



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR – KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT : de biologie

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION : Microbiologie et Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

Isolement des souches levuriennes à partir de sol agricole

Présenté par :

BAKHOUCHE Intisar et BERHAIL Hayet

Encadré par :

LABBANI F-ZK

Soutenu le :15. Juin. 2015

Jury de soutenance :

Présidente : Mme CHORFI K. (MAB) Univ. Abbès laghrour-khenchela

Encadreur : Mme LABBANI F-ZK. (MAA) Univ. Abbès laghrour-khenchela

Examinatrice : Mr BOUFENNARA S. (MCB) Univ. Abbès laghrour-khenchela

Année universitaire

2014/2015

REMERCIEMENTS

Notre remerciements les plus sincères s'adressent en premier lieu à notre encadreur Madame LABBANI F.ZK, pour ses conseils judicieux, son jugement critique et son appui tout au long de cette étude .

Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir m'ont énormément marqués. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner ma profonde gratitude.

Toute remerciements s'adressent également à monsieur BOUFENNARA S. pour le grand honneur de le présider le jury .

A MADAME KHADDOUMA A. nous vous remercions d'avoir bien voulu examiner notre travail .

Dédicaces

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu
tout puissant*

À

*Celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années
d'études. Merci pour ton amour et ta confiance totale... À toi très
cher papa.*

À

*Celle qui m'a tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui m'as guidé
dans le droit chemin, toi qui m'as appris que rien n'est impossible... À toi
ma maman.*

À

*Mes chères sœurs: Meriem et Sakina à qui je souhaite tout le bonheur
du monde.*

À

*Mes chers frères: Nacer, Abdelghani et Abdeljalil à qui je souhaite
beaucoup de succès*

À

*Mes chères amies, pour tous les moments que nous avons partagés
Sa sainte miséricorde et t'accueille en son vaste paradis*

*À toute la famille Berrehail pour lesquelles j'éprouve beaucoup
d'affection et de respect*

À Tous ceux que j'aime



Hayet

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Les levures.....	3
1.1. Morphologie et structure des levures.....	3
1.2. Habitat.....	5
1.3. Distribution des levures dans le sol.....	5
1.4. Reproduction des levures.....	6
1.5. Levure et nutrition.....	7
1.5.1. Source de carbone.....	7
1.5.2. Source d'azote.....	7
1.5.3. Oligoéléments et facteurs de croissance.....	8
1.6. Classification et identification des levures.....	9
1.7. Les conditions physicochimiques de croissance.....	12
1.7.1. La température.....	12
1.7.2. Le PH.....	12
1.7.3. La pression osmotique et l'activité d'eau.....	12
1.7.4. l'oxygène.....	13
1.8. Le métabolisme	13
1.9. Technique d'étude des levures	14
1.9.1. Isolement des levures	14
1.9.2. Critères et méthodes d'identification	14
1.9.2.1. Tests morphologiques	14
1.9.2.2. Etude des caractères morphologiques cellulaires	15
1.9.2.3. Caractéristiques biochimiques et physiologiques.....	16
2. Applications des levures en biotechnologie	17
2.1. Boissons alcoolisées.....	17
2.2. Panification	18
2.3. Affinage des fromages	18
2.4. Production de protéines	19
2.5. Production d'alcools industriels	19

2.6. Autres utilisations	19
2.7. Avantage des levures en industrie	20

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

1. Isolement et sélection de souches levuriennes	22
1.1. Echantillonnage	22
1.2. Détermination du pH des échantillons.....	23
1.3. Isolement	23
1.4. Conservation des souches isolées	25
2. Identification du genre des souches levuriennes	25
2.1. Etude des caractères cultureux	25
2.2. Etude des caractères morphologiques cellulaires	25
2.3. Etude des caractères biochimiques et physiologiques	26

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Isolement des souches levuriennes	28
2. Identification des souches isolées	30
2.1. Caractères cultureux	30
2.1.1. Sur milieu solide	30
2.1.2. En milieu liquide	32
2.2. Caractères morphologiques	33
2.2.1. Morphologie cellulaire végétative	33
2.2.2. Formation de mycélium	34
2.2.3. Test de sporulation	35
2.3. Tests biochimiques	36
2.3.1. Fermentation des sucres.....	36
2.3.2. Assimilation des substances azotées	36

CONCLUSION GENERALE	39
----------------------------------	-----------

RESUMES	40
----------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	43
--	-----------

ANNEXES	49
----------------------	-----------

Liste des abréviations

C° : Degré Celsius

CE : conductivité électriques

Meq : Manufacturiers et exportateurs du Québec

pH: potentiel hydrogène

POU : protéine d'origine unicellulaire

Ppm : partie par million

S : souche

YMA: Yeast Malt Agar

YPGA: Yeast Peptone Glucose

Liste des figures

Figure 1.1: morphologie et structure des levures (Bonaly R. (1991)).....	4
Figure 1.2: Cycle de reproduction de la levure (Leclerc <i>et al.</i> , 1995).....	6
Figure 1.3: Division d'une cellule de levure par bourgeonnement.....	7
(Madigan et Martinko, 2007)	
Figure 1.4 : Filamentisation des levures (Guiraud, 1998)	15
Figure 1.5 : les boissons alcoolisées fabriqués par les levures.....	18
Figure 1.6: Panification par les levures.....	18
Figure 1.7: la fabrication des fromages par les levures.....	19
Figure 2.1: Image prise par satellite (2015).....	22
Figure 2.2 : Préparation des solutions.....	23
Figure 2.3 : Préparation de la série des dilutions décimales.....	24
Figure 2.4 : Ensemencement de 0.1 ml de culture en stries transversales	24
à la surface des milieux YMA	
Figure 2.5 : les boites après 3 jours d'incubation à 25°C	25
Figure 2.6 : Test de fermentation des sucres	27

Liste des tableaux

Tableau 1.1: Importance de certains oligoéléments et vitamines pour la croissance des levures.....	8
Tableau 1.2: Classification des ascomycètes et basidiomycètes	9
Tableau 1.3: Production et utilisation de certaines enzymes levuriennes.....	20
Tableau 3.1: Isolement des levures à partir des échantillons prélevés de sol.....	28
Tableau 3.2: Analyse physico-chimique du sol.....	29
Tableau 3.3: Etude des caractères cultureux sur milieu solide YPG Agar.....	30
Tableau 3.4: Etude des caractères cultureux sur milieu liquide YPG.....	32
Tableau 3.5: Etude des caractères morphologiques.....	33
Tableau 3.6: Résultats du test de filamentisation.....	34
Tableau 3.7: Résultats du test de sporulation.....	35
Tableau 3.8: Résultats du test de fermentation des sucres.....	36
Tableau 3.9 : Test d'assimilation d'azote par les souches S1, S2, S3, S4.....	37

Introduction générale

Un grand nombre de substances que nous utilisons chaque jour, résulte de l'exploitation des microorganismes dont l'origine remonte à la plus haute antiquité. Cependant, il a fallu attendre les découvertes de Pasteur pour voir s'établir les connaissances précises qui ont permis la naissance de l'industrie des fermentations. Le développement de cette nouvelle industrie a donné une preuve éclatante du rôle utile des microorganismes (Simon et Meunier, 1970).

Dans ce contexte, les levures ont occupé une place primordiale dans des industries agro-alimentaires (brasserie, cidrerie, vinification et fromagerie). Ce sont des microorganismes eucaryotes et unicellulaires ayant des capacités à se multiplier rapidement car elles sont moins exigeantes en nutriments. Elles sont facilement mises en œuvre dans d'autres exploitations (culture, recherche et applications industrielles) par rapport aux procaryotes (Pol, 1996) et possèdent un capital génétique qui subit peu de mutations. Actuellement, ces eucaryotes, sont mis à contribution dans l'élaboration de biomédicaments comme l'insuline, les interférons, le vaccin de l'hépatite B, l'hémoglobine et la transferrine etc. (Site internet 1).

Par ailleurs, Leur utilisation dans l'alimentation a fait en sorte que les levures sont globalement plus connues pour leur innocuité et leur efficacité en fermentation industrielles que d'autres microorganismes (Lebrecque, 2003). Elles ne sont pas attaquées par des virus (phages) et par surcroît, elles sont facilement récupérables du a leur grosseur. A l'heure actuelle, les levures constituent un matériel expérimental de choix en raison de leur double état de micro-organismes et d'eucaryote (Pol, 1996).

Un examen sur l'écologie des levures du sol serait incomplet sans une brève discussion sur leur habitat, dans lequel ces champignons coexistent avec d'autres organismes. Les sols sont constitués de particules minérales et organiques formant des agrégats de différentes tailles hétérogènes, qui contiennent un réseau complexe de pores (Gray and Williams 1979; Young and Crawford 2004). Il est communément connu que les levures se produisent dans une large gamme de types de sol (Carmo- Sousa 1969; Phaff and Starmer 1987; Spencer and Spencer 1997; Lachance and Starmer 1998).

Dans cette optique, le présent travail se focalise sur l'isolement des souches de levures à partir d'un sol agricole et leur pré-identification jusqu'au genre par la méthode conventionnelle (caractéristiques morphologique, biochimique et physiologique).

- Le premier chapitre présente une étude bibliographique, rapporte des données générales sur les levures à l'échelle structurale et physiologique.

-Le deuxième chapitre est consacré aux matériels et aux protocoles expérimentaux mis en place pour la réalisation de ce travail de thèse.

-Le troisième chapitre présente et discute l'ensemble des résultats obtenus à la suite de cette étude.

Nous terminons avec une conclusion générale.

Les levures sont les premiers micro-organismes utilisées par l'homme depuis des millénaires, en particulier dans la fabrication des boissons alcoolisées et de pain par fermentation (Bouix et Leveau, 1991 ; Pol, 1996). Elles sont également les premiers micro-organismes à être observés au microscope par Antonie Van Leeuwenhoek en 1680 qui les a dessinées. Ce n'est qu'avec les travaux de Pasteur (1866-1876) que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a été mis en évidence. A la même époque, la levure fut à l'origine du développement de la biochimie avec notamment les travaux de Büchner. A l'heure actuelle, les levures constituent un matériel expérimental de choix en raison de leur double état de micro-organismes et d'eucaryotes (Pol, 1996).

1. Les levures

Le mot levure, selon Phaff et al, (1968), provient du mot latin « levare » qui se traduit par lever. Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'aptitude de ces micro-organismes à produire de CO₂ pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de Fermentation (Oteng-Gyang, 1984). Les levures peuvent être définies comme eucaryotes microscopiques. Elles sont des hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leur caractère unicellulaire et l'absence de vrai mycélium (au moins dans la plus grande partie de leur cycle Biologique) (Guiraud, 1998).

1.1. Morphologie et structure des levures

Les levures sont des cellules eucaryotes. Elles présentent une structure plus complexe que celle des bactéries notamment par la présence d'un noyau, de mitochondrie, d'un appareil de Golgi et de plus d'un chromosome (*saccharomyces cerevisiae* a 16 chromosomes) (Figure1.1) (Labrecque, 2003). Les cellules végétatives sont généralement ovoïdes ou sphériques, mais il existe d'autres formes spécifiques : triangulaires, ogivales, en forme de citron ou même en forme de bouteille. Leur taille cellulaire varie de quelques microns jusqu'à 25 à 30 microns. Certaines peuvent former des associations cellulaires ou se présenter sous forme filamenteuse à un certain stade de leur vie (Bouix et Leveau, 1991).

