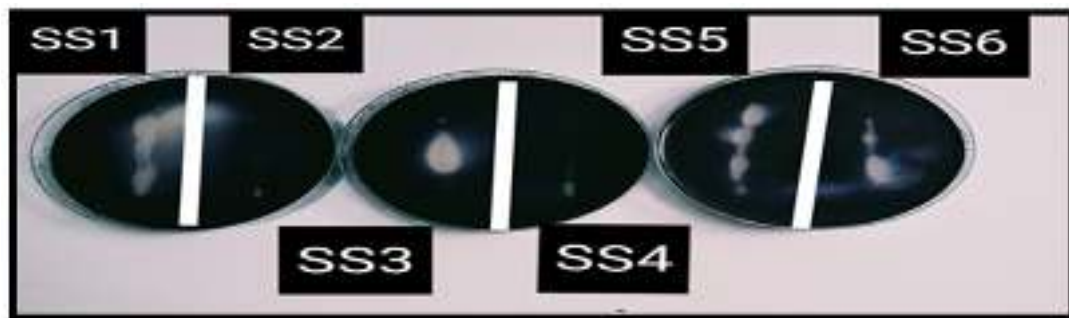


Figure 29 Mise en évidence de l'activité amylolytique des levures.

D'après le (Tableau15) et la (Figure 29), on remarque que les isolats des levures(SS1_SS3_SS5_SS6) ont bien dégradé l'amidon, cependant les isolats SS2 et SS4 ne montrent pas une activité amylolytique. Ceci est similaire aux travaux de(Geraldine et1981) ; et avec (Stanek et Roberts, 1974).



Figure 30 Mise en évidence de l'activité amylolytique des moisissures.

D'après le (Tableau16) et la (Figure 30), on remarque une forte dégradation de l'amidon par les isolats de moisissures (Ms.M et Ms.N ;Ms.V et Ms.B) ce qui montrent une forte activité amylolytique.

En effet, en présence de Lugol, l'amidon se combine avec lui et donne un complexe de coloration bleu foncé plus ou moins intense selon sa concentration. Preuve de la dégradation de l'amidon par l' α -amylase, les souches à halo clair sur le pourtour, sont considérées comme productrices d' α -amylases (Tableau 15et 16) (Figure 29 Et 30).

Par exemple la souche *Penicillium.Spse* distingue par une activité amylolytique élevée avec une zone d'hydrolyse de diamètre mesuré à 10 mm. Par ailleurs, plusieurs espèces du genre *Penicillium* telles que *P.fellutanumet,P. notatum* sont productrices d' α -amylase, comme a été montré par les études de Kathiresan et Mannivanan(2006) ; Ertan et Balkan (2007).

4.2 Mise en évidence de l'activité cellulotique

Les résultats d'étude de l'activité cellulotique des isolats de levures et moisissures isolés à partir de l'échantillon de sol est étudié sur un milieu gélosé à cellulose après l'ajoute une solution aqueuse de Rouge Congo à 1% suivie d'une solution de Na Cl. La dégradation ce traduit par la formation d'une zone transparente autour des colonies, ce qui indique la dégradation de la cellulose (Figure 31), (Figure 32).



Figure 31 Mise en évidence de l'activité cellulolytique de levure

D'après Le **Tableau15** et La **Figure 31**, on remarque que les isolats de levures (SS4, SS5, SS6) étudiés possèdent une forte activité cellulolytique, par contre une très faible activité a été détectée pour les isolats SS3et SS1. Aucune activité n'a été détectée pour l'isolat SS2 Par contre les résultats obtenir par l'étude de (**Arrouf et Laiche 2021**) l'activité cellulolytique des levures isolées à partir de trois échantillons étudiés (1,2 et 3) ne montrent pas une activité cellulolytique.

