



الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE
DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة الإخوة منتوري

Université des Frères Mentouri Constantine

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biochimie/ Biologie Cellulaire et Moléculaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Biochimie de la nutrition

Thème:

**Screening et identification des levures pour la mise en
évidence des**

Présenté et soutenu par : TEMIM Maroua

HAMAIDIA Nesrine

Jury d'évaluation :

Président du jury : NOUADRI T. M.C.A, Université Frères MENTOURI
Constantine.

Encadreur : DAKHMOUCHE S. M.C.A, ENS, ASSIA DJEBAR, Constantine.

Examineur : BENNAMOUN L. M.C.B ,Université Frères MENTOURI Constantine.

Examineur : LABBANI F.Z.K M.C.B, ENS, ASSIA DJEBAR, Constantine

Année universitaire : 2017 – 2018

Remerciements

On voudrait en premier lieu remercier notre dieu Allah qui nous a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.

Nous tenons en second lieu à remercier chaleureusement notre Encadreur Madame DJEKRIF ,DAKHMOUCHE Scheherazed qui a dirigé ce modeste travail de recherche de Master. Nous lui remercions pour tout ce qu'elle nous a apporté, pour ses conseils, sa présence, sa patience, pour nous avoir fait confiance.

Nous remercions également Pr. MERAIHI Z. Directrice du laboratoire de Génie Microbiologique et Applications (GMA).

Nous remercions Monsieur Nouadri Tahar, MCA à la faculté des Sciences de la Vie et de la Nature, d'avoir bien voulu présider le jury de soutenance de ce mémoire.

Grand et respectueux remerciement va à Madame BENNAMOUN Leila et Madame LABBANI ,Fatima-Zohra Kenza , nous sommes fières que vous avez accepté d'examiner et de juger notre travail

Mes remerciement s'adressent aussi à Saddik et Karima Doctorants au laboratoire GMA pour leur aide afin d'achever ce travail .

Enfin, nous tenons également à remercier tous nos professeurs qui nous ont enseigné durant nos études et toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Nesrine et Maroua

Dédicaces

Je tiens à exprimer ma plus profonde reconnaissance à
Ma mère

Celle a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils et pour sa présence dans ma vie.

Mes frères

Ceux n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Une spéciale dédicace à une personne qui a été très paternaliste avec moi
..... Trouvez dans ce modeste travail mes sincères gratitude.

Nesrine

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail
en premier lieu à mes chers parents Temime Nadir et Boudebiza Fatima
pour toutes ces années de sacrifices, que dieu leur procure santé et longue
vie.

A toi papa, qui m'as toujours fait confiance et poussée à donner le
meilleur de moi-même,

A toi maman, qui m'as appris que la persévérance fini toujours par payer
et qui as toujours cru en moi et m'as offert la meilleure des éducations,

A mon frères Mahdi et Abderazzak et ma sœur Sara pour leur amour,

A ma grand-mère et grand-père

A tous les membres de la famille,

A tous mes amis qui m'ont soutenue et aidée ; Soundous , Farida,

kaouther ,Rayene,Rokia ,Wafa, Saousane, Maroua, Amina , Narimene et
Mariem.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes
frères et mes sœurs, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient
en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements. Et à tous
ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible,
je vous dis merci.

Temim Maroua

sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Partie bibliographique	
1. Les levures	3
1.1 Généralités sur les levures	3
1.2 Reproduction des levures	3
1.2.1. Reproduction végétative	3
1.2. 2.Reproduction sexuée	4
1.3.Habitat	4
1.4. Morphologie	4
1.5.filamentisation des levures	5
1.5.1.Pseudomycélium	5
1.5.2.vrai mycélium	5
1.6.Caractéristiques	6
1.6.1. Facteur nutritionnels	6
1.6.1.1.Besoins en carbone	6
1.6.1.2.Besoins en azote	6
1.6.1.3.Minéraux,oligo-éléments et vitamines	6
1.6.2.Besoins physicochimiques	7
1.6.2.1.Effet de la température	7
1.6.2.2.Effet de pH	7
1.6.2.3.L'aération	8
1.6.2.4.La pression osmotique et l'activité d'eau (Aw)	8
1.7. Classification et identification des levures	8
1.7.1.Classification des levures	8
1.7.1.1 Ascomycètes	8
1.7.1.2. basidiomycètes	8

1.7.1.3. Les deutéromycètes	9
1.8. Isolement des levures	9
1.9. Techniques d'identification	9
1.9.1. Caractéristiques phénotypiques	9
1.9.2. Caractéristiques physiologiques	9
1.9.3. Caractéristiques génomique	9
1.9.4. Techniques de fermentation	10
1.9.5. Techniques d'Assimilation	10
1.10. Biotechnologie et levures	10
1.10.1. Boissons alcoolisées	10
1.10.2. Panification	11
1.10.3. Affinage des fromages	11
1.10.4. Production d'enzymes et de protéines recombinantes	11
1.10.5. Production d'alcools industriels	11
1.10.6. Production d'enzymes	12
2. Enzymes industrielles	12
2.1. L' α -amylase	13
2.1.2. Structure	13
2.1.3. Mode d'action de l' α -amylase	14
2.1.4. Applications industrielles	15
1.5. levures productrices d' α -amylase	16
2.2. Maltase EC 3.2.1.20	17
2.2.1. Synonymes	17
2.2.2. Mode d'action	18
2.2.3. Substrat	18
2.2.4. Applications de la maltase en industrie	19
2.3. Estérasés	20
2.3.1. Définition	20
2.3.2. Structure	20
2.3.3. Nom officielle d'enzyme	20
2.3.4. Sources d'estérasés	21
2.3.5. Substrat	21
2.3.6. Mécanisme d'action	22

2.3.7.Utilisation industrielle de Estérases	23
2.4. Lipases	23
2.4.1. Applications de lipase	24
2.4.2.Mode d'action et substrat	24
2.4.3.levures productrice le lipases	24
2.4.4.Application industrielle	25
2.5.Pectinases (EC 3.2.1.15)	25
2.5.1. Définition	25
2.5.2. Nomenclature	26
2.5.3. Mode d'action	26
2.5.4. Microorganismes producteurs de la pectinase	27
2.5.5. Utilisation industrielle de la pectinase	27
2.6.Cellulase E.C.3.2.1.4	28
2. 6.1. Définition	28
2.6.2. Mode d'action	28
2.6.3. Les levures productrices de la cellulase	29
2.6.4. Utilisation industrielle de la cellulase	30
2.7.Laccases EC 1.10.3.2	31
2.7.1.Difinition	31
2.7.2.Structure et substrat des laccases	32
2.7.3Mécanisme de l'action de la laccase	33
2.7.4.Utilisation industrielle de laccase	34
2.7.5. Micro-organismes producteurs de laccase	34
2.8. Urease (EC 3.5.1.5)	35
2.8.1. Définition	35
2.8.2.Structure	35
2.8.3.Mode d'action	35
2.9. Les protéases (EC 3.4.21-24.x)	36
2.9.1.Définition	36
2.9.2.Mode d'action des protéases	37
2.9.3.Applicatin indutriel des protéases	37
2. 9.4.Industrie alimentaire	37
2.9.5.Levures productrices de protéases	38