Les colonies sont, en général, blanches (très rarement roses ou Rouges) et régulières (Guiraud, 1998).

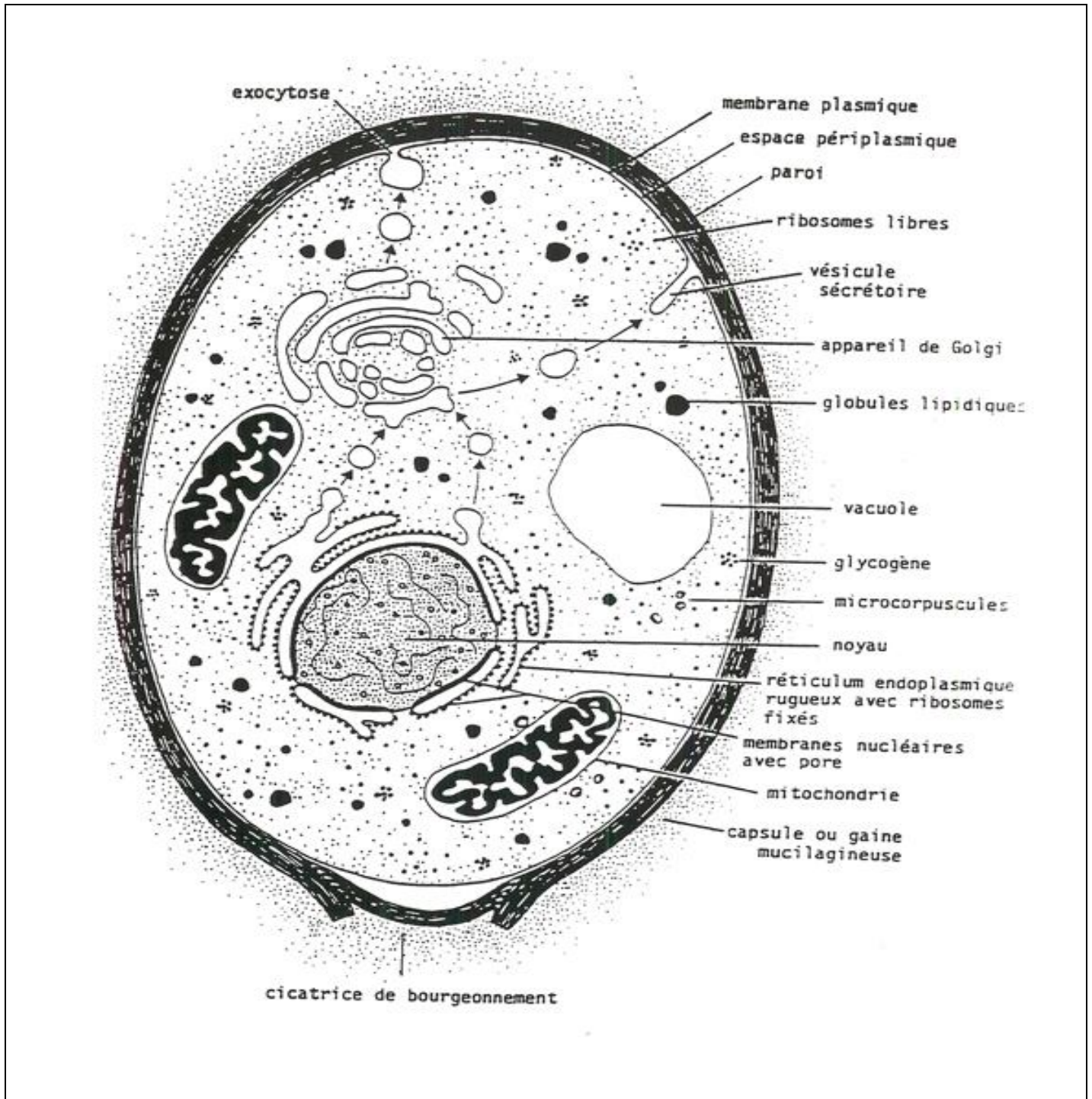


Figure 1.1. morphologie et structure des levures Bonaly R. (1991).

1.2. Habitats

Dans la nature, les levures se trouvent principalement sur les végétaux riches en sucres directement assimilables (Bouix et Leveau, 1991). D'autres, se développent au niveau des eaux douces et profondes associées au plancton (Van Uden et Fell, 1968 et Ahearn, 1973). Par ailleurs, une large variété de levures vit dans le sol, plus ou moins représentative de la flore levuriennes associée aux plantes, champignons et animaux vivants à la surface. Néanmoins, pour d'autres espèces, le sol demeure leur seul habitat (Phaff et Starmer, 1987).

1.3. Distribution des levures dans le sol

Il est communément connu que les levures se produisent dans une large gamme de types de sol à partir d'une grande diversité de zones géographiques allant des zones arctiques vers les tropiques (Carmo- Sousa 1969; Phaff et Starmer 1987; Spencer et Spencer 1997; Lachance et Starmer 1998), Environ 25-50% des levures dans les sols humides riches en nutriments se sont avérés capables de fermenter les hydrates de carbone. Plus de levures sont habituellement trouvés dans le sol sous les plantes portant des fruits riches en glucides, car celui-ci peut agir comme une levure inoculation lum riche en nutriments lorsque le fruit gâté est déposé dans le sol (Phaff et al. 1966), Plus récemment, il a été démontré que *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces paradoxus* peuvent être isolées à partir de sols de chêne associée en utilisant un milieu de culture d'enrichissement (Sniegowski et al., 2002). Autres espèces de levures, appartenant aux genres *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Lipomyces* et *Schizoblastosporion* ont été maintes fois isolées de divers sols, indiquant que les niches écologiques de ces champignons présents dans le sol (Phaff et Starmer 1987). La capacité de ces levures du sol autochtones de survivre dans cet habitat a été attribuée à un certain nombre de traits. Par exemple, la plupart de ces levures possèdent un large spectre d'activités métaboliques qui leur permettent d'assimiler les produits d'hydrolyse des matières végétales, produites par les moisissures et les procaryotes. *Lipomyces* et *Williopsis* sont capables de produire des spores résistantes. Certains, comme *Lipomyces*, *Cryptococcus* et *Rhodotorula* produire des capsules exopolymériques et il a été suggéré que ce serait de leur permettre de mieux survivre dans des habitats qui sont pauvres en éléments nutritifs disponibles. Il a été constaté que les sols semi-arides, à

faible teneur en nutriments et l'humidité, étaient principalement peuplés par cryptocoques et liés levures basidiomycètes (Spencer et Spencer, 1997).

1.4. Reproduction des levures

Les levures ont un mode de multiplication bien spécial. Elles se reproduisent aussi bien par un cycle asexué (végétatif) que par un cycle sexué (sporulation) en fonction des conditions favorables ou défavorables du milieu (Figure 1.2) (Larpent et Larpent-Gourgau, 1997). De plus, les populations des levures connaissent un cycle de vie complexe, dans lequel on trouve alternativement des cellules haploïdes et des cellules diploïdes. Pour la plupart des levures, la reproduction asexuée est la forme majeure de multiplication (Bonaly, 1991). Elle s'effectue par bourgeonnement ou par fission (scissiparité) à partir d'une cellule mère (Figure 1.3). La reproduction sexuée s'effectue par conjugaison des deux cellules qui donnent naissance à un zygote.

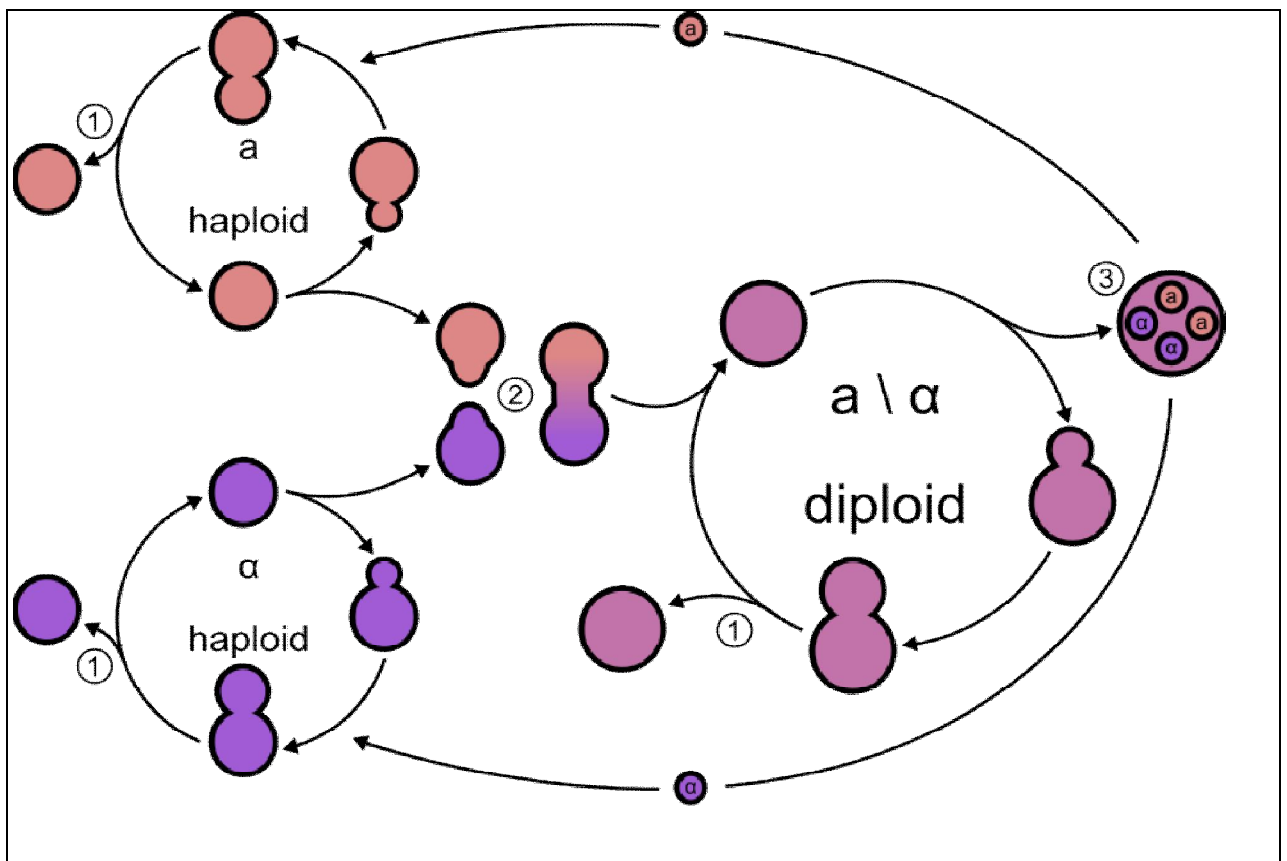


Figure 1.2. Cycle de reproduction de la levure (Leclerc *et al.*, 1995)

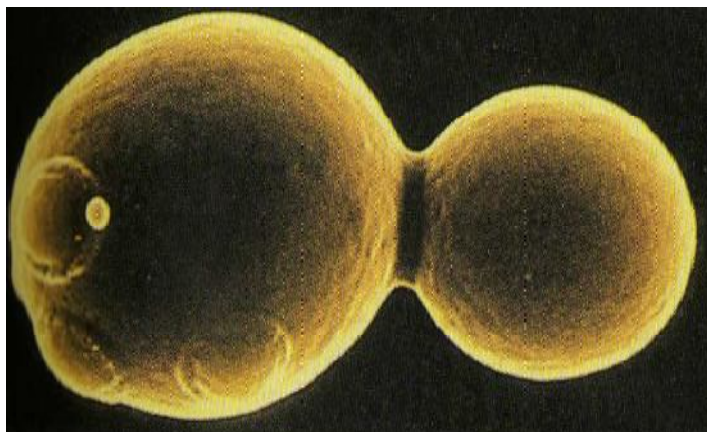


Figure1.3. Division d'une cellule de levure par bourgeonnement (Madigan et Martinko, 2007)

1.5. Levure et nutrition

Les levures présentent une diversité métabolique dans la façon de production et de consommation de l'énergie des substrats dégradés. La connaissance des mécanismes de régulation fondamentaux est non seulement valable dans la compréhension des principes généraux du métabolisme, mais également elle est d'une grande importance en biotechnologie (Ostergaard et *al.*, 2000).