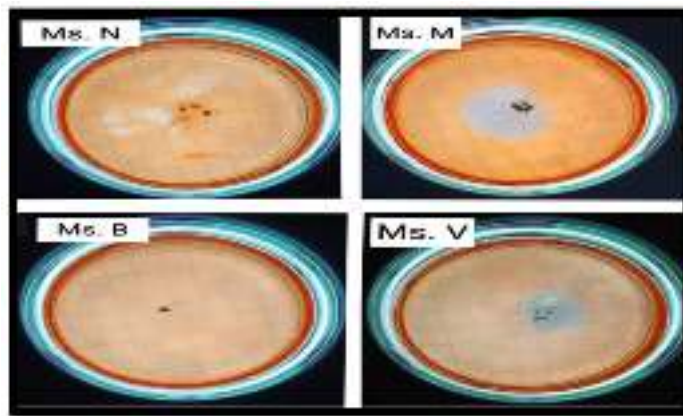


Figure 32 Mise en évidence de l'activité cellulotique des moisissures

En ce qui concerne les isolats des moisissures, on remarque une forte dégradation de la cellulose par les isolats (Ms.M et Ms.V).Ce résultat est similaire avec les resultats obtenus par létude de(**Arrouf et Laiche 2021**). En effet, les champignons aérobies stricts ont un équipement enzymatique leur permettant d'hydrolyser les polysaccharides des parois cellulaires végétales (**Carlileet al. 1997**). De plus, la capacité à dégrader la cellulose en aérobiose est largement répandue chez les ascomycètes et les basidiomycètes (**Lechien, 2009**).

Après le test, l'observation d'une zone claire apparente concerne les isolats de moisissures indique présente l'activité cellulolytiques permet de mettre en évidence la dégradation de la cellulose ainsi on a constaté l'absence d'une zone d'hydrolyse apparente autour de la colonie

Ms.N et Ms .B capable lié à la quantité des enzymes extracellulaires libérées par les moisissures testées.

4.3 Mise en évidence de l'activité protéolytique

Les résultats d'étude de l'activité protéolytique des isolats de levures et de moisissures isolés à partir de l'échantillon de sol étudié sur le milieu gélose à gélatine après l'ajoute une solution de chlorure de mercure permet de mettre en évidence la dégradation de la gélatine qui se traduit par la présence d'une auréole claire autour des colonies.(Figure 33),(Figure 34).



Figure 33 Mise en évidence de l'activité protéolytique des levures.

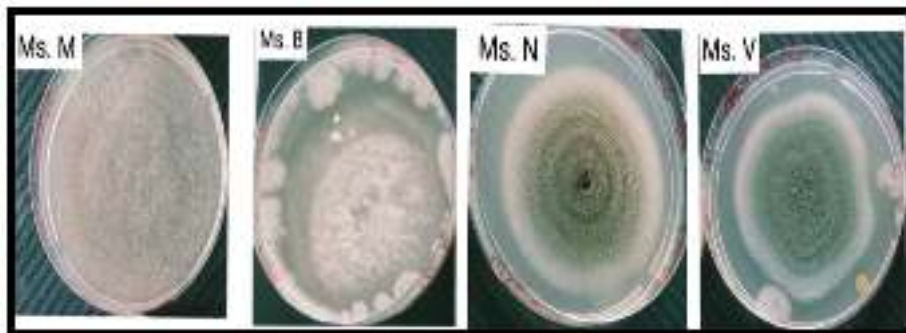


Figure 34 Mise en évidence de l'activité protéolytique des moisissures.

Les isolats de levures et de moisissures sélectionnés dans cette étude ne montrent pas une activité protéolytique on discute ce résultat par l'incapacité de ces dernier (levures ; moisissures) de dégradation de la gélatine (Figure 33 Et Figure 34).Ce résultat s'accorde avec celle de **Geraldine et al.(1981)**.

4.4 L'activité enzymatique de tyrosinase

Les résultats d'étude de l'activité **tyrosinase** des isolats de levures et de moisissures isolés à partir de l'échantillon du sol étudié sur le milieu gélose à tyrosine sont présentés dans les (Figure 35), (Figure 36).

La dégradation de la tyrosine se manifeste par une auréole marron ou noire autour des colonies. Aucune activité n'a été détecté que ce soit pour les isolats de levures ou des moisissures étudiés pour ce test (**Figure 35, 36**), par contre aux travaux de **Roy et al. (2014)**.



Figure 35 Mise en évidence de l'activité de tyrosine des levures.