Matériels et méthodes

1.Echantillonnage	39
2.Isolement	40
2.1.Milieux d'isolement	40
2.2. Préparation des solutions mère	40
2.2.1. Solution mère du yaourt	40
2.2.1. Solution mère de déchet de pomme de terre	40
2.2.1. Solution mère de lemzeiet	41
2.3.Préparation des dilution	41
2.4.Repiquage des souches:	41
3. Purification des souches	41
4. Conservation des souches	41
5.Composition physico-chimique de solustions mères	42
5.1.Dosage des sucres (Dubois et al., 1956)	42
5.2.mesure le pH de solution mère d'échantillon de l'isolement	42
6.Sélection des souches	42
7.Mise en évidence des activités enzymatiques	42
7. 1.Détermination de l'activité cellulasique	43
7. 2.Détermination de l'activité maltasique	43
7.3.Détermination de l'activité de pectinase	43
7.4.Détermination de l'activité d'etérase	43
7.5.Détermination de l'activité de laccase	44
7.6.Détermination de l'activité α - amylasique (dégradation de l'amidon)	44
7.7.Détermination de l'activité de lipase :	44
7.8.Détermination de l'activité de protéase	44
7.9.Détermination de l'activité d'uréase	44
8.Ensemencement des milieux	45
9.Révélation	45
10. Sélection de la souche la plus performante pour la production d'enzymes	46
11. Identification des levures	46
11.1. Caractéristiques morphologique	46
11.1.1.Aspects en milieu liquide	46
11.1.2. Aspects en milieu solide	46

11.1.3. Caractéristiques microscopiques	46
11.1.3.1. Forme et taille des cellules	46
11.1.3.2. Mode de reproduction	46
11.1.3.3. Test de filamentation	47
11.2. Caractéristiques physiologiques	47
11.2.1. Fermentation des sucres	47
11.2.1.1. Milieu de base YP (Yeast Peptone)	47
11.2.1.2. Solutions des sucres	47
11.2.1.3. Ensemencement	48
11.2.2. Assimilation de substrats carbonés	48
11.2.3. Assimilation de substrats azotés	48
12. Identification des levures sélectionnées	49
Résultats et discussion	
1. Composition biochimique des solution mère	50
2. Isolement des souches de levures	51
3. Sélection des souches	53
4. Mise en évidence des activités enzymatiques	53
5. Sélection des souches les plus performante pour la production d'enzymes	66
6. Identification des levures	66
6.1. Les caractéristiques morphologiques	66
6.1.1. Caractéristiques macroscopiques	67
6.1.1.1. Aspect en milieu liquide	67
6.1.1.2. Aspects en milieu solide	67
6.1.2. Caractéristiques microscopiques	68
6.1.3. Mode de reproduction	70
6.1.1.2.3 Test de filamentation	71
6.2. Caractéristiques physiologiques	72
6.2.1. Fermentation des sucres	72
6.2.2. Assimilation de substrats carbonés et de substrats azotés	74
Conclusion générale et perspectives	75
Références bibliographiques	78
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

AE : Activité enzymatique

BGL : β -glucosidases

CaCl₂ : Chlorure de Calcium.

EC : Enzym Commission number.

EDTA: Ethylène diamine tétraacétique acide

EGL : endoglucanases

G6PD : Glucose-6-phosphate déshydrogénase

GANAB : Acide Alpha-Glucosidase AB

GH : glycosides hydrolases

Glu : Glutamate.

GMA: Génie microbiologique et application

GRAS : Generally Recognised As Safe

HG : homogalacturonane

J:jour

M : molaire

M :Lemzeiet

MS: Matière sèche

NAD⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADP⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

P : Déchet de pomme de terre

PDA :Potato Dextrose Agar

PE : pectinestérase

PG : polygalacturonase.

PGL : polygalacturonate lyase

PM : Poids Moléculaire

SDS : Sodium dodécylsulfate.

TG : Triglycéride

Trp : Tryptophane.

UI : Unité Internationale

USD: United States Dollar.

YCB :Yeast Carbon Base

YGC:Yeast extract Glucose Chloramphenicol

YNB :Yeast Nitrogen Base

YP :Yeast Peptone

YPCA: Yeast extract-Peptone-Cellulose-Agar

YPGA: Yeast extract-Peptone-Glucose-Agar

YPMA: Yeast extract-Peptone-Maltose-Agar

YPPA: Yeast extract-Peptone-Pectin-Agar

YPSA: Yeast extract-Peptone-Starch

Liste des figures

Figure 01 : Reproduction chez <i>Clavispora lusitaniae</i> ABS7	3
Figure 02 : L'aspect morphologique d'une levure	5

Figure 03 : Filamentisation des levures.	5
Figure 04 : Structure tridimensionnelle d' α - amylase d'après Kalis	14
Figure 05 : Mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques	15
Figure 06 : Structure monomérique de la maltase liée à 4-O- α -D-Glucopyranosyl-D-glucose	17
Figure 07: Mode d'action de la maltase	18
Figure 08 : Réaction d'hydrolyse de l'ester carboxylique par la carboxylestérase.	21
Figure 09 : Différents substrats hydrolysés par la carboxylestérase	22
Figure 10: Mécanisme d'action de la carboxylestérase	23
Figure11 : Structure de l'acide polygalacturonique (pectine)	26
Figure 12: Mécanisme d'hydrolyse de la cellulose par la cellulase	29
Figure13 : Structure chimique d'une portion du site actif de la laccase montrant l'emplacement des atomes de cuivre impliqués dans la réaction enzymatique	32
Figure 14: Echantillonnage de l'isolement des levure	39
Figure 15: Courbe étalon des sucres totaux	42
Figure 16: Strie longitudinale à la surface du milieu gélosé pour le test de filamentation	47
Figure17 : Taux de glucides des trois solutions mère étudiées	50
Figure18 : pH de solution mère d'échantillon	50
Figure19: Fréquence des souches levuriennes	52
Figure 20: Couleurs des isolats	52
Figure 21: Fréquence des souche productrice α -amylase	56
Figure22: Mise en évidence de l' α -amylase	56
Figure23 : Fréquence des souche productrice cellulase	57
Figure 24 : Mise en évidence de cellulase	57
Figure25_: Fréquence des souche productrice maltase	58
Figure 26 : Mise en évidence de maltase	58
Figure27_: Fréquence des souche productrice protéase	59
Figure28 : Mise en évidence de protéase	59
Figure29: Fréquence des souche productrice lipase	60
Figure30 : Mise en évidence de lipase	60