1.5.1. Source de carbone

Il est maintenant bien établi que la plupart des levures utilisent des sucres comme source principale de carbone et par conséquent d'énergie. D'autres levures particulières utilisent des sources de carbone non conventionnelles (éthanol, glycérol) (Barnett, 1976 et Tamaki et Hama, 1982). Cependant, leur croissance sur des substrats non-glucidiques les oblige à synthétiser des sucres exigés pour la biosynthèse macromoléculaire, en particulier celle des polysaccharides complexes (Walker et *al.*, 1997).

1.5.2. Source d'azote

Comme les levures ne peuvent pas fixer l'azote libre, elles dépendent de ses formes oxydées ou réduites pour la synthèse des composés azotés structuraux et fonctionnels de la cellule (Babjeva et *al.*, 1977). La plupart des levures sont capables d'assimiler différentes sources d'azote organiques et inorganiques dans la biosynthèse des acides aminés, des protéines, des acides nucléiques et des vitamines (Guiraud, 1998). L'assimilation des ions d'ammonium (fournis dans le milieu ou dérivés du catabolisme d'autres composés azotés) est largement répandue chez les levures. Cependant, d'autres

espèces levuriennes se caractérisent par une capacité à utiliser les nitrates et d'autres composés, comme source d'azote (Walker et *al.*, 1997)

1.5.3. Oligoéléments et facteurs de croissance

Comme la plupart des microorganismes, les levures ont besoin d'éléments nutritifs pour assurer un développement adéquat. Il s'agit de sels minéraux et d'oligoéléments nécessaires à de très faibles concentrations (Larpen et Sanglier, 1992 et Boiron, 1996). De plus, d'autres facteurs leur sont essentiels, comme les vitamines (la biotine, la thiamine et l'acide pantothénique). Ces facteurs interviennent lors des réactions enzymatiques, comme éléments constitutifs de coenzymes variés (Rivière, 1975 et Botton et *al.*, 1990).

Tableau 1.1. Importance de certains oligoéléments et vitamines pour la croissance des levures (Walker, 2000 ; Lourens et Reid, 2002).

Oligoéléments et facteurs de croissance	Rôle joué
Magnésium	- Stabilité et perméabilité des membranes. - Protection de la cellule contre les facteurs négatifs, tels que le choc thermique et la toxicité de l'éthanol.
Manganèse	- Il appuie la synthèse de la thiamine et des protéines, ce qui contribue à l'augmentation de la biomasse.
Zinc	- Cofacteurs pour certaines enzymes. - Contribution à la synthèse de la riboflavine et certaines protéines.
Biotine	- Essentielle dans les réactions de carboxylation et de décarboxylation. - Production des alcools et des esters.
Thiamine	- Synthèse de l'isoleucine et de la valine
Acide pantothénique	- Synthèse de l'Acétyl -COA. - Production des acides gras et des acides aminés.

1.6. Classification et identification des levures

Tableau 1.2. Classification des ascomycetes et basidiomycetes (Kurtzman & Fell (2006) et Suh and co-workers (2006)).

Ascomycetes	Basidiomycetes
<i>Schizosaccharomycetes</i>	<i>Hymenomycetes</i>
<i>Schizosaccharomycetales</i>	<i>Cystofilobasidiales</i>
<i>Schizosaccharomycetaceae</i>	<i>Cystofilobasidiaceae</i>
<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>Cystofilobasidium</i>
<i>Saccharomycetes</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>Saccharomycetales</i>	<i>Guehomyces</i>
<i>Ascoideaceae</i>	<i>Itersonilia</i>
<i>Ascoidea</i>	<i>Mrakia</i>
<i>Cephaloascaceae</i>	<i>Phaffia</i>
<i>Cephaloascus</i>	<i>Tausonia</i>
<i>Dipodascaceae</i>	<i>Udeniomyces</i>
<i>Dipodascus</i>	<i>Xanthophyllomyces</i>
<i>Galactomyces</i>	<i>Filobasidiales</i>
<i>Geotrichum</i>	<i>Filobasidiaceae</i>
<i>Endomycetaceae</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>Endomyces</i>	<i>Filobasidium</i>
<i>Helicogonium</i>	<i>Trichosporonales</i>
<i>Myriogonium</i>	<i>Trichosporonaceae</i>
<i>Phialoascus</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>Eremotheciaceae</i>	<i>Cryptotrichosporon</i>
<i>Coccidiascus</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Eremothecium</i>	<i>Tremellales</i>
<i>Lipomycetaceae</i>	<i>Tremellaceae</i>
<i>Babjevia</i>	<i>Auriculibuller</i>
<i>Dipodascopsis</i>	<i>Bullera</i>
<i>Lipomyces</i>	<i>Bulleribasidium</i>
<i>Myxozyma</i>	<i>Bulleromyces</i>
<i>Zygozoma</i>	<i>Cryptococcus</i>

<u>Metschnikowiaceae</u>	<i>Cuniculitrema</i>
<i>Clavispora</i>	<i>Dioszegia</i>
<i>Metschnikowia</i>	<i>Fellomyces</i>
<u>Pichiaceae</u>	<i>Filobasidiella</i>
<i>Brettanomyces</i>	<i>Holtermannia</i>
<i>Dekkera</i>	<i>Kockovaella</i>
<i>Peterozyma</i>	<i>Sirobasidium</i>
<i>Pichia</i>	<i>Sterigmatosporidium</i>
<i>Saturnispora</i>	<i>Tremella</i>
<u>Saccharomycetaceae</u>	<i>Trimorphomyces</i>
<i>Kazachstania</i>	<i>Tsuchiyaea</i>
<i>Khuyveromyces</i>	<i>Uredinomyces</i>
<i>Lachancea</i>	<i>Agaricostilbales</i>
<i>Nakaseomyces</i>	<u><i>Agaricostilbaceae</i></u>
<i>Naumovia</i>	<i>Agaricostilbum</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>Bensingtonia</i>
<i>Tetrapisispora</i>	<i>Chionosphaera</i>
<i>Torulaspora</i>	<i>Kondoa</i>
<i>Vanderwaltozyma</i>	<i>Kurtzmanomyces</i>
<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Sporobolomyces</i>
<i>Zygotorulaspora</i>	<i>Sterigmatomyces</i>
<u>Saccharomycodaceae</u>	<i>Microbotryales</i>
<i>Hanseniaspora</i>	<u><i>Microbotryaceae</i></u>
<i>Kloeckera</i>	<i>Bensingtonia</i>
<i>Saccharomycodes</i>	<i>Curvibasidium</i>
<u>Saccharomycopsidaceae</u>	<i>Leucosporidiella</i>
<i>Saccharomycopsis</i>	<i>Leucosporidium</i>
<u>Trichomonascaceae</u>	<i>Mastigobasidium</i>
<i>Spencermartinsiella</i>	<i>Reniforma</i>
<i>Trichomonascus</i>	<i>Rhodosporidium</i>
<i>Wickerhamiella</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Saccharomycetales incertae sedis</i>	<i>Sporobolomyces</i>
<i>Aciculoconidium</i>	<i>Naohideale</i>

<i>Ambrosiozyma</i>	<i>Bannoa</i>
<i>Arxula</i>	<i>Erythrobasidium</i>
<i>Ascobotryozyma</i>	<i>Naohidea</i>
<i>Babjeviella</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Barnettozyma</i>	<i>Sakaguchia</i>
<i>Blastobotrys</i>	<i>Sporobolomyces</i>
<i>Botryozyma</i>	<i>Sporidiobolales</i>
<i>Candida</i>	<u><i>Sporidiobolaceae</i></u>
<i>Citeromyces</i>	<i>Rhodospodium</i>
<i>Cyniclomyces</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Debaryomyces</i>	<i>Sporidiobolus</i>
<i>Hyphopichia</i>	<i>Ustilaginomycetes</i>
<i>Kodamaea</i>	<i>Malassezia</i>
<i>Komagataella</i>	<i>Pseudozyma</i>
<i>Kuraishia</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Lodderomyces</i>	<i>Sympodiomyopsis</i>
<i>Lindnera</i>	<i>Tilletiopsis</i>
<i>Macrorhabdus</i>	
<i>Meyerozyma</i>	
<i>Millerozyma</i>	
<i>Nadsonia</i>	
<i>Nakazawaea</i>	
<i>Ogataea</i>	
<i>Pachysolen</i>	
<i>Phaffomyces</i>	
<i>Priceomyces</i>	
<i>Scheffersomyces</i>	
<i>Schizoblastosporion</i>	
<i>Schwanniomyces</i>	
<i>Sporopachydermia</i>	
<i>Starmerella</i>	
<i>Starmera</i>	
<i>Sympodiomyces</i>	

<i>Trigonopsis</i> <i>Wickerhamia</i> <i>Wickerhamomyces</i> <i>Yamadazyma</i> <i>Yarrowia</i> <i>Zygoascus</i>	
--	--

1.7. Les conditions physicochimiques de croissance

1.7.1. La température

La température courante de culture des levures se situe entre 25 et 30°C, pour assurer la croissance adéquate de la plupart des levures. Toutefois, ces températures ne sont pas rigoureusement les températures optimales de croissance que les levures trouvent dans leurs habitats naturels. (Leveau et Bouix, 1993). En effet, la température maximale de croissance peut se situer entre 35°C et 45°C. D'autres levures peuvent se développer à 0°C (Oteng-Gyang, 1984) ou à plus de 50°C pour *Candida Slooffii*, *Saccharomyces telluris* et *Torulopsis bovina*. (Bourgeois *et al.*, 1988 et Leveau et Bouix, 1993).

1.7.2. Le pH

Les levures ont tendance à coloniser des environnements acides et par leurs activités métaboliques (la respiration et la sécrétion d'acide organique) acidifiant encore plus le milieu. leur croissance optimale se fait à des pH entre 4,6 à 6,5 et beaucoup d'espèces tolèrent de grandes variations de pH. Elles peuvent s'adapter à des milieux acides (pH 2,8 à 3,0) ou alcalins (pH 8 à 8,5) (Bourgeois *et al.*, 1988 et Larpent et Larpent Gauraud, 1997).

1.7.3. La pression osmotique et l'activité d'eau

La pression osmotique intervient également sur le développement des levures dont l'effet varie d'une souche à une autre. La plupart des souches ne peuvent se développer à des activités de l'eau inférieure à 0,90. Certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées correspondant à une activité de l'eau de l'ordre de 0,60 mais avec un métabolisme lent. Ces levures sont dites xérotolérantes (Leveau et Bouix, 1979 et

Larpent et Larpent Gaurgaud, 1997), car elles sont capables de synthétiser des osmoprotecteurs (betaine, glycérol).