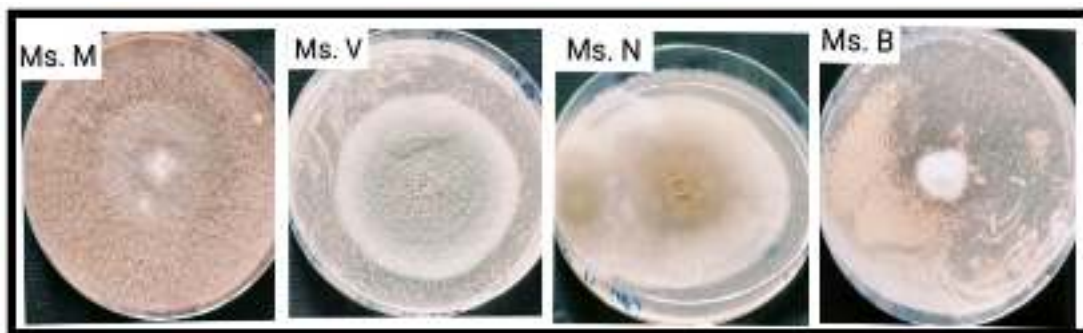


Figure 36 Mise en évidence de l'activité de tyrosine des moisissures

Les isolats des levures et des moisissures non dégradants pas la tyrosine cette résultats montre que ces isolats (levures et moisissures) ne sont pas dotés cette activité enzymatique.

L'activité enzymatique de lipasique

Les résultats d'étude de l'activité lipasique des isolats de levures et de moisissures isolés à partir de l'échantillon de sol étudié sur le milieu Sierra additionné de tween 80. Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo opaque sans l'ajout d'aucun réactif (**Figure 37**) (**Figure 38**).Aucune activité lipasique été détecté pour les isolats de levures et des moisissures.



Figure 37 Mise en évidence de l'activité de lipase des levures.



Figure 38 Mise en évidence de l'activité de lipase des isolats des moisissures.

Les isolats des levures et des moisissures sauf MS.B non dégradants pas le lipase par cette résultats montre que ces isolats (levures et moisissures) ne sont pas dotés cette activité enzymatique (la dégradation de lipase) par contre les moisissures Ms.B fait une dégradation de lipase.

En fin d'après notre étude des différents activités enzymatiques (activité amylolytique l'activité protéolytique l'activité cellulosique l'activité lipidique) nous avons conclu qu'il existe des isolats des levures et des isolats des moisissures obtenu après l'isolement fait une ou plusieurs activité enzymatique comme il ya des isolats ne fait pas une activité enzymatique

Conclusion Générale

Et Perspectives

Le sol est l'un des plus importants réservoirs de biodiversité de notre planète. On estime qu'un gramme de sol abrite plusieurs milliards de bactéries et champignons, des levures, avec plus de 1000 espèces différentes (**Curtis et Sloan, 2005**).

Le sol occupe également une position centrale dans le fonctionnement de notre système planétaire. A l'interface des quatre autres grands milieux naturels (lithosphère, hydrosphère, atmosphère et biosphère).

Ainsi, l'objectif de notre travail est l'étude de l'impact des eaux d'irrigations sur la diversité microbienne du sol.

Le prélèvement d'un échantillon de sol est une opération délicate, l'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques de sol.

Un échantillon de sol a été prélevé à partir de Sol irrigué par les eaux d'Oued Meskiana avant déversement des eaux usées, durant le mois d'avril 2022.

Afin d'isoler des souches des levures et des moisissures, de mettre en évidence leurs activités enzymatiques.

La première partie de ce travail est consacrée à l'isolement et purification des souches levuriennes et des moisissures qui contiennent de quelque activité enzymatique.

De notre étude on étudiées Cinq activités enzymatique :

1. Recherche de l'amylase.
2. Recherche de la gélatine.
3. Recherche de lipase.
4. Recherche de l-tyrosine.
5. Recherche de cellulose.

Cette étude de la mise en évidence et la production des enzymes hydrolases de souche levuriennes et moisissures a donné des résultats très encourageants qui devront être complétés par les Perspectives suivantes :

- une identification moléculaire des souches obtenues à partir de l'isolement.
- Optimisation des paramètres de production des enzymes: pH du milieu, et nature de l'agent humidifiant.
- Purification recommandée des enzymes pour une éventuelle utilisation en industrie alimentaire ou pharmaceutique.

Références Bibliographique

A

- **Aguillar G. & Huitron C. (1990).** Constitutive exopectinase produced by *Aspergillus* sp. CH-Y-1043 on different carbon sources. *Biotechnology Letters* 12, P: 655-660.
- **Alkorta I., Garbisu C., Llama M.J., Serra J.L. (1998).** Industrial applications of pectic enzymes: A review. *Proc. Biochem.* 33 (1), P: 21-28.
- **Arasu, valan, M., Duraipandiyan, V., Agastina, p. Ignacimuthu, S. (2009)** In vitro antimicrobial Activity of levures. ERI-3, Isolated from western Ghats rock soil (India). *Journal de Mycologie Médicale*: p 22-28.
- **Atlas K. (1992).** Fonctionnement microbiologique des sols oasiens. Cas de quelques sols de la région de ouargla. Thèse de doctorat, université kasdiMerbah (Ourgla). P. 216.