Figure31_: Fréquence des souche productrice laccase	60
Figure32: Mise en évidence de laccase	61
Figure33 : Fréquence des souche productrice Pectinase	61
Figure34: Mise en évidence de pectinase	62
Figure35_: Fréquence des souche productrice estérase	62
Figure36_: Mise en évidence de estérase	63
Figure37_: Fréquence des souche productrice uréase	63
Figure38: Mise en évidence de uréase	63
Figure39: la résultat positif et négatif pour le test de fermentation	74
Figure40: résultats de substrats carbonés	78
Figure41_: résultat d'assimilation de substrat azoté	78

Liste des tableaux

Tableau 1 : Intérêt des vitamines et leurs coenzymes dans le métabolisme	7
Tableau 2: Production et utilisation de certaines enzymes levuriennes	12

Tableau 3: .Enzymes industrielles produites par les levures	16
Tableau 4: Levures productrices d'α-amylase	16
Tableau 5: synonymes de maltase	17
Tableau 6: Levures productrice le lipases	25
Tableau 7: Les microorganismes producteurs de la pectinase	27
Tableau 8: Exemples levures productrices de la cellulase	30
Tableau 9 : Applications industrielles de la cellulase	31
Tableau10 : Origine de souches sélectionnées	53
Tableau 11 : Mise en évidence des activités enzymatiques des 38 souches de levures sélectionnées .	54
Tableau 12: Souches les plus performantes pour la production d'enzymes	66
Tableau13 : Caractères culturaux des souches de levures isolées sur milieu YPG liquide	67
Tableau 14 : Caractères culturaux des souches de levures isolées	68
Tableau 15 : Caractères morphologiques des souches de levures isolées	69
Tableau16 : Mode de reproduction des levures	70
Tableau17 : Filamentation des levures	71
Tableau18 : Résultats du test de fermentation de différents sucres par les isolats de levures	73
Tableau19: Résultats des tests d'assimilation des glucides et des sources azotées des souches de levures isolée.	76

Introduction générale

Introduction

Depuis longtemps, la production d'enzymes est dominée par les bactéries et les moisissures : les plus couramment utilisées *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens* et *A. niger* car elles ont la capacité de produire de grandes quantités d'enzymes. Elles produisent environ 60% des enzymes disponibles sur le marché. Peu d'études ont été réalisées sur la production d'enzymes à utilisation industrielle par les levures. Les levures ne sont pas aussi omniprésentes que les bactéries dans l'environnement naturel, mais elles peuvent néanmoins être isolées du sol, de l'eau, des aliments, des plantes, des animaux et des insectes.

Environ 1000 espèces de levure ont été décrites, mais de nouvelles espèces sont régulièrement caractérisées et il y a une biodiversité considérable de la levure inexploitée sur Terre (Walker, 2009). Par exemple, il a été estimé (en 1996) que seulement 0,065% des genres de levure (62 000 au total) et 0,22% espèces de levures (total 669 000) ont été isolées et caractérisées.

Cela signifie qu'il existe un immense fossé dans nos connaissances concernant la biodiversité disponible des isolats naturels sauvages de levure.

En effet, le marché mondial des enzymes est représenté par 80% des hydrolases, particulièrement les amylases et les protéases (Morvan, 2010). La demande de différentes enzymes est en augmentation continue. En Algérie, les enzymes utilisées dans diverses industries (panification, biscuiterie, amidonnerie...etc) sont importées en totalité, ceci a un effet néfaste sur l'économie du pays d'où la nécessité de la production de ces enzymes dans des ateliers locaux en utilisant des souches locales

Les enzymes de levures 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. La recherche de nouvelles enzymes de levures possédant un potentiel d'application industrielle continue à se développer. Des levures comme *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Hansenula polymorpha* sont utilisées actuellement pour la production industrielle de protéines et d'enzymes, y compris les protéines pharmaceutiques (Johnson et Echavarri-Erasum, 2011). Les levures *Yarrowia lipolytica* et *Rhodotorula glutinis* sont utilisées grâce à leur capacité à produire des lipases, dans les industries du pétrole, en blanchisserie, en industrie des détergents et dans les IAA (Burden et Eveleigh 1990 and Gholam and Sahebeh, 2013). Dans notre étude, l'accent sera mis sur la production d'enzymes amylolytiques en particulier, l' α -amylase et la pullulanase chez la levure *Clavispora lusitaniae*. A ce jour, peu d'études ont été menées sur la levure *Clavispora lusitaniae*.

Dans notre étude portant sur la production qualitative de différentes enzymes à utilisation industrielle : α -amylase, protéase, maltase, pectinase, lipase, estérase, cellulase, uréase, laccase ; nous avons choisi les levures comme producteurs, vu leur remarquable capacité à coloniser et à exploiter une grande variété de substrats (Leveau et Bouix, 1993) et donc probablement une remarquable production d'enzymes extracellulaires.

Notre étude consiste, premièrement, à l'isolement des levures à partir des aliments comme lemzeiet et le yaourt et des déchets alimentaires comme les pelures de la pomme de terre. deuxièmes, à la mise en évidence de différentes enzymes chez les levures sélectionnées et troisièmes essai d'identification des souche levurienne par la méthode conventionnelle.

Chapitre 2

Matériel et méthodes

Ce modeste travail a été réalisé au niveau de laboratoire de génie microbiologique et application (GMA) département de biochimie biologie cellulaire et moléculaire faculté des sciences de la nature et de la vie Université des frères Mentouri Constantine. Le but est la recherche d'enzymes d'intérêt biotechnologique produites par des levures locales.