1.7.4. L'oxygène

Toutes les levures sont capables de se développer en présence d'oxygène, il n'y a pas de levures anaérobies strictes. Certaines levures sont aérobies strictes comme les genres : *Rhodotorula*, *Lipomyces*, *Cryptococcus* etc. Les autres sont aéro-anaérobies facultatives préférant un métabolisme soit fermentaire (comme les *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* et *Brettanomyces*) soit respiratoire (comme les *Candida*, les *Kluyveromyces* la plupart des *Pichia* et des *Hansenula* et quelques *Torulopsis*) (Bouix et Leveau, 1991).

1.8. Le métabolisme

Les levures présentent une diversité métabolique dans la façon de production et de consommation de l'énergie à partir de substrats dégradés. Toutes les levures sont capables de dégrader le glucose, le fructose et le mannose en présence d'oxygène, par un métabolisme oxydatif conduisant à la formation de CO₂ et H₂O (Pol, 1996). La voie de dégradation des glucides étant la glycolyse qui convertit les sucres en pyruvate, l'entrée dans cette voie varie selon le glucide tandis que la destinée du pyruvate dépend à la fois du sucre utilisé et de l'espèce de levure considérée. En se référant au catabolisme du pyruvate formé à partir du glucose, on peut distinguer deux types de métabolisme (Botton, 1991) :

- ✓ **Métabolisme oxydatif** : les levures utilisant le glucose en présence d'oxygène, par conséquent, leur métabolisme est exclusivement respiratoire et le pyruvate est oxydé par le cycle de Krebs. Cette voie métabolique est très énergétique et permet aux levures une importante multiplication. En plus des sucres simples, certaines levures utilisent d'autres glucides (mono, di ou tri saccharides et des polysaccharides comme l'amidon), mais aussi des alcools, des acides et des alcanes (Larpent, 1991).
- ✓ **Métabolisme fermentaire** : en plus du métabolisme oxydatif, certaines levures peuvent privilégier une dégradation des glucides par un métabolisme fermentatif qui conduit à la formation d'éthanol et de CO₂. En plus de ces composés majoritaires, des alcools, des aldéhydes, des esters, des acides sont

formés en plus petites quantités. Ce métabolisme est moins énergétique que le métabolisme oxydatif (Guiraud et Rosec, 2004).

1.9. Technique d'étude des levures

1.9.1. Isolement des levures

Avant d'identifier un champignon-levure, il faut d'abord l'isoler de son substrat dans son milieu naturel et l'obtenir en culture pure (Cahagnier, 1998). Les levures sont parmi les micro-organismes les plus faciles à isoler et à cultiver comme le montrent la diversité de leurs applications agro-alimentaires (Pol, 1996). L'isolement des levures, en vue de leur identification ou de leur numération, demande l'emploi de milieux sélectifs dotés de propriétés antibactériennes et si possible antimoisissures (Guiraud, 1998). Les milieux de culture favorables aux levures sont des milieux à base d'extrait de levures ou de malt, en combinaison avec le glucose (YMA : Yeast Malt Agar ou YPGA) et aussi le milieu de Sabouraud (Guiraud et Rosec, 2004)

1.9.2. Critères et méthodes d'identification

Les critères couramment utilisés pour l'identification des levures peuvent être repartis en deux grandes catégories (Cahagnier, 1998) :

1.9.2.1. Tests morphologiques

➤ Caractères culturels

L'étude des caractères morphologiques est réalisée en milieu liquide et solide. Elle consiste à examiner l'aspect, la forme, la couleur et la consistance des cultures (Callon, 1997).

Les caractéristiques macroscopiques des cultures ainsi étudiées sont:

- La forme des colonies ;
- La couleur ;
- La coupe des colonies ;
- L'aspect de la culture sur gélose inclinée ;
- L'aspect de la culture en milieu liquide ;
- La taille de colonies ;

1.9.2.2. Etude des caractères morphologiques cellulaires

Les critères utilisés dans la description des levures sont ceux décrits par; Wickerham, (1951), Van der Walt, (1970), Van der Walt et Yarrow, (1984).

- **Morphologie cellulaire normale et mode de reproduction végétative**

Ces caractères sont étudiés par des examens microscopiques, permettant de définir la forme, l'arrangement et le mode de division des cellules, ainsi que de mesurer leur taille en utilisant un oculaire micrométrique.

- **Aptitude à la filamentation**

Certaines espèces peuvent former des filaments de type mycélien. Ces filaments sont parfois mis en évidence par l'examen microscopique précédant. La recherche systématique de l'aptitude à la filamentation d'une souche, doit cependant s'effectuer après une culture sur un milieu spécifique (Figure.1.4).

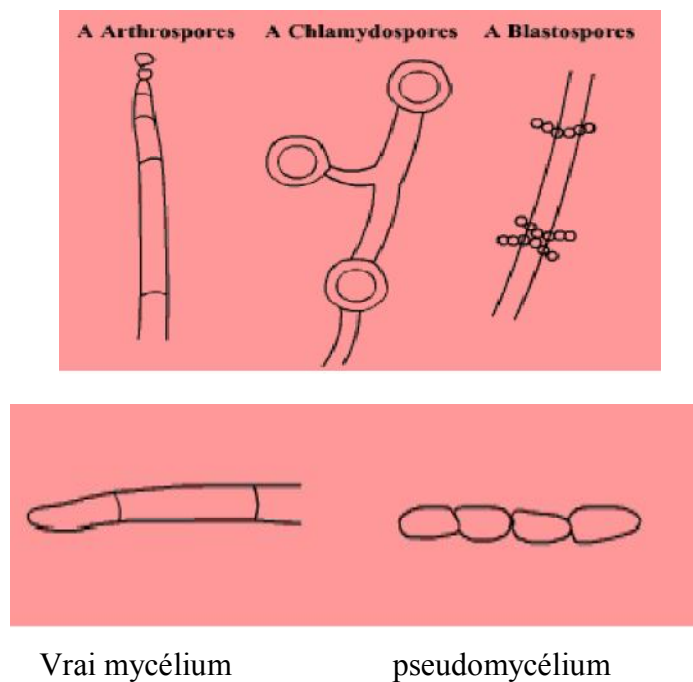


Figure 1.4. Filamentation des levures (Guiraud, 1998)

- **Morphologies particulières**

Dans des milieux pauvres et sous tension d'oxygène réduite, la formation de chlamydospores et de ballistospores est observée. Leur recherche s'effectue à partir de milieux spécifiques. (Figure 1.4).

- **Caractéristiques sexuelles**

La formation d'ascospores est un critère taxonomique très important. Différents milieux de sporulation sont utilisés, pour mettre en évidence les asques, leur forme, la couleur et le nombre de spores par asque.

1.9.2.3. Caractéristiques biochimiques et physiologiques

Les principaux critères physiologiques utilisés dans la classification des levures, sont la fermentation et l'assimilation de différents substrats (Kreger-van Rij, 1984 et Lodder, 1970).

- **Fermentation des sucres**

La description standard des levures se base sur la capacité à fermenter certains sucres, examinés dans des tubes de Durham pendant une période fixe. La caractérisation de la fermentation qu'elle soit vigoureuse, bonne, lente ou faible, dépend de la quantité de gaz dégagé dans le tube d'insertion (Kreger-van Rij, 1984).

- **Assimilation des composés carbonés**

L'importance de l'assimilation des substrats carbonés comme critère pour la distinction des levures est soulignée par Wickerham et Burton, (1948) et Wickerham, (1951). Ces composés sont choisis pour leur intérêt distinctif, bien que la connaissance détaillée de leur utilisation, du point de vue biochimique, fait souvent défaut (Ostergaard *et al.*, 2000).

- **Assimilation des sources azotées**

Les levures assimilent généralement l'ammonium, les peptones, les acides aminés et parfois l'urée. Certains substrats azotés comme les nitrates, les nitrites, l'éthylamine, la cadavérine, l'urée, etc.... ne sont utilisés que par certaines espèces ; propriété spécifique pour leur identification (Guiraud, 1998).

2. Applications des levures en biotechnologie

Par un métabolisme diversifié, les levures occupent une place essentielle dans l'industrie alimentaire. Elles participent à l'élaboration de nombreux produits alimentaires (panification, fromagerie, brasserie,) et dans la production des enzymes (l'invertase, lactase, lipase et les amylases) (tableau 3) (Simon et Meunier, 1970), du glycérol ainsi que certaines vitamines et solvants, mais aussi à la revalorisation de déchets agricoles, industriels et à la production des protéines (Scriban, 1984 et Leclerc *et al.*, 1995). Les biotechnologies et la recherche biomédicale exploitent ainsi largement ces microorganismes, pour la production de molécules d'intérêt médical (ex : production de protéines hétérologues, comme le vaccin de l'hépatite B) (Mercier, 1997 et Blin, 2002).

2.1. Boissons alcoolisées

Le rôle, le plus ancien des levures est la fabrication de boissons alcoolisées. Cette fabrication repose sur la fermentation alcoolique, qui consiste à transformer les sucres simples en alcool. Ainsi, elles interviennent au cours de la vinification et de l'élaboration de la bière.

L'espèce la plus utilisée par l'homme est *Saccharomyces cerevisiae*, appelée aussi levure de bière pour son innocuité (Leveau et Bouix, 1993).



Figure 1.5. les boissons alcoolisées fabriqués par les levures

2.2. Panification

Une autre utilisation, connue depuis l'antiquité, est la fabrication du pain : Le dégagement de gaz carbonique, qui accompagne la fermentation, permet de faire lever la pâte en lui conférant une texture légère. On utilise également *Saccharomyces cerevisiae* (levure de boulangerie) (Simon et Meunier, 1970 et COFALEC, 2006).



Figure 1.6. Panification par les levures

2.3. Affinage des fromages

Les levures sont aussi capables d'utiliser les acides organiques comme source d'énergies et de carbone (Larpent, 1991). Elles participent à l'affinage des fromages ; en consommant l'acide lactique produit par les bactéries lactiques à partir des composants du lait. Elles contribuent aussi à réduire l'acidité du caillé (Leveau et Bouix, 1993). De nombreuses espèces se rencontrent en fromagerie, les plus fréquentes appartenant aux genres *Kluyveromyces*, *debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* et *Rhodotorula* (Larpent, 1991).



Figure 1.7. la fabrication des fromages par les levures

2.4. Production de protéines

Les levures constituent une source précieuse de protéines car elles sont le siège d'une biosynthèse protéique très active. Elles sont utilisées à la production de protéines d'organismes unicellulaires (POU) ou "single cell protéins" (SCP), qui sont souvent incorporées à l'alimentation animale et humaine. Cette production peut s'effectuer sur des substrats considérés comme des déchets tels que le lactosérum et les résidus de pâte à papier. (Pol, 1996).

2.5. Production d'alcools industriels

Depuis quelques temps, une nouvelle utilisation des levures est apparue. Les levures, essentiellement des souches du genre *Saccharomyces*, grâce à leur haute capacité fermentaire, peuvent assurer la bioconversion de nombreux substrats saccharosés (jus de betteraves, sirop, mélasse de sucrerie) en bioéthanol (Leveau et Bouix, 1993).

2.6. Autres utilisations

Aujourd' hui, les levures constituent une des importantes sources d'enzymes produites commercialement en raison de leurs capacités polyvalentes et de la frugalité de leurs exigences permettant d'obtenir une biomasse importante à bas prix (Pol, 1996). En effet, l'invertase ou saccharase sécrétée par diverses levures est utilisée industriellement pour produire du glucose et du fructose à partir de mélasses de betterave ou de cannes à sucre (tableau 3) (Simon et Meunier, 1970).