B

- **Boiron, P (1996).** Organisation ET biologie des champignons. Edition Nathan. P : 13-19-69-79.
- **Bèguin P., Aubert J P. (1994).** The biological degradation of cellulose, *fems, microbiol. Rev.* 13, P: 25-58.
- **Buelon A .Colonna P et Leloup V. (1990).** Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Industries Alimentaires et Agricoles.* 6, P: 515-532.
- **Berry D . R and Paterson A.(1990).** Enzymes in food industry In: Sucking C.J. (éd.), *Enzyme chemistry impact and application.* Editions chapman and hall London, 2nd edition. P: 306-351.
- **Bhat MK (2000).** Cellulase and related enzymes. In *Biotechnology Advances* 18: 355-383
- **Bourguignon O., EL-Tarabily, k., ghisalber, E et Sivasithamparam, K(2008).** Tsolement des moisissures à partir de deux échantillons de Sol et la mise en évidence de doctorat, université des Frères Mentourir (Constantine) .p. 220.

C

- **Calvet B, (2003).** Les matière organiques du sol. Edition TEC et DOC. P. 417.
- **Cao J., Zheng L., Chen S. (1992).** Screening of pectinase producer from alkalophilic bacteria and study on its potential application in degumming of rammie. *Enz. Microbiol. Technol.* 14, P: 1013-1016.
- **Carlile M.J., Watkinson S.C. (1997).** The fungi, Academie press , New york, N.Y.p.p: 269-275.

- **Chacraborty,S.,Khopade,A.,Biao,Jian,W.,Liu,X.,et al.,(2011)** Characterization and stability studies on surfactant,detergent and oxydant stable α -amylase from marine haloalkaliphilic Saccharopolyspora sp.A9.J.Mol.Cat.B:Enz.68(1),52-58.
- **Chacraborty,S.,Khopade,A.,Kokarea,C.,Mahadika,K.andChopadeb,B.(2009)**Isolation and characterization of novel α -amylase marine Streptomyces sp.D1.J.Mol.Cat.B:ENZ.58,17-23.

D

- **Dijigal., Brenner, D.J., Holt, J. G., Krieg, N. R., Mulder, J. W., pfening, N., Sneath, p.H. (2003).** In Bergey's Manual of systematic Bactériologie, Williams. Eds 4: 2333-2648.

F

- **Favela-Torres E., Volke-Sepúlveda T. &Vniegra-Gonzalez G. (2006).** Production of hydrolytic polymerizing pectinases. Food Technol. Biotechnol., 44(2), P: 221-227.
- **Fogarty (W.M.), Kelly (C.T.). (1980).** Amylase, amyloglucosidase and related glucanases. In Rose (A.H.) Ed. Economic microbiology, microbial enzymes and bioconversion. London: Academic Press, Vol. 5, P: 115-170
- **Frontier E., pichod v.(1995).** Les Bacteries du Sol. Edition Tec rt doc, Paris(France). p.p. 1266.

G

- **Gainvors, A. &Belarbi, A. (1995).** Detection methods for polygalacturonase producing strains of Saccharomyces cerevisiae. Yeast 10, P: 1311-1319
- **Ganesh, K., al. (2010),** Etude de quelques activités biologiques des souches d'actinobactéries isolées su Sol de hammansalhiné et Hafiane laid et l'eau de Sebkhá El-MahmalKhenchela. Master en Microbiologie Appliquée , université Abbes lag hrou (Khenchela).

H

- **Heijden M., Mcnicol J.W., Numan., Graysoton S., Millard p., prosser J.I. (2008).**Variabilité spatiale de l'activité microbienne du sol sous culture de palmier à ouargla. Master en science Biologique, université KasdiMerbah (ouargla).

J

- **JangHD and Chang KS (2005).** “Thermostable cellulases from Streptomyces sp: scale-up production in a 50-l fermenter,” *Biotechnology Letters*, 27(4), pp. 239–242
- **Jayani R.S., Saxena S. & Gupta R. (2005).** Microbial pectinolytic enzymes: a review. Protopectinase: production, properties, and applications. *Adv Appl Microbiol* 39, P:213–294.