1.Echantillonnage

Les levures dans notre étude sont isolées à partir de trois échantillons :

- ❖ Denrées alimentaire



Yaourt

Lemzeiet

- ❖ Déchets alimentations :



Pelures de pomme de terre

Figure 14: Echantillonnage de l'isolement des levure

a. Yaourt

Il est composé de lait reconstitué, sucré, aromatisé, acheté du marché local Constantine

b. Lemzeiet

Produit d'agriculture, traditionnel de l'Est Algérien, procuré du marché local de Constantine et conservé dans des récipients fermés hermétiquement.

c. Pelures de pomme de terre

Déchet alimentaire domestique conservé dans des récipients fermés hermétiquement

2. Isolement

2.1. Milieu d'isolement

Le milieu utilisé pour l'isolement est le milieu YGC (Yeast extract Glucose Chloramphenicol) sa composition est la suivante :

Extrait de levure :5g/l

Glucose :20g/l

Chloramphenicol :0.1g/l(antibactériennes)

Agar :20g/l

Stérilisation à 120°C pendant 20 min.

2.2. Préparation des solutions mère

2.2.1. Solution mère du yaourt

L'isolement de levures est réalisé à partir de 10 g de yaourt, ajoutés à 90 ml de l'eau distillée stérile, bien agiter

2.2.1. Solution mère de déchet de pomme de terre

L'isolement de levures est réalisé à partir de 10 g de déchets pomme de terre, ajoutés à 90 ml de l'eau distillée stérile.

2.2.1. Solution mère de lemzeiet

L'isolement de levures est réalisé à partir de 10 g de lemzeite, et 0.45% de tween 80 ajoutés à 90 ml de l'eau distillée stérile., bien agiter

2.3. Préparation des dilutions

-Après homogénéisation, préparer une série de dilutions décimales de la solution mère jusqu'à 10^{-7} (Jerome et *al.*, 2004).

-Couler le milieu YGC stérile dans des boites de pétri

-Après solidification du milieu, 100 µl de chaque dilution sont étalés, séparément, sur la surface du milieu avec un râteau.

Incuber à 25°C pendant 2-7 jours

Des observations quotidiennes de l'aspect macroscopique et microscopique des isolats sont réalisées.

2.4.Repiquage des souches

- Après l'observation macroscopique des isolats, les levures sont repiquées sur milieu YPGA (annexe 1) par la méthode des stries

-Incuber à 25°C pendant 3 jours

3. Purification des souches

La purification des levures est effectuée par la méthode des stries sur YPGA (annexe 1). L'incubation des souches est effectuée à 25°C pendant 2 à 3 jours (John et Michael, 2007).

4. Conservation des souches

Les souches pures sont conservées sur le milieu YPGA (annexe 1) à 4°C pour une courte durée et sur milieu incliné de YPGA + glycérol à -20°C pour une longue durée.

5.Composition physico-chimique des solutions mère

5.1.Dosage des sucres (Dubois et *al.*, 1956)

L'acide sulfurique concentré provoque à chaud la déshydratation des oses avec la formation d'hydroxy-méthyl furfural (cas d'un hexose) et d'un furfural (cas d'un pentose). Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des composés colorés ; l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en oses

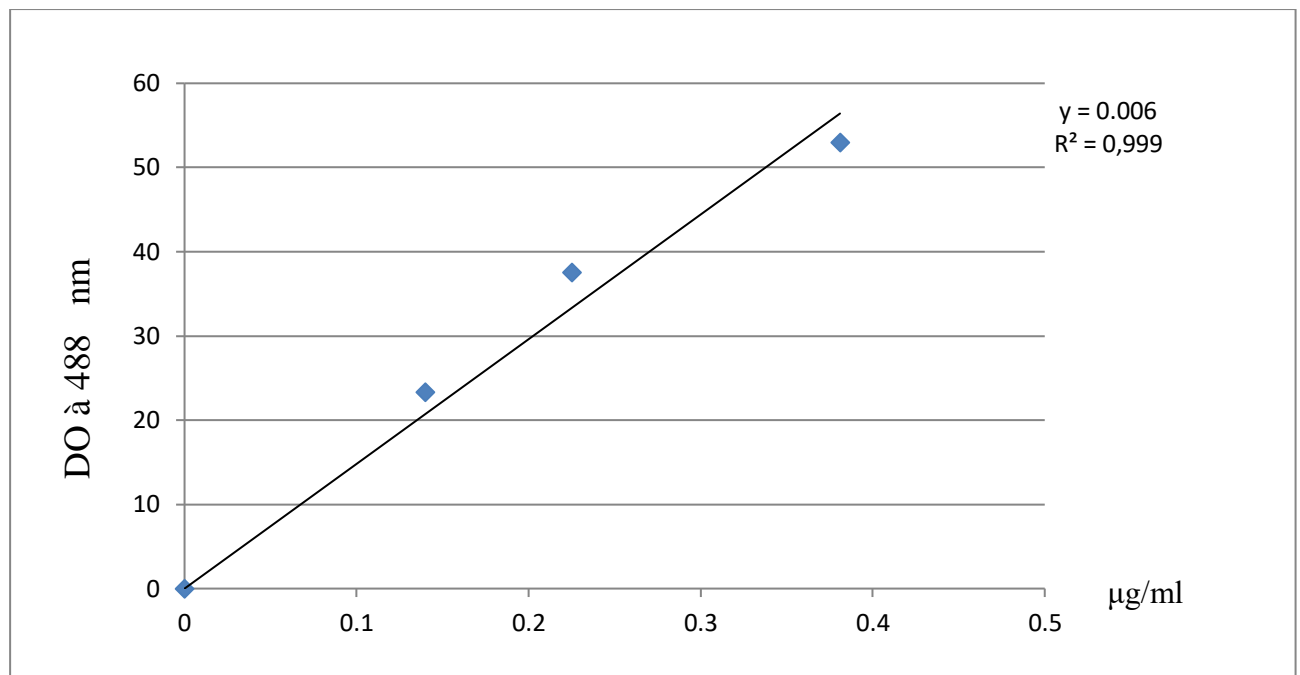


Figure 15: Courbe étalon des sucres totaux

5.2. Mesure du pH des solutions mère des échantillons de l'isolement

Après filtration des échantillons, le pH des solutions mère est mesuré à l'aide d'un pH mètre.

6. Sélection des souches

La première sélection des souches levuriennes est basée sur la croissance rapide sur YPGA à 25 °C

7. Mise en évidence des activités enzymatiques

La production d'enzymes est recherchée qualitativement sur milieu solide. Les enzymes à étudier sont : α amylase, cellulase, pectinase, laccase, estérase, protéase, lipase, maltase et uréase.