Tableau1. 3. Production et utilisation de certaines enzymes levuriennes.
(Simon et Meunier, 1970 et Sicard, 1982)

Types d'enzymes	Levures utilisées	Utilisations
Amylases	<i>Lipomyces starkey</i> <i>Schwanniomyces castellii</i>	Saccharification de l'amidon, Boulangerie, Textile, Papeterie.
Invertases	<i>Saccharomyces carlbergensie</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Confiserie.
Lipases	<i>Candida lipolytica</i>	Fromagerie, Laiterie.
Lactases	<i>Candida pseudotropicalis</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Kluyveromyces lactis</i>	Crèmes glacées.

2.7. Avantage des levures en industrie

Par rapport aux bactéries, les levures présentent des éléments favorables quant à leur utilisation en biotechnologie. Elles offrent donc une meilleure résistance que les bactéries à ces conditions de stress, en particulier la possibilité à des pH acides.

En plus, l'état unicellulaire, la capacité à se multiplier rapidement et la rusticité des exigences nutritionnelles à ces eucaryotes permettent de les cultiver, de les étudier et de les utiliser aussi facilement que des micro-organismes procaryotes. Comme l'écrit joliment James D. Watson, ce sont les « *Escherichia coli* » des eucaryotes (Pol, 1996). Elles produisent des protéines glycolyses qui vont servir à des fins industriels et pharmaceutiques : insuline par *Saccharomyces cerevisiae* (Mercier, 1997) et le vaccin de l'hépatite B (Blin, 2002).

Leur utilisation dans l'alimentation a fait de sorte que les levures soient globalement Plus connues pour leur efficacité en fermentation industrielle que d'autres micro-organismes. Elles ne sont pas attaquées par des virus (phages), elles sont facilement récupérables grâce à leur grosseur. La stabilité génétique des levures permet aussi une très bonne fidélité du procédé et la connaissance de leur physiologie cellulaire facilite leur utilisation (Labrecque, 2003).

Les seuls éléments défavorables, quant à leur utilisation, dans le domaine de la dépollution sont leur croissance relativement lente (120 minutes) par rapport aux bactéries (20 minutes) et le choix limité d'espèces, nous constatons que les nombreux avantages des levures l'emportent sur leurs quelques inconvénients (Labrecque, 2003).

1. Isolement et sélection de souches levuriennes

1.1. Echantillonnage

L'isolement est fait à partir des échantillons de sol agricole, au niveau de l'**Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI)**, la station régionale d'Oum El Bouaghi(OEB), la station se localise au niveau de Bir Rogaa (commune de Berriche) (Figure1.1).

La température moyenne annuelle: 13.4°C, pluviosité annuelle:475 mm/année (<http://.climate-data.org/location/45053/climate-graph.png>).

✓ **Coordonnées géographiques** : 25° 51.783 Nord et 7° 5.496 Est.

Deux échantillons de sol sont prélevés et introduits dans des flacons en verre stérile puis transportés dans les glassières jusqu'au laboratoire et gardés au frais (4°C).



Figure2.1. Image prise par satellite (2015)

1.2. Détermination du pH des échantillons

Cette mesure est réalisée dès l'arrivée des prélèvements au laboratoire, la technique consiste à déterminer la valeur du pH d'une suspension de sol en eau distillée (10g de sol pour 25ml d'eau distillée) à l'aide d'un pH mètre (Davet et Rouxel, 1997).

1.3. Isolement

- **Préparation de la solution mère**

Des échantillons de sol de 10g, sont introduits avec 90ml d'eau physiologique stérile (solution mère) et agités pendant 10 minutes à l'aide d'un agitateur.



Figure 2.2. Préparation des solutions

- **Préparation des dilutions :**

Une série de dilutions décimales (10^{-1} jusqu'à 10^{-5}) est ensuite préparée à partir de la solution mère.

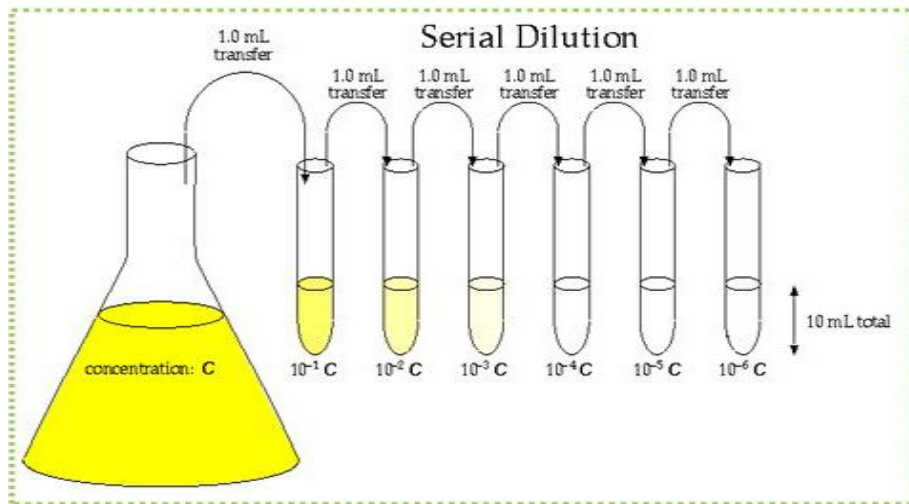


Figure 2.3. Préparation de la série des dilutions décimales.

- **L'isolement des levures :**

L'isolement des levures se fait par ensemencement de 0.1 ml de culture en stries transversales à la surface des milieux YMA (annexe 1) (Yang and Wang, 2003). Les boîtes de Pétri sont incubées à 25°C pendant 24 à 72 heures.



Figure 2.4. Ensemencement de 0.1 ml de culture en stries transversales à la surface des milieux YMA

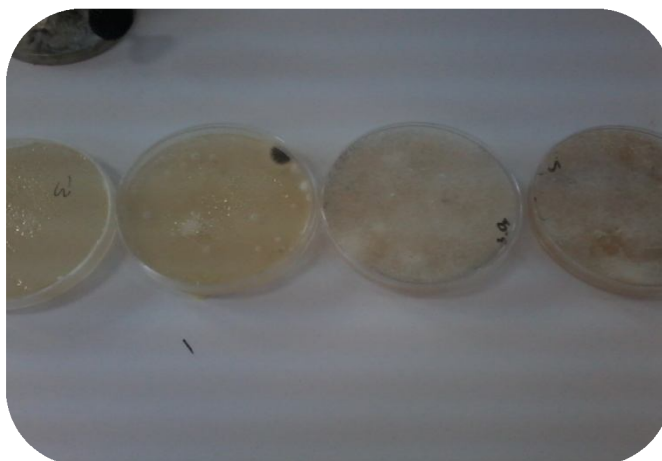


Figure 2.5. Les boîtes après 3 jours d'incubation à 25°C (Leveau et Bouix, 1993).

1.4. Conservation des souches isolées

Les colonies levuriennes isolées sont ensemencées sur gélose inclinée d'YPGA (annexe 1), puis elles sont incubées à 25°C pendant 72 heures. Les cultures pures sont alors stockées à 4°C. Leur repiquage se fait chaque mois (Yarrow, 1998; Korish, 2003).

2. Identification du genre des souches levuriennes

1.2. Etude des caractères cultureux

Les caractères cultureux sont étudiés en milieu liquide (YPG) (annexe 1) et en milieu solide (YPGA) (annexe 1). L'ensemencement se fait en stries. Les cultures sont incubées pendant 3 jours à 25°C, examinées puis laissées 4 semaines à la température du laboratoire et réexaminées quotidiennement (Leveau et Bouix, 1993). Les caractéristiques des cultures (la taille des colonies, leur forme, leur aspect, leur texture) sont notées (Guiraud, 1998).

1.3. Etude des caractères morphologiques cellulaires

• Morphologie cellulaires normale et mode de multiplication végétative

Ces caractères sont étudiés par des examens microscopiques qui sont effectués sur les cultures des souches isolées. Les examens portent aussi bien sur un milieu liquide que sur un milieu solide sur une durée de 3 jours à 1 mois. A partir du 3^{ème} jours, un échantillon de

colonies à l'état frais est observé quotidiennement au microscope (grossissement 40 et 100) (Guiraud, 1998).

L'étude microscopique permet de définir la forme, la taille des cellules (par un oculaire micrométrique), l'arrangement ainsi que le mode de division des cellules (Guiraud, 1998).

- ***Formation de mycélium***

Pour ce test, la levure est ensemencée en une strie longitudinale sur une lame recouverte de milieu YPGA (annexe 1) et placée dans une boîte de Pétri en verre contenant un peu d'eau distillée stérile pour éviter la dessiccation du milieu ; recouvrir la lame d'une lamelle et incuber une semaine à 25°C. Après cette période d'incubation, la préparation est examinée au microscope (Larpen, 1997).

- ***Caractéristiques sexuelles***

Lorsque les conditions sont favorables à la reproduction sexuée, les levures cessent de se multiplier par bourgeonnement. Certaines cellules se transforment en asques contenant les ascospores. Plusieurs milieux de sporulation sont utilisés simultanément pour mettre en évidence les asques et les ascospores. Pour cela le milieu Fowells est utilisé (annexe 1). Le milieu conditionné en tube incliné est ensemencé en surface à partir d'une culture en phase exponentielle de 24 à 36 heures, puis incubés pendant 8 jours à un mois à 25°C où des observations quotidiennes sont effectuées. Si la levure est capable de faire une reproduction sexuée, la forme des asques, le nombre et la forme des ascospores, leur position, sont notés (Bouix et Leveau, 1991 ; Larpen, 1997).

2.3. Etude des caractères biochimiques et physiologiques

Les caractéristiques biochimiques et physiologiques effectuées, sont la fermentation des sucres et l'assimilation d'azote.

- **Fermentation des sucres**

L'étude du métabolisme des glucides par la voie fermentaire est réalisée en tubes de milieu liquide renfermant chacun une cloche de Durham (annexe 1). Quatre sucres sont testés : le glucose, le fructose, le saccharose et l'amidon.

Les tubes sontensemencés avec une goutte d'une suspension de la levure sélectionnée. Les cultures sont incubées à 25°C pendant 48 heures à trois semaines. La fermentation se traduit par l'observation d'un dégagement gazeux dans la cloche de Durham (Bourgeois et Leveau, 1991 ; Larpent, 1997 ; Guiraud, 1998).