K

- **Kader A.J., Omar O., and Feng L.S. (1999).** Isolation of cellulolytic fungi from the Bario Highlands, Sarawak. University of Kebangsaan, Malaysia. *Review of Biodiversity and Environmental Conservation*
- **Karmakar M. et Ray R.R. (2011).** Tendances actuelles de la recherche et de l'application
- **Kashyap D.R., Vohra P.K., Chopra S. & Tewari R., (2001).** Applications of pectinase in the commercial sector: a review. *Bioresour. Technol.*, 77, p: 215-227.
- **Koka N., Dijkstra B.W., Colson C., Heuvel M. (2002).** Bacterial Lipases. *FEMS Microbiology Reviews*. 15 :29-633 :510-515.
- **Korish M. (2003).** Production, purification, properties and application of the cellulose from a wild type strain of a yeast isolate. Faculty of biology, Johannes Gutenberg-University, Mainz, Germany.
- **Kudraya M., Simonenko TR., Miller RC (2010).** Screening et Identification des levures pour la mise en évidence des Activités enzymatiques. thèse de doctorat, université Echahid Hamma La khdar (El oued). p.209.

L

- **Larelle S., Spain L. (2002).** Microbial diversity in soils. In : Eds Buscot F., Varma A., *Microorganisms in soils: Roles in genes and functions*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg. p.p. 195-205.

M

- **Morvan, B. (2010)** Screening et identification des levures pour la mise en évidence des enzymes. Master en biochimie de la nutrition, université des frères Mentouri (Constantine).

N

- **Nakatani H. (1996).** Role of carbon source in the stimulation of multiple attack mechanism of

- **Neuhaus T. (1999).** Etude de la production de la lipase levurienne. Thèse de doctorat, université des Frères Mentourir (Constantine) .p. 209.
- **Nogawa, M., Goto M., Okada H., and MorikawaY. (2001).**L-Sorbosein duces cellulosegenetranscription in the cellulolytic fungus *Trichoderma reesei*. *Curr. Genet.* 38. P:329-334.

P

- **Paul J., R. Farret , p. Girardin, J. L. Rivière, G. Soulas F. (2005).** Les constituants solides du Sol. Edition Tech et Doc, Londres, paris, New yorl. P. 11.

Q

- **Quenea A. (2004).** La microbiologie du sol. Edition SEDE S.P. 291.

R

- **Robert, A., chenu, F.(1992)** variabilité spariale de l'ctivitémicrobsenne du Sol sous culturs de palmier dattier (phoenixdactyliferal) à ouargla. Master en science Agronomique, université KasdiMerbah (ourgla).

S

- **Schamburg D. & Salzman M.G.B.F. (1991).** Cellulase. In:Enzyme Hand book, Vol, IV66(3): 506-5.9414: action on cello-oligosaccharides,Carbohyd.Res.275,P:207-213.
- **Schwimmer S and Balls A.K. (1949).**Isolation and properties of crystalline a-amylase from germinated barley. *J. Biol. Chem.* 179, P: 1063-1074.
- **Scriban R. (1993).** *Trichoderma reesei*exhibitis true revercibility and a high exchange rate on cristalline cellulose. *Biotechnologie.* P: 32-690,4ème édition.
- **Soltaner A.(2003).** Les Microflore du Sol. Edition TEC et DOC. P. 209.

T

- **Tamura and Takeichi K. Y., Otozai, K., Yamasaki, M., Yamazaki, G. H., Ohmura, K. A., Nakayama Y. (1983).** Alpha-amylase genes (amy R2 and amy E+) from an alpha-amylase-hyperproducing *Bacillus subtilis* strain: nucleotide sequences and. molecular cloning *J. Bacteriol.*, 156 (1), P: 327.

V

- **Villard, PariPazur J. H and Marchetti N.T. (1992).**Action patterns of amylolytic enzymes as determined by the [1-14 C] malto-oligosaccharides mapping method. Carbohydr. Res. 227, P: 215-225. Process Biochem., 40, P: 2931-2944.

Z

- **Zinger T.(2009).** Les Protozoaires. Edition TEC et DOC.p. 188. α -amylase. Biopolymers.39 (5), P: 665-669.