7. 1. Détermination de l'activité cellulosique

Cette activité est réalisée par le milieu YPCA (*Yeast Peptone Cellulose Agar*) g/l:

Cellulose 1%
Extrait de levure 5g
Peptone 10g
Agar 20g
Stérilisation à 120 °C pendant 20 min.

7.2.Détermination de l'activité maltasique

Cette activité est réalisée par le milieu **YPMA** (*Yeast Peptone Maltose Agar*)g/l :

Extrait de levure 5g
Peptone 10g
Maltose 20g
Agar 20g
Stérilisation à 120 °C pendant 20 min

7.3.Détermination de l'activité de pectinase

Le milieu utilisé pour la mise en évidence de cette l'activité est **YPPA** (*Yeast Peptone Pectin Agar*)g/l :

Extrait de levure 10g
Peptone 10g
Pectine 20g
Agar 20g
Stérilisation à 120 °C pendant 20 min

7.4.Détermination de l'activité d'etérase

Le milieu préparé pour la mise en évidence de cette l'activité est le suivant :

NaCl 0.1g/l
CaCl₂.2H₂O 20g
Peptone 20g/l
Agar 20g/l
tween 80 :10ml
Stérilisation à 120 °C pendant 20 min.

7.5.Détermination de l'activité de laccase

Le milieu utilisé pour la mise en évidence de cette l'activité est le suivant :

Amidon de pomme de terre 50g/l

Glucose 20g/l

Bleu de bromophéno1 0.2 %

Agar 20g/l

Stérilisation à 120 °C pendant 20 min

7.6.Détermination de l'activité α - amylasique (dégradation de l'amidon)

Le milieu utilisé pour la mise en évidence de cette l'activité est le suivant :

YNB (Yeast Nitrogen Base) 6.7 g/l

Amidon 2g/l (Tatsinkou et *al.*, 2005)

Stérilisation à 120 °C pendant 20 min.

7.7.Détermination de l'activité de lipase

Le milieu utilisé pour la mise en évidence de cette l'activité est le suivant :

NaCl 5g/l

CaCl₂, 2H₂O 0.1g/l

Peptone 10 g/l

Agar 20g

Tween 20 :10ml (Tehreema *et al.*, 2011)

Stérilisation dans autoclave à 120 °C pendant 20 min.

7.8.Détermination de l'activité de protéase

Le milieu utilisé pour la mise en évidence de cette l'activité sont :

Agar 20 g/l

Stérilisation à 120 °C pendant 20 min, après refroidir 40°C dans un bain marie

Ajouter 100g/1L de lait écrémé (Juszczuk *et al.*, 2005).

7.9.Détermination de l'activité d'uréase

Le milieu utilisé pour la mise en évidence de cette l'activité est de Christensen additionné de 20g/l d'urée (Annexe 1).

Stérilisation par filtration.

8. Ensemencement des milieux

Préparer des suspensions à partir des cultures levuriennes jeunes.

Ensemencer par dépôt de goutte de suspension au centre du milieu (deux répétitions pour chaque levure).

Incuber à 25°C pendant 3 à 5 jours.

9. Révélation

L'activité est révélée par l'apparition d'une zone claire de forme anneau entourant la croissance de levure.

-Pour les enzymes : estérase, laccase, uréase, protéase et lipase, la zone est révélée

directement sans détecteur :

-La présence d'enzymes lipolytiques se distingue par précipitation des cristaux autour des colonies (forme anneau) en raison de la dégradation des sels de l'acide gras qui constitue le Tween 80 (Tehreemaet *al.*, 2011).

-La présence d'enzymes protéolytiques se distingue par la formation d'anneau clair autour des colonies qui traduit une dégradation des caséines du milieu et donc une présence d'enzymes protéolytiques (Juszczak *et al.*, 2005).

-La présence d'enzymes laccase se distingue par la formation d'un anneau jaune.

-L'activité de l'estérase se distingue par la formation d'anneau clair autour des colonies

-La réaction positive pour l'uréase se traduit par une coloration rouge violacée par contre une teinte jaune du milieu indique une réaction négative (Guiraud, 1998).

-L'activité α -amylasique est révélée par : inondation des boîtes de Pétri avec la solution de lugol 1 (annexe 1) laisser agir pendant 15 min qui colore spécifiquement l'amidon non dégradé en bleu-violet (Perrier *et al.*, 1997 ; Prat, 2007). L'anneau clair sur le pourtour des souches indique la dégradation de l'amidon

-L'activité pectinolytique est révélée par : le lugol 2 (annexe 1), laisser agir pendant 20 min. L'activité pectinolytique est mise en évidence par l'apparition

de zones claires forment un anneau autour des colonies (FernandesSalomão TM et al., 1996).

-L'activité enzymatique de la cellulase et de la maltase est révélée par le rouge congo 1%(annexe 1),laisser agir 15 à 20 min puis rinçer par le NaCl (annexe 1), laisser agir 20 min, les activité sont mise en évidence par l'apparition de zones claires qui forment un anneau autour des colonies.

Nous avons mesuré le diamètre des zones de lyse pour chaque enzyme et pour chaque levure.

Faible activité : Diamètre inférieur à 2 mm

Activité moyenne : Diamètre entre 2-10 mm

Et forte activité : Diamètre supérieur à 10 mm

10. Sélection de la souche la plus performante pour la production d'enzymes

A partir des résultats de la mise en évidence des activités enzymatiques, on a sélectionné des souches représentant une grande capacité de production d'enzymes.

11. Identification des levures

L'identification des levures isolées, selon les méthodes conventionnelles, repose sur la détermination de divers caractères cultureux, morphologiques et physiologiques (Kurtzman *et al.*, 2011a)

11.1. Caractéristiques morphologiques

11.1.1.Aspect en milieu liquide

Les souches pures sont ensemencées sur milieu YPG liquide et incubées 3 jours à 25°C. Au cours de cette incubation, on vérifie la présence d'un trouble ou non, d'un voile, d'un anneau, de dépôt granuleux poussiéreux et la formation de gaz.

11.1.2. Aspects en milieu solide

Les souches pures sont repiquées sur YPGA par la méthode des stries. Les boîtes sont incubées 3 jours à 25°C puis laissées à la lumière et à la température ambiante pour favoriser l'apparition éventuelle de pigment.

L'observation des colonies est réalisée afin de décrire leur forme (contour régulier ou irrégulier, convexes ou concaves), leur aspect (brillant ou mat, visqueuse) et leur couleuretc.