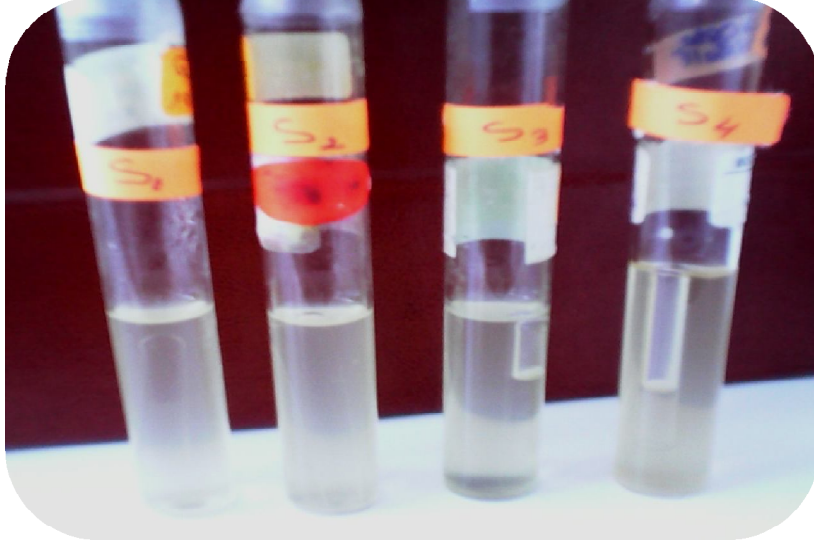


Figure 2.6. Test de fermentation des sucres

- **Assimilation des composés azotés**

Les levures assimilent généralement l'ammonium, les peptones, les acides aminés et parfois l'urée. Cependant, certaines utilisent d'autres sources azotées comme les nitrates, l'éthylamine, la cadaverine, etc.; propriété exploitable pour leur identification (Guiraud, 1998).

1. Isolement des souches levuriennes

L'isolement des levures est fait à partir d'un sol agricole (Bir Rogaa commune de Berriche au niveau la wilaya d'Oum El Bouaghi, Sud-est Algérien). 4 souches (S1, S2, S3, S4) sont répertoriées. Leur répartition en fonction des sites d'échantillonnage est récapitulée dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1. Isolement des levures à partir deux échantillons (A et B) prélevés de sol

Souches	Dilution	Milieu	Origine
S1	10^{-3}	YMA	Sol agricole (échantillon A) Profondeur 10 cm Région Oum El Bouaghi
S2	10^{-3}	YMA	Sol agricole (échantillon B) Profondeur 10 cm Région Oum El Bouaghi
S3	SM	YMA	Sol agricole (échantillon B) Profondeur 10 cm Région Oum El Bouaghi
S4	10^{-3}	YMA	Sol agricole (échantillon B) Profondeur 10 cm Région Oum El Bouaghi

De nombreuses levures ascomycètes et basidiomycètes sont présentes dans le sol. Cependant, dans la plupart des cas, le nombre des levures et la composition en espèces, sont distribuées de façon très inégale. De plus, le nombre de ces champignons microscopiques est faible comparé avec celui des bactéries et des moisissures (Botha, 2006). Le nombre des levures présentes dans la profondeur 10 cm du sol peut varier de moins de 10^1 à 10^6 cellules

cultivables par gramme de sol, car les levures sont des microorganismes aérobies capables de se développer sur une large diversité de composés organiques (Spencer et Spencer, 1997).

Dans des conditions favorables, les levures peuvent se multiplier dans certains sols, mais l'élévation de leur nombre est habituellement suivie d'une diminution marquée (Lund, 1954). De plus, la région d'Oum El Bouaghi est caractérisée par un climat semi aride (une pluviosité annuelle de 475 mm et une température annuelle pouvant atteindre 13.4°C) (<http://.climate-data.org/location/45053/climate-graph.png>).

Par ailleurs, un pH du sol basique (pH 8.19) favorise une reproduction rapide des populations bactériennes aux dépens de celle des levures, dont la croissance est optimale à des pH acides (pH optimal 4.5-5.5) (Deak, 2006). Malgré ces conditions extrêmes, quelques souches levuriennes arrivent à résister, ce qui explique le faible taux de souches obtenues. Cette survie, est probablement favorisée pour la forme sporulante qui arrive à résister dans le sol en raison de leur grande tolérance pendant les périodes de dessiccation et aux températures élevées (Starmer et Lachance, 2001).

En plus de l'adaptation du microorganisme à son biotope, la croissance ou la présence de certaines souches peut être aussi expliquée par la richesse des sols étudiés en matière organique (2.45 %) (Tableau 3.2), apportée par des résidus des végétaux et d'animaux.

Tableau3.2. Analyse physico-chimique du sol (Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI)).

	K	Mg	Ca	P	N	pH	C Totale	MO	CE	Sable	Argile	Limon
Valeur	0.24	5.49	40.3	46	0.17	8.19	12.83	2.45	54.8	44	16	40
Unité	Meq/100g			Ppm	%		%	%	Ms/m	%		

2. Identification des souches isolées


L'identification des genres des souches isolées est basée sur les caractères phénotypiques (culturels, morphologiques et biochimiques) (Guiraud, 1998 ; Kurtzman et al)(volume 1).




2.1. Caractères culturels

2.1.1. Sur milieu solide

Après une croissance de trois jours à 25°C sur milieu solide, ces souches possèdent en commun la forme ronde, le contour régulier et la surface lisse. Excepté pour les souches S2 et S4 qui possèdent une couleur blanche et rose clair, respectivement, les souches S1 et S3 ont en commun la couleur beige. L'ensemble des résultats sont résumés dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3. Caractères culturels des souches isolées sur milieu solide YPGA après 3 jours d'incubation à 25°C.

Souche	Sur milieu solide : YPG Agar	Aspect de la culture en boîte de pétri
S1	<ul style="list-style-type: none"> -Colonie ronde et beige -Diamètre de 1 à 3mm -Lisse et brillante -Bombée -Marge régulière -Colonie opaque 	

<p>S2</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Colonie ronde et crème -Diamètre de 1 à 5mm -Lisse -Plate à centre élevé -Marge régulière -Colonie opaque 	
<p>S3</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Colonie beige et ronde -Diamètre de 1 à 3mm -Texture crémeuse lisse et mate -Marge régulière -Bombé au centre -Colonie opaque 	
<p>S4</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Colonie ronde et rose claire -Diamètre de 1 à 2 mm -Texture crémeuse -Colonie opaque -Lisse et bombé au centre -Marge régulière 	

2.1.2. En milieu liquide

La croissance de ces levures en milieu liquide se manifeste de façon différente. On observe la présence d'une pellicule qui nappe la paroi du tube chez les souches S1 et S3. Les dépôts, qui renseignent sur la masse cellulaire, sont fins chez toutes les souches. La présence d'un voile et d'un anneau sont présents chez toutes les souches (Tableau 3.4).

Tableau 3.4. Etude des caractères cultureux sur milieu liquide YPG après 3 jours d'incubation à 25°C.


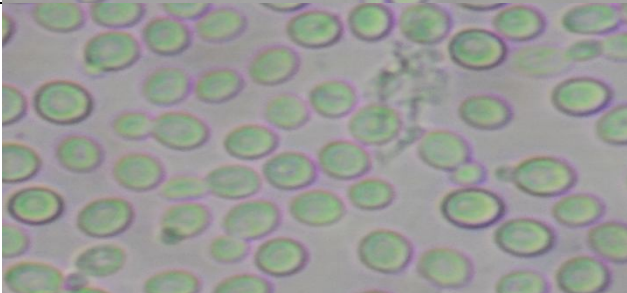
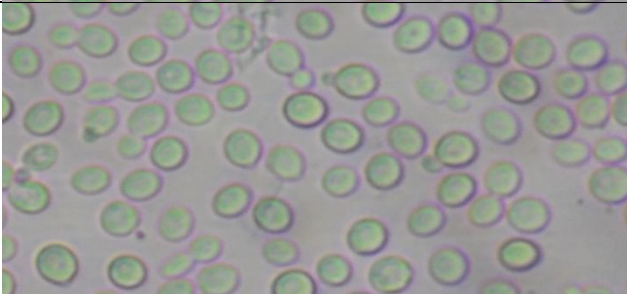
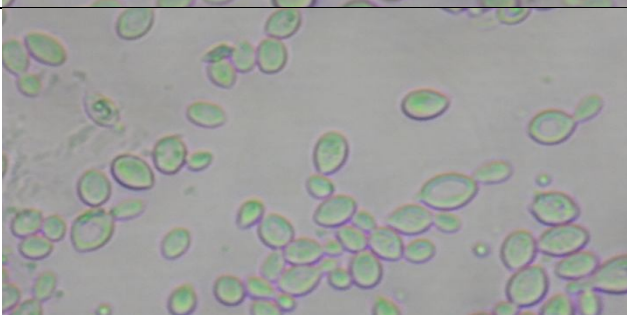
Souches	Milieu liquide YPG	Aspect des cultures
S1	<ul style="list-style-type: none"> -Présence d'un dépôt -Présence d'un anneau -Présence des pellicules -Présence d'un voile 	
S2	<ul style="list-style-type: none"> -Présence d'un dépôt -Présence d'un anneau -Présence d'un voile 	
S3	<ul style="list-style-type: none"> -Présence d'un dépôt -Présence d'un anneau -Présence des pellicules -Présence d'un voile 	
S4	<ul style="list-style-type: none"> -Présence d'un dépôt -Présence d'un anneau -Présence d'un voile 	

2.2. Caractères morphologiques

2.2.1. Morphologie cellulaire végétative

La morphologie des cellules, comme l'illustre le tableau 3.4, est variable. Elle est sphérique à ellipsoïde pour les souches S1 et S3, sphérique à ovoïde chez les souches S2 et S4. Le mode de reproduction végétatif se fait par bourgeonnement pour la totalité des souches (Tableau 3.5).

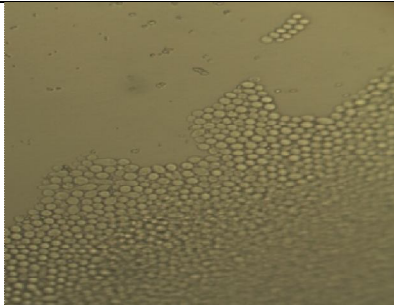
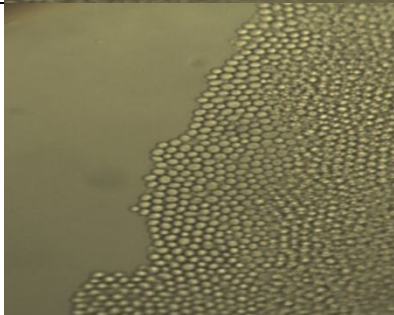

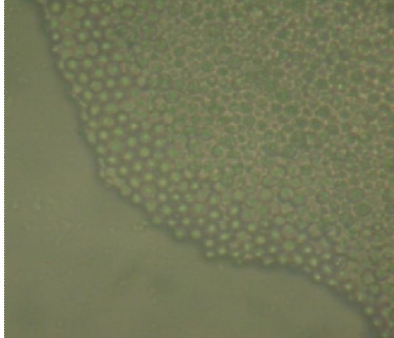
Tableau 3.5. Etude des caractères morphologiques sur milieu YPGA après une incubation de 3 jours à 25°C.

Souches	Caractères morphologiques	Aspect microscopique (× 40)
S1	-Cellules sphériques à ellipsoïdes. -Reproduction par bourgeonnement multilatéral.	
S2	- Cellules sphériques à ovoïdes. -Reproduction par bourgeonnement multilatéral.	
S3	-Cellules sphériques à ellipsoïdes. -Reproduction par bourgeonnement multilatérale.	
S4	- Cellules sphériques à ovoïdes. -Reproduction par bourgeonnement multipolaire.	

2.2.2. Formation de mycélium

On observe l'absence de formation de mycélium pour toutes les souches S1, S2, S3 et S4. On note cependant des différences d'aspect qui sont représentées et résumées dans le tableau 3.6.