Annexes

Annexe I. Composition des milieux de culture utilisés

• Gélose de Gause

➤ KNO ₃	01 g
➤ KH ₂ PO ₄	0.5 g
➤ MgSO ₄	0.5 g
➤ NaCl.....	0.5 g
➤ FeSO ₄	0.01 g
➤ Amidon.....	20 g
➤ Agar.....	30 g
➤ Eau distillée.....	1000 ml

pH=7.

• Gélose à la cellulose

➤ Cellulose.....	0.5 g
➤ NaNO ₃	0.1 g
➤ KHPO ₄	1g
➤ MgSO ₄	0.05 g
➤ Extrait de levure.....	0.05 g
➤ Agar.....	15 g
➤ Eau distillée.....	1000 m

pH=7

• Gélose à la gélatine

➤ Peptone.....	05 g
➤ Extrait de bœuf.....	03 g

- Gélatine04 g
- Agar15g
- Eau distillée1000 ml

pH=7

• **Milieu de Sierra additionné de tween 80**

- Peptone 10 g
- NaCl05 g
- CaCl₂-1H₂O 0.1 g
- Eau distillée 1000 ml
- Agar 18 g
- Tween 80.....10 ml

pH=7.4

• **Gélose à la tyrosine**

- Peptone..... 05 g
- Extrait de viande..... 03 g
- L-tyrosine05 g
- Agar..... 20 g
- Eau distillée 1000 ml

pH=7

• **Gélose Potato Dextrose Agar (P.D. A)**

- Infusât pomme de terre200ml
- Dextrose20g
- Eau distillé1000ml
- Agar.....20g
- pH= 5.4 (Larpent et Larpent – Gourgaud, 1985).

- **Gélose de sabouraud**

- Peptone pancréatique05g
- Peptone trypsique.....05g
- Glucose20g
- Eau distillé1000ml
- Gélose..... 20g
- Ph=6.3 (Iarpen et Iarpen- Gourgaud, 1985)

- **Annexe II. Réactif et colorant**

- **Les solution de lugol**

- Iodure de potassium02g
- Iode métalloide I₂.....01g
- Eau distillé..... 100g

- **La solution de Rongcorrgo**

- Rouge corrgo..... 01g
- Eau distillé.....100g

- **La solution de NaCl**

- NaCl 9g
- L'eau distillée100

Nom : KADDOURI
Prénom : RABAB

Nom :BALLOULI
Prénom : CHAIMA

Nom : FARROUDJ
prénom :MEROUA

Diplôme : Master

Thème : Etude de quelques activités enzymatiques des souches de levures et moisissures isolées d'un échantillon du sol irrigué des eaux usées

Résumé

Notre travail s'est intéressé à l'étude de quelques activités enzymatiques des levures et moisissures isolées à partir de sol irrigué par les eaux usées de l'Oued Meskiana Oum albaoughi.

Ce travail s'intéresse à la mise en évidence des activités hydrolase chez les souches levuriennes et moisissures, pour cela la première partie de ces travaux de recherche a porté sur l'isolement des souches levuriennes et moisissures à partir de sol prélevé.

Les souches ont été d'abord purifiées sur le milieu **Sabouraud pour les levures et PDA pour les moisissures**, avant d'être ensemencées sur des milieux spécifiques pour révéler les différentes activités enzymatiques recherchées. En fait, ces milieux contenaient du **l'amidon, de la cellulose, de la L-tyrosine, de la gélatine, et du tween 80** et ceci pour détecter la production du **l'amylase, la cellulase, la L-tyrosinase, la Gélatinase, et lipase** incubée pendant 3 à 7 jours à 25 à 30°C.

La plupart des souches sélectionnées montrent des résultats positifs, la cellulase et l'amylase sont les enzymes les plus produites par nos souches de levures, cependant la gélatinase et la tyrosinase et la lipase sont les moins répondues pour les levures. Et pour les moisissures l'amylase et la cellulase, la lipase sont les enzymes les plus actifs, tandis que la gélatinase et la tyrosinase ne sont pas produits par les isolats testés.

Ces résultats montrent clairement que ce sol irrigué d'eaux usées représente une source importante de souche possédant un potentiel de production des enzymes doté des applications industrielles.

Mots clés : le sol, activité enzymatique, levure, moisissure.

Devants le Jury :

Présidente : Dr. SEBIHI F. (MCA) Univ. Abbés Laghrour- Khenchela

Examinatrice : Dr. MALEL H. (MCB) Univ. Abbés Laghrour- Khenchela

Encadreur : Dr. LEULMI N. (MCB) Univ. Abbés Laghrour- Khenchela