11.1.3. Caractéristiques microscopiques

11.1.3.1. Forme et taille des cellules

Afin de déterminer la forme, la taille des cellules des levures. L'examen microscopique est effectué pour des cultures jeunes en YPG et YPGA (24-48 h à 25°C) sur une lame à l'état frais (grossissement x40 et/ou grossissement x100).

11.1.3.2. Mode de reproduction

Reproduction asexuée :

Elle observée sur une lame à l'état frais (grossissement x40 et/ou grossissement x100). Cette étude est réalisée sur des cultures jeunes en milieu YPGA.

Reproduction sexuée (sporulation) :

Le milieu PDA (annexe 1) estensemencé par le levure. Il est incubé de 7 à 10 J à 25 °C. Un étalement sur lame a été effectué et l'observation au microscope à l'état frais et réalisée (grossissement x40 et/ou grossissement x100).

11.1.3.3. Test de filamentation

L'aptitude à la filamentation est observée à partir d'une culture sur milieu PDA en boîte de Pétri. La levure à examiner estensemencée en une strie longitudinale à la surface du milieu gélosé

Une lamelle stérile est ensuite placée sur le centre de la strie. L'observation microscopique (grossissement x40 et/ou grossissement x100).est réalisée durant le période de 3 à 7 J.

La présence du mycélium et la colonie ainsi que sa nature sont notées



Figure 16: Strie longitudinale à la surface du milieu gélosé pour le test de filamentation

11.2. Caractéristiques physiologiques

11.2.1. Fermentation des sucres

Le test se fait selon la méthode classique l'étude s'effectue dans tubes à essai contenant chacun une cloche de Durham, 4ml de milieu de base et les 2ml de solution du sucré à testé

11.2.1.1. Milieu de base YP (Yeast Peptone)

La composition du milieu de base YP est la suivant :

Extrait de levure 4.5g/l

Peptone 7.5g/l

11.2.1.2. Solutions des sucres

Les sucré testé sont le D-glucose, le D-galactose, le saccharose, le D-maltose, cellulose, le D-lactose, le xylose, amidon soluble et le D-raffinose

Préparer la solution du sucre à tester 2% de chaque sucre (2g) dans 100 ml d'eau distillée exception pour le D-raffinose 4% (4g) dans 100ml
Stériliser à 120°C pendant 20 min .

11.2.1.3. Ensemencement

Préparer une suspension à partir de chaque jeune souche.

Ensemencer 100 µl de la suspension levurienne dans les tube, la présence de gaz dans la cloche, témoigne la fermentation du sucre incriminé.

11.2.2. Assimilation de substrats carbonés

L'étude de l'assimilation des sources carbonées est réalisée sur milieu minimum YNB, additionné de 0.5 % de source de carbone: pour 100 ml de l'eau distillé nous ajoutons 6.7 g de YNB et 5g de source carbonés .Ce milieu est stérilisé par filtration (diamètre, $\varnothing = 0.22 \mu\text{m}$), puis réparti dans des tubes contenant 4.5 ml d'eau distillée stérile (0.5 ml/tube).

Les substrats carbonées testées sont : le D-glucose, le D-galactose, le saccharose, le D- maltose, le lactose ,le raffinose ,l'arabinose,le manitole ,rhamnose, sorbitole, D-xylose, amidon soluble, cellubiose, inositol, sorbose.

L'inoculation des milieux par 100 μl des suspensions des souches.

L'assimilation de la source carbonée se traduit par le milieu trouble indiquant la croissance de la souche dans le milieu après incubation à 25°C pendant 72 h à 03 semaines.

11.2.3. Assimilation de substrats azotés

Les sources azotées testées sont : nitrate de potassium (KNO_3), cystéine , tryptophane ,leucine, acide aspartique, alanine, thréonine, acide glutamique ,glutamine, guanine et adénine

Le sulfate d'ammonium et peptone sont utilisées comme témoin positif

Le milieu utilisé dans cette étude est YCB(Yeast Carbon Base) (annexe 1)

Préparer les solutions azotés (solution acide aminé) à 1% (1g de source azoté dans 100ml d'eau distillée)

Ensemencer le milieu de base YCB (stérile) en masse avec 1 ml de levure et bien mélanger.

Après solidification du milieu, déposer les disques stériles imprégnés des solutions azotées susmentionnée

Incuber 3 à 7 Jour à 25°C

Observer la croissance de la levure autour du composé azoté

12. Identification des levures sélectionnées

Les résultats obtenus sont comparés avec ceux de Kurtzman et al., 2011 afin d'essayer d'identifier les genres des 05 souches levuriennes.

Résultats et discussion

1.Composition biochimique des solution mère

Le dosage des glucides par la méthode de Dubois (1956) et la mesure du pH des trois solutions mère des échantillons: yaourt, lemzeiet et pelures de pomme de terre ont été effectués. Les résultats sont présentés dans la figure17et 18.