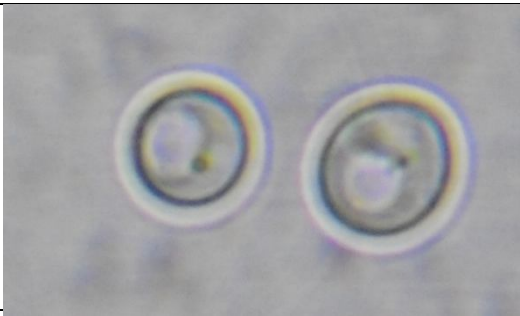
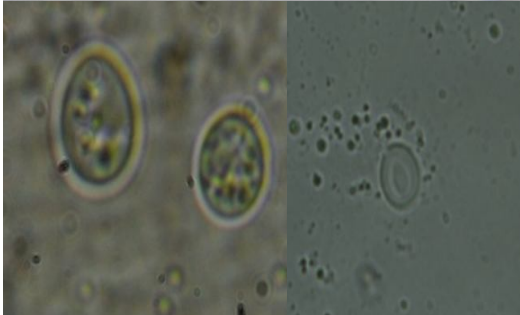
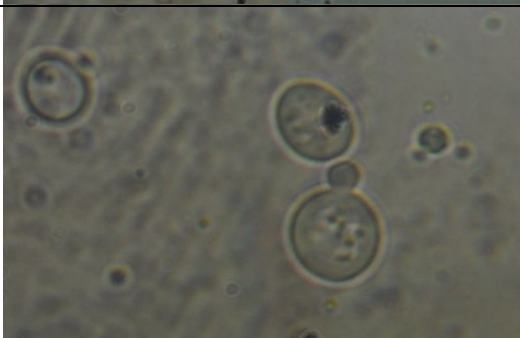
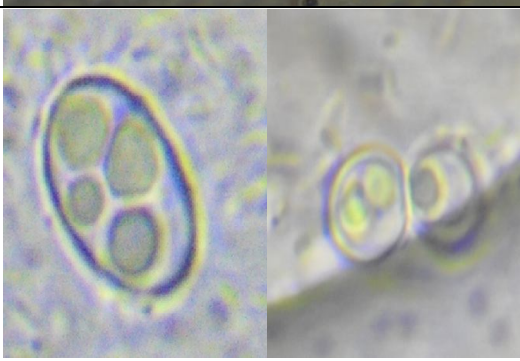
Tableau 3.6. Résultats du test de filamentisation après une semaine d'incubation à 25°C (- : absent de mycélium).

Souches	Test de filamentisation	
	Formation de mycélium	Aspect microscopique
S1	-	
S2	-	
S3	-	
S4	-	

2.2.3. Test de sporulation

Après une croissance de mois sur milieu de sporulation Fowells, les souches possèdent en commun la propriété de la formation des spores (Tableau 3.7).

Tableau 3.7. Résultats du test de sporulation après incubation pendant un mois sur milieu Fowells à 20°C. (+ : formation de spores).

Souches	Test de sporulation sur milieu Fowells	
	Formation de spores	Aspect microscopique (x 40)
S1	-Formation d'asque contenant 1 ascospore. -Ascospore est de forme sphérique	
S2	-Formation d'asque contenant de 1 à 16 ascospores. -Ascospore est de forme sphérique à ovoïde	
S3	-Formation d'asque contenant de 1 à 4 ascospores. -Ascospore est de forme globuleuse à ellipsoïde.	
S4	-Formation d'asque contenant de 1 à 4 ascospores. -Ascospore est de forme sphérique ou sphérique avec un rebord équatoriale	

2.3. Tests biochimiques

2.3.1. Fermentation des sucres

La souche S4 démontre l'attitude à fermenter l'ensemble des substrats glucidiques testés. De plus, les souches S1 et S3 possèdent en commun la propriété de fermenter le glucose. Par contre la souche S2 ne fermente pas l'ensemble des sucres testés car la formation du gaz n'a pas été décelée dans la cloche de Durham. L'ensemble des résultats sont résumés dans le tableau 3.8.

Tableau 3.8. Résultats du test de fermentation des sucres incubé à 25°C pendant 48 h.
(+ : fermentation positive ; - : pas de fermentation).

Souches	Fermentation des sucres			
	Glucose	Saccharose	Fructose	Amidon
S1	+	-	+	+
S2	-	-	-	-
S3	+	+	-	-
S4	+	+	+	+

2.3.2. Assimilation des substances azotées

Les souches S1, S3, S4 présentent une assimilation positive pour la peptone et le nitrate de potassium matérialisée par un développement de colonies autour des dépôts de chaque source d'azote. Par contre, la souche S2 est incapable d'assimiler les sources azotées testées (Tableau 3.9).

Tableau 3.9. Test d'assimilation d'azote par les souches S1, S2, S3, S4 (après d'incubation à 25°C sur milieu synthétique). (+ : assimilation positive ; - : assimilation négative).

souches	Sources azotées	
	Nitrate de potassium	Peptone
S1	+	+
S2	-	-
S3	+	+
S4	+	+

Conclusion :

L'analyse des résultats obtenus, montre que les souches levuriennes S1, S2, S3, S4 semble appartenir probablement aux genres : *Citeromyces*, *Kazachstania*, *Saccharomyces*, *Lindnera* respectivement.

En effet, les différents caractéristiques : morphologiques, culturaux et biochimiques présentés par la souche S1 (cellules sphériques à ellipsoïdes, bourgeonnement multilatéral, formation d'asques chacun possédant une ascospore d'une forme sphérique, fermentation positive pour le glucose, le fructose et l'amidon tandis que le test d'assimilation des sources azotées est positif) se rapprochent énormément des caractéristiques décrites par Baljeviella ; Kurtzman et Suzuki (2010) qui semble au genre *Citeromyces*.

En effet, aussi les différents caractéristiques présentés par la souche S2 (cellules sphériques à ovoïdes, fermentation des sucres est négatif, la reproduction s'effectue par bourgeonnement multilatéral, le nombre d'ascospores est entre 1 à 16 ascospores par un asque avec une forme sphérique, fermentation des sucres testés est positive et assimilation des sources azotées est négatif) sont en accord à (Kurtzman2003) qui montre que S2 semble s'appartenir au genre *Kazachstania*.

Naumov et al. ; 2000 rapportent que le genre *Saccharomyces* possède des cellules sphériques à ellipsoïdes, la formation d'asques renferment entre 1 à 4 ascospores par asque qu'elles portent une forme sphériques, le test de fermentation des sucres est positif pour le glucose et le saccharose, l'assimilation des sources azotées est positive), ce qui concordent avec les caractéristiques de la souche S 3.

En fin, les caractères morphologiques (cellules sphériques, ovoïdes et allongés, 1 à 4 ascospores sphériques par asque), biochimiques (assimilation positive des sources azotées et le test de fermentation des sucres est positif) de la souche S4 sont en accord avec ceux signalés approche des caractéristiques décrits par (Wickerham 1965) ce qui indique que S4 semble s'appartenir au genre *Lindnera*.

Conclusion générale

Notre étude comporte deux axes de recherche. Le premier concerne l'isolement des souches levuriennes isolées du sol agricole au niveau à l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI) de la station régionale d'Oum el Bouaghi, La station se localise au niveau de Bir Rogaa (commune de Berriche). Le second axe est consacré à l'identification des genres des levures isolées.

Nous avons isolé 4 souches levuriennes (S1, S2, S3, S4) sur milieu YMA, L'étude des caractères cultureux, morphologiques et des propriétés biochimiques et physiologiques pour toutes les souches permet d'obtenir les résultats suivants : les différentes caractéristiques présentées par les souche S1, S3, S4 qui possèdent en commun une forme sphérique avec bourgeonnement et une test positif pour l'assimilation des sources azotées avec une formation des spores ,mais pour la souche S2 possède la forme sphérique et un test négatif pour l'assimilation des sources azotées et la formation des spores et de bourgeonnement.

Ces résultats permettent un classement probable en genres respectivement : *Citeromyces*, *Kazachstania*, *Saccharomyces*, *Lindnera*.

Résumé :

Le but général de ce présent travail est la recherche de levure à partir d'un écosystème extrême. L'isolement des levures et à partir des échantillons de sol agricole au niveau de l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI), la station régionale d'Oum el Bouaghi , a permis de répertorier 4 souches (S1, S2, S3, S4). L'identification des genres des souches de levure isolées est basée sur l'étude des caractères cultureux (sur milieu solide et sur milieu liquide), les caractères morphologiques cellulaires (mode de multiplication végétative, formation de mycélium et caractéristiques sexuelles) et des propriétés biochimiques et physiologiques (fermentation des sucres et l'assimilation des composés azotés).

Les résultats d'identification permettent probablement isolés des souches (S1, S2, S3, S4) aux

Genres : *Citeromyces*, *Kazachstania*, *Saccharomyces*, *Lindnera*, respectivement.

Mots clés :

Levures, Isolement, sol agricole, identification.

Abstract :

The general aim of present work is the search for yeast from an extreme ecosystem . the isolation of yeast is from samples of agricultural soil at the Technical institute for industrial Crops and Maraichères (ITCMI), the regional station of Oum El Bouaghi, helped identify 4 strains (S1 , S2 , S3, and S4) . identification of genera isolated yeast strains is based on the study of cultural characters (on solid medium and liquide medium), cell morphological characters (fashion vegetative propagation, formation of mycelium and sexual characteristics) and biochemical properties and physiological (sugar fermentation and assimilation of nitrogen compounds) .

The results allow identification of likely isolated strains (S1 , S2 , S3, and S4) to the genera : *Citeromyces*, *Saccharomyces* , and *Lindnera* respectively.

Key words :

Yeasts , Isolation, Agricultural soil, identification .

ملخص:

الهدف العام من هذا العمل هو البحث عن الخميرة من نظام بيئي شديد عزل الخمائر وعينات من التربة الزراعية في المعهد الفني للمحاصيل الصناعية (ITCMI)، ومحطة إقليمية من أم البواقي ساعد في التعرف على 4 سلالات (S1، S2، S3، S4) ويستند تحديد أجناس سلالات الخميرة معزولة على دراسة الخصائص الزراعية (في وسط صلب ووسط سائل) الصفات المورفولوجية الخلوية (طريقة التكاثر، و تشكيل النسل و الخصائص الجنسية) والخصائص الكيميائية والحيوية والفسيلولوجية (تخمير السكر والاستيعاب من مركبات النيتروجين).

النتائج سمحت بتحديد سلالات معزولة معزولة (S1، S2، S3، S4) المرجحة الى الاجناس: *Citeromyces*، *Kazachstania*، *Saccharomyces*، *Lindnera* على التوالي.

الكلمات المفتاحية:

الخمائر، عزل، التربة الزراعية، تحديد.

Références bibliographique

- Ahearn D.G. (1973)**. Estuarine Microbial Ecology: The Belle W. In. Marine Science 1, p: 433-440. University of South Carolina Press, Columbia, South Carolina.
- Babjeva I.P, Moavad K.H and Marchenko A. I.(1977)**. Microbiologia. 46, p :270.
- Barnett L .A (1976)**.In “Advances in Carbohydrates Chemistry and Biochemistry (R.S.Tipson and D.Horton, eds), Academic Press, New York. 32, p: 125-234,
- Blin C.P. (2002)**. Etude comparative du catabolisme de l acide ricinoléique chez les levures du genre Sporidiobolus : mise en évidence et caractérisation du système bêta-oxydase impliqué. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation. Université de Bourgogne, France.
- Boiron P. (1996)**. Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. P: 13- 35.
- Bonaly R. (1991)**. Morphologie et reproduction asexuée des levures Ds : Larpent J.P., Biotechnologie des levures. Masson, Milan Barcelone Bonn. Paris. p : 4-18.
- **Botha Alfred. (2006)**. Yeasts in Soil.p : 223.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P. H., Larpent J.P., Reymond P.,Sanglier J.J.,Vayssier Y and Veau P. (1990)**. Moisissures utiles et nuisibles d'importance industrielle.2ème édition. Masson. Collection Biothechnologies. p :34 -381.
- Botton B. (1991)**. La physiologie des levures Ds : Larpent J.P., Biotechnologie des levures. Masson, Milan Barcelone Bonn. Paris. p : 97-127.
- **Bouix M. et Leveau J.Y. (1991)**. Les levures Ds : Bourgeois C.M., Leveau J.Y., Techniques d analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, édition 2 Lavoisier-Tec &Doc, Paris. 3, p : 206-229.
- **Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zucca J. (1988)**. Microbiologie alimentaire, Tome 1. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires, Technique et Documentation Lavoisier, Paris. 8, p : 161-171.