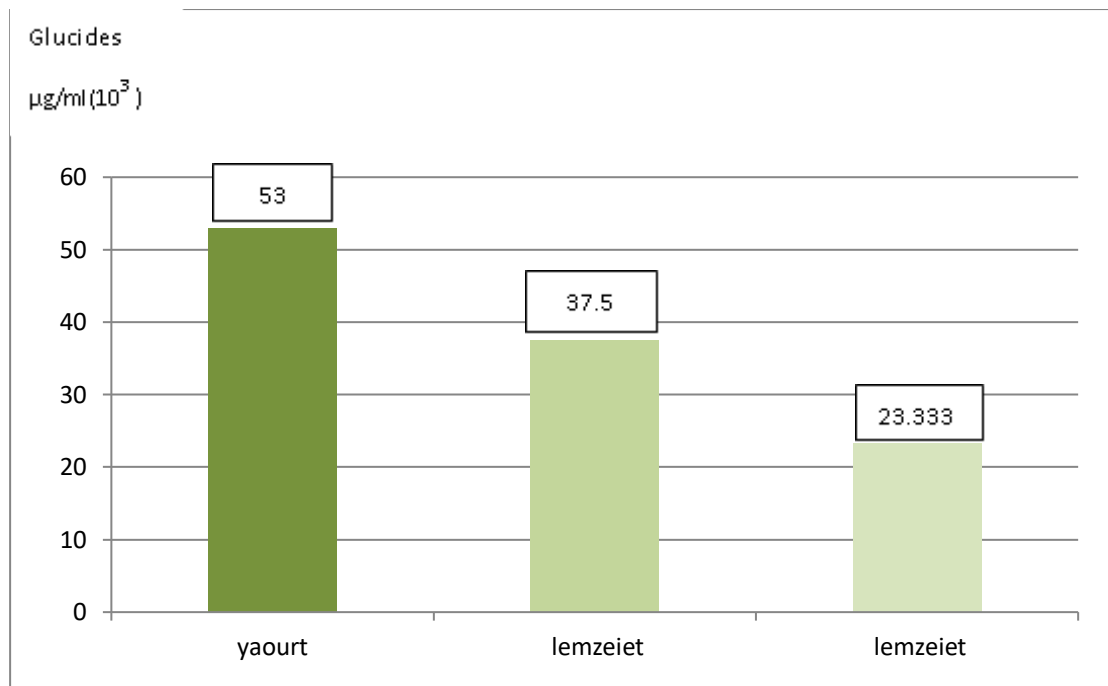


Figure17 : Taux de glucides des trois solutions mère étudiées

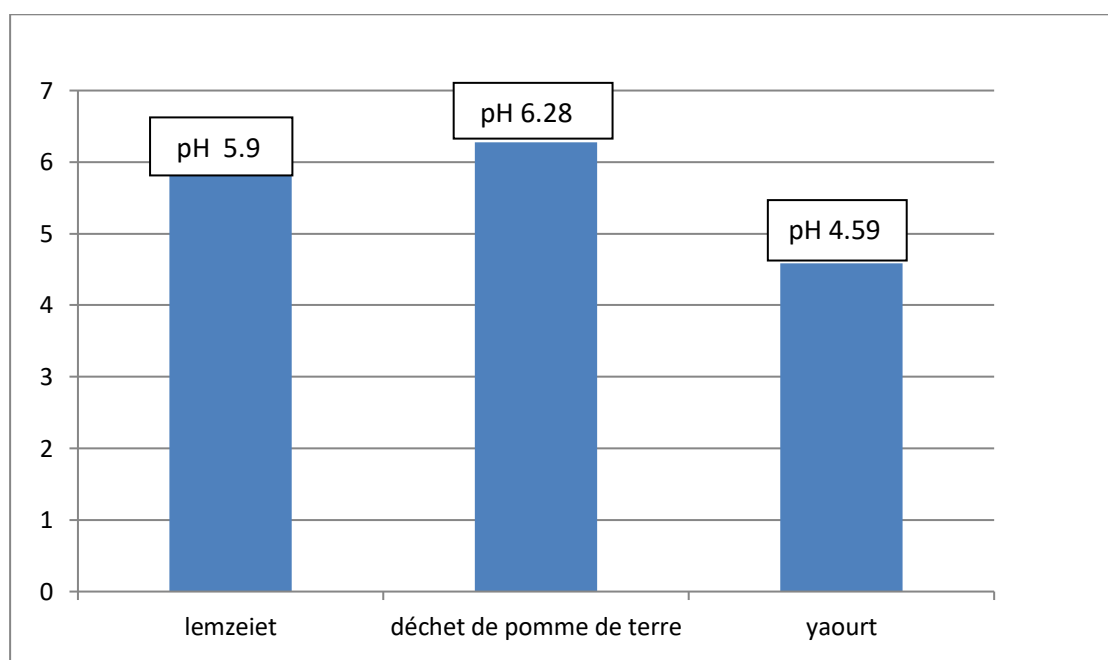


Figure18 : pH des solution mère des échantillons

D'après les figures 17 et 18, on constate que les trois échantillons ont un pH acide de 4.59, 5.9 et 6.28 pour le yaourt, lemzeiet et déchet de pomme de terre respectivement.

Le taux des glucides est de 0.318 pour le yaourt ,0.225 pour lemzeiet et 0.140 pour les déchets de pomme de terre .Ces résultats sont en accord avec la bibliographie:

- Pour les déchets de pomme de terre, il s'est avéré leur richesse en acides aminés essentielles à l'exception de l'acide glutamique et des acides aminés soufrés (cystéine et méthionine), elle renferme aussi des composés antioxydants (Gravouelle, 1996).

La composition chimique de la pomme de terre est : Matière sèche , Fibres brutes , Amidon(dégradation de l'amidon),Sucres réducteurs , Azote total , Azote protéique , Acide citrique ,Thiamine (vitamine B1) ,Cendres,calcium ,magnésium ,potassium , sodium (Yaganza, 2005)

-pour lemzeiet (blé fermenté) il riche en Amidon, Protéines, Sucres réducteurs,Fibres ,cendre (Saulnier, 2012).

-pour grain de blé il riche en glucides (amidon , fibres et pentosanes), protéine , gluten, lipides , minéraux , enzymes(lipase , lyoxygénase) et Vitamine (Gouasmi et al.,2017)

-Et pour le yaourt en plus du lactose sucre du lait on a ajouté du sucre , selon se composition sur l'emballage : arôme calcuim laitier ,ferments lactiques ,matier grass.

2.Isolement des souches de levures

L'isolement des levures à partir de trois échantillons 2 denrées alimentaires :yaourt (Y) et Lemzeiet(M) et un déchet alimentaire: dechet de pomme de terre (P) a permis l'obtention de quatre-vingts souches levuriennes figure 19

Ces souches ont donné une bonne croissance sur les milieux YGC et YPGA, après l'incubation à 25°C pendant 2 à 7 jour.