- **Cahagnier B.** (1998). Moisissure des aliments peu hydratés. Lavoisier-Tec &Doc, Paris. 8, p : 96-135.
- **Callon C.** (1997). Les levures. In : Larpent J.P, Microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire. Lavoisier-Tec & Doc. Paris. p : 465-472.
- Carmo-Sousa** (1969) Yeasts distribution of yeasts in nature. In: Rose AH, Harrison JS (eds) The yeasts, biology of yeasts, st edn, vol . Academic, London, p : 79–105.
- COFALEC.** (2006). Caractérisation des levures de boulangerie. Adopté par Comite de Fabrication de levures de panification de l'union européenne. Paris. p: 1-10.
- Deák, T.** (2006) b. Environmental factors influencing yeasts. In: C. A. Rosa and G. Peter (Eds), Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. Springer-Verlag, Berlin, pp.155–174.
- **Davet P. et Rouxel F.** (1997). Détection et isolement des champignons du sol. (Ed), INRA. Paris.p : 13-18 .
- Guiraud J.P.** (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris. p : 310-321.
- Guiraud J.P. et Rosec J.P.** (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. P: 228-235.
- Kreger-Van Rij N.J.**(1984).The Yeast, a Taxonomic Study, Elsevier Biomedical. Press, Amsterdam.
- **Kurtzman, C.P.**(2003). Phylogenetic circumscription of Saccharomyces, Kluyveromyces and other members of the Saccharomycetaceae, and the proposal of the new genera Lachancea, Nakaseomyces, Naumovia, Vanderwaltozyma and Zygotorulaspora. FEMS Yeast Res. 4, 233–245.
- **Kurtzman, C. P. & Fell, J. W.** (2006). Yeast systematics and phylogeny – Implications of molecular identification methods for studies in ecology. In The Yeast Handbook: Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, p 11-30. Edited by C. Rosa & G. Péter.

- **Kurtzman, C.P., and M. Suzuki.**(2010). Phylogenetic analysis of ascomycete yeasts that form coenzyme Q-9 and the proposal of the new genera Babjeviella, Meyerozyma, Millerozyma, Priceomyces and Scheffersomyces. *Mycoscience* 51,2–14.

- **Labrecque M.H. (2003).** Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène. Mémoire, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université LAVAL. p : 19-24.

- Lachance MA, Starmer WT** (1998) Ecology of yeasts. In: Kurtzman CP, Fell JW (eds) *The yeasts, a taxonomic study*, 4th edn. Elsevier, Amsterdam, pp 21–30.

- **Larpent G .M and Sanglier J.J. (1992).** *Biotechnologies. Principes et méthodes.* P : 574-581.

- **Larpent J.P.** (1991). *Biotechnologie des levures.* Masson, Milan Barcelone Bonn. Paris. p : 97-127.

- **Larpent J.P. et Larpent-Gourgau M. (1997).** *Mémento technique de microbiologie.* 3e édition, Lavoisier-Tec &Doc, Paris. 8, p : 217-240.

- Leclerc H., Meyer A. et Deiana J. (1995).** *Cours de microbiologie générale. Nouveau programme.* Biosciences et Techniques. doin éditeurs, Paris. p : 73-92.

- Leveau J.Y. et Bouix M. (1979).** Etude des conditions extrêmes de croissance des levures osmophiles. *Ind.Alim.Agric.*, 11, p : 1147-1151.

- Leveau J.Y. et Bouix M. (1993).** *Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel.* Lavoisier TEC& DOC, Paris. 08, p : 2-92.

- Lodder J.**(1971). *The yeasts, a taxonomic study*, 2ème edition. North Holland, Amsterdam, Londres. p :1385 .

- Lourens K and Reid G. (2002).** *Yeast nutrient management in winemaking. The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker. Annual Technical Issue.* p: 50 - 54.

- Lund, A . (1954).***Studies on the Ecology of Yeasts .Munksgaard , Copenhagen.*

- Madigan M., Martinko J. (2007).***Brock-Biologie des micro-organismes.*11èmeédition. Pearson Education.France.1047p.

- Mercier C.** (1997). Transgènes et modification quantitative et/ou qualitative de la composition de lait à de fins nutritionnels. In : Frenet G. (Ed), intérêts nutritionnels et diététique du lait de chèvre. Nord-France. p : 169-177.
- Naumov, G.I., S.A. James, E.S. Naumova, E.J. Louis and I.N. Roberts.** (2000). Three new species in the *Saccharomyces sensu stricto* complex: *Saccharomyces cariocanus*, *Saccharomyces kudriavzevii* and *Saccharomyces mikatae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50, 1931–1942.
- Ostergaard S., Olsson L and Nielsen J.** (2000). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *MicrobiolMolBiolRev.* 64(1), : 34-50.
- Oteng-Gyang K.** (1984). Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique & Documentation Lavoisier, Paris. 8, p : 43-51.
- Oteng-Gyang K.** (1984). Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique & Documentation Lavoisier, Paris. 8, p : 43-51.
- Phaff HJ, Miller MW, Mrak EM** (1966) Ecology, chap VIII. In: Phaff HF, Miller MW, Mrak EM (eds) *The life of yeasts*. Harvard University Press, Cambridge, p: 93–123.
- Phaff H.G. Miller MW and Mrak E.K.** (1968). *The life of yeasts*. In: Oteng-Gyang K. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique & Documentation Lavoisier, Paris. 8, p :43.
- Phaff HJ, Starmer** (1987) Yeasts associated with plants, insects and soil. In: Rose AH, Harrison JS (eds) *The Yeasts. Biology of yeasts*, 2nd edn, vol . Academic, London, p:123–180.
- Riviere J.** (1975). Les applications industrielles de la microbiologie. Collection Sciences agronomiques. Masson et Cie (ed.).p : 31-195.
- Scriban R.** (1984). *Biotechnologies*. 2ème édition. Techniques et Documentation-Lavoisier. Paris. p : 531.
- Sicard P.** (1982). Applications industrielles des enzymes. In : Durand G. & Monson P. (Ed):

Les enzymes production et utilisation industrielles. Ed. Gauthier-Villars. p: 121-164.

-**Simon P. et Meunier R.** (1970). Microbiologie industrielle et génie biochimique. Masson ET Cie, Editeurs. Paris VIe. p : 31-47, 385-411.

-**Sniegowski PD, Dombrowski PG, Fingerman E** (2002) *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* coexist in a natural woodland site in North America and display different levels of reproductive isolation from European conspecifics. *FEMS Yeast Res* 1:299–306.

-**Spencer JFT, Spencer DM** (1997) Ecology: where Yeasts live. In: Spencer JFT, Spencer DM (eds) *Yeasts in natural and artificial habitats*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 33–58.

-**Starmer, W.T., H.J. Phaff, P.F. Ganter and M.A. Lachance.**(2001). *Candida orba* sp. nov., a new cactus-specific yeast species from Queensland, Australia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 699–705.

-**Suh, S. –O., Kurtzman, C. P. & Lachane, M.** (2006). Phylogenetics of Saccharomycetales, the Ascomycete yeasts. *Mycologia*, 98: 1006-1017.

-**Tamaki N and Hama T .** (1982). In “Methods in enzymology” (W. A. Wood, ed.), Academic Press, London. 89, p: 285-306.

-**Van Uden N and Fell J.W.** (1968). *Advances in Microbiology of the Sea*. Academic Press, New York. 1, p: 167-201.

-**Walker G.** (2000). The role of metal ions in optimising yeast fermentation performance. In: *Nutritional aspects II. Synergy between yeasts and bacteria*. Lallemand Technical Meeting . p: 27-30 .

-**Walker G.M .,Wiley J and Chihhster S.**(1997).*Yeast Physiology and Biotechnology*.

-**Wickerham L.J.** (1951). *Taxonomy of yeast*. Technical Bulletin No. 1029, United States. Departement of Agriculture, Washington, D.C.

- **Wickerham, L.J.**(1965b). New heterothallic species of *Hansenula*. II. *Hansenula bimundalis* and variety *ameri- cana*. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 26, 87–103.

-Wickerham L .J., Burton K .A .(1948).Journal of Bacteriology . 56, p:363.

-<http://.climate-data.org/location/45053/climate-graph.png>

Annexe1 : composition des milieux de culture :

<i>Milieu</i>	Composition	Quantité
YEMA <i>(Yeast Extract Malt Agar)</i>	Glucose	10g
	Peptone	5g
	Extrait de levure	3g
	Extrait de malt	3g
	Agar	15g
	PH	3,5
	Eau distillée	1000ml
YPGA <i>(Yeast Extract Peptone Glucose Agar)</i>	Glucose	20g
	Extrait de levure	5g
	Peptone	10g
	Agar	20g
	PH	6.1
	Eau distillée	1000ml
Fermentation de sucres	Extrait de levure	4.5g
	Peptone	7.5g
	Sucre	20g
	Eau distillée	1000ml
FOWELLS	Acétate de sodium	5g
	Agar	20g
	Eau distillée	1000ml

**Milieu assimilation des
composés azotés**

Glucose	20g
KH ₂ PO	1g
MgSO ₄	0.5g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

Nom et prénom : BAKHOUCHE Intissar, BERHAIL Hayet

Thème : Isolement des souches levuriennes à partir de sol agricole

Résumé :

Le but général de ce présent travail est la recherche de levure à partir d'un écosystème extrême. L'isolement des levures et à partir des échantillons de sol agricole au niveau de l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI), la station régionale d'Oum el Bouaghi , a permis de répertorier 4 souches (S1, S2, S3, S4). L'identification des genres des souches de levure isolées est basée sur l'étude des caractères cultureux (sur milieu solide et sur milieu liquide), les caractères morphologiques cellulaires (mode de multiplication végétative, formation de mycélium et caractéristiques sexuelles) et des propriétés biochimiques et physiologiques (fermentation des sucres et l'assimilation des composés azotés).

Les résultats d'identification permettent probablement isolés des souches (S1, S2, S3, S4) aux Genres : *Citeromyces, Kazachstania, Saccharomyces, Lindnera*, respectivement .

Mots clés :

Levures, Isolement, sol agricole, identification.

Présenté pour l'obtention du diplôme de master

Option : microbiologie et Biologie Moléculaire et Cellulaire

Devant Le jury :

Président : **Mr BOUFENNARA S.** (MCB) Univ . Abbès laghrour-khenchela

Encadreur : **Mme LABBANI F-ZK.** (MAA) Univ . Abbès laghrour-khenchela

Examinatrice : **Mme KHADDOUMA A.** (MAA) Univ . Abbès laghrour-khenchela