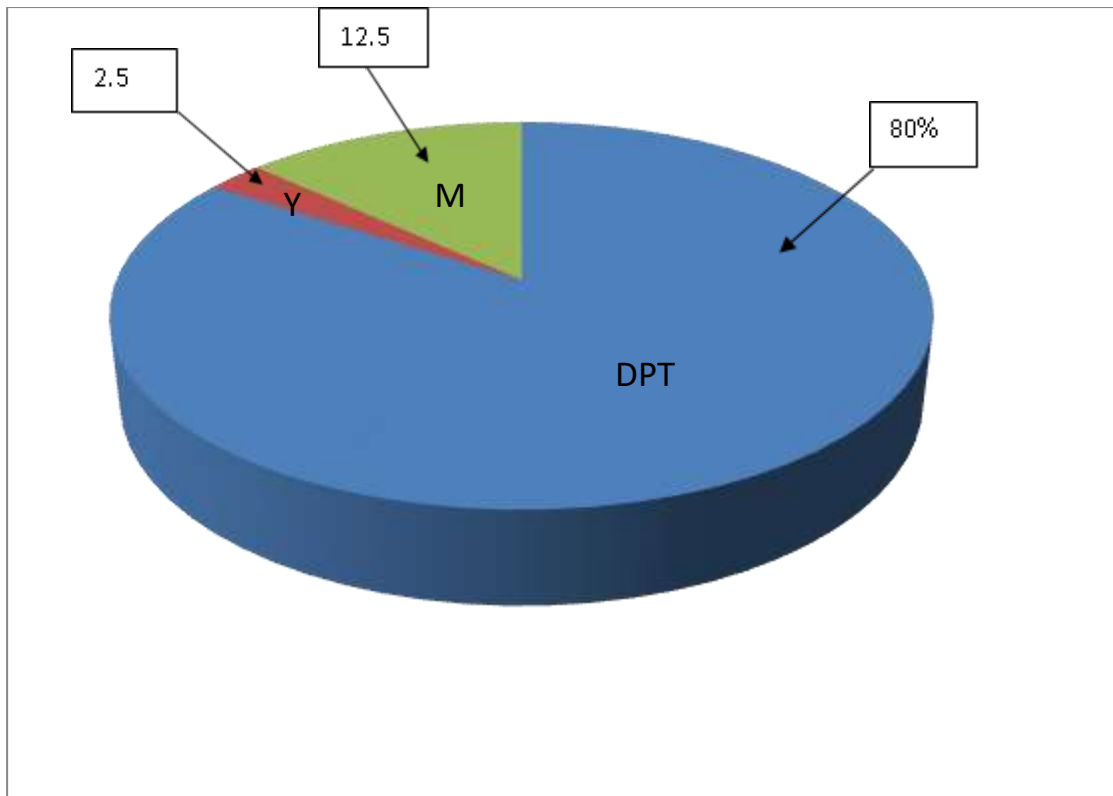


Figure 19: Fréquence des souches levuriennes

Le nombre de levures isolées par échantillon varie entre 24 et 38.
 Nous avons constatée une forte densité de levure dans les déchets de pomme de terre..

Les résultats ont montré des levures de différentes couleurs :blanche, crème et corail figure 20.



Blanche



Corail



Crème

Figure20: Couleurs des isolats

Les denrées alimentaires (yaourt, lemzeiet) ainsi que les déchets issus de l'alimentation (déchet de pomme de terre) ont permis l'isolement d'un nombre important de levures (80 souches) car riches en glucides (figure 17) et d'autres nutriments comme les protéines, les lipases...etc (Gravouelle, 1996 ; Yaganza, 2005 ; Saulnier, 2012 ; Gouasmi *et al.*, 2017), et selon la bibliographie, les levures préfèrent, pour leur habitat, les milieux contenant les glucides (Oteng-Gyang, 1984 et Jimoh *et al.*, 2012; Greppi *et al.*, 2013; Adewara *et al.*, 2013).

Conclusion partiel

Les denrées alimentaires et les déchets issus de l'alimentation sont des niches microbiennes intéressantes pour l'isolement des levures.

3. Sélection des souches

Une quarantaine de souches à croissance rapide sur YPGA à 25°C a été sélectionnée (tableau 10).

Tableau 10 : Origine de souches sélectionnées

Origine	Code de souche
Déchet de pomme de terre	P1,P2,P3,P4,P5,P6,P7,P8,P9,P10,P11,P12,P13,P14,P15,P16,P17,P18,P19,P20,P21,P22,P23,P24,P25,P26,P27,P28,P29,P30,P36,P37
Lemzeiet	M31,M32,M33,M34,M35
Yaourt	Y38

On remarque qu'un nombre important des levures sélectionnées (34 souches) est d'origine des déchets de pomme de terre. Pour lemzeiet et le yaourt, 05 souches et 01 souche ont été sélectionnées respectivement.

4. Mise en évidence des activités enzymatiques

Ce test est réalisé pour mettre en évidence la production de 09 enzymes : α -amylase, cellulase, pectinase, laccase, estérase, protéase, lipase, maltase, uréase pour les levures sélectionnées sur des milieux solides et spécifiques (appropriés pour chaque enzyme).

Après révélation spécifique (voir chapitre matériel et méthodes), les résultats sont rapportés dans le tableau 11 et les figures 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36 et 38.

Tableau 11 : Mise en évidence des activités enzymatiques des 38 souches de levures sélectionnés .

Enzyme Souche	α -amylase (cm)	CMCase (cellulase) (cm)	Maltase (cm)	Protéase (cm)	Lipase (cm)	Laccase (cm)	Pectinase (cm)	Estérase (cm)	Uréase (cm)
P 1	-	-	-	+ 1.8	-	-	-	+ 2	-
P2	-	+	+ 0.7	+1.7	+ 2	-	-	+ 2.5	-
P3	-	+ 1.6	-	+ 1.5	-	-	-	-	-
P4	+ 2.8	+ 1.5	-	+ 1.6	+1.4	-	+ 2.5	-	+
P5	-	+1.3	+ 0.8	+ 1.2	-	+ 3.5	+ 1.3	+ 1.2	+
P6	-	+ 1.4	+0.7	+ 1.3	+ 1.5	-	+	+ 2.7	-
P7	-	+ 1	-	+1.4	+2	-	+	+ 2.4	-
P8	-	+	-	+1.9	-	-	-	+ 1.7	-
P9	-	+ 1.5	+1	+2	+1.3	-	-	+ 2.4	-
P10	-	+0.9	-	+ 1.6	-	-	-	+ 1.8	-

P11	-	+1.2	+ 1	+ 2	+ 1.6	-	+	+ 2	-
P12	-	+ 1.4	-	+ 1.9	+ 2	-	+	+ 2.2	-
P13	-	-	+ 1	+ 1.7	+ 2.4	-	-	+ 3	-
P14	-	-	-	+ 1.4	+ 2.3	-	+	+ 2.8	+
P15	-	+0.7	-	+ 1.4	+ 1.8	-	+	+ 3.5	+
P16	-	-	+ 1	+ 1.4	-	-	+	+ 1.3	-
P17	-	+ 0.7	+ 1	+ 2.4	+ 1.6	-	-	+ 2.8	-
P18	+	+ 1	+ 1.2	+ 2.3	+ 2.2	-	-	+ 3	-
P19	-	-	+ 1.3	+ 1.9	-	-	-	+ 1.7	-
P20	-	+ 2.8	-	-	+ 3	-	+	-	-
P21	-	-	-	+ 3.5	+ 2.8	-	+	-	-
P22	-	+ 1.4	-	+ 3.5	+ 2.5	-	-	-	-
P23	-	+ 1.5	-	+ 4	+ 2.5	-	-	-	-
P24	-	-	+ 1.4	-	+ 2.8	-	-	-	-
P25	-	-	+ 1.3	-	+2.4	-	+	+ 3	-
P26	-	-	+ 1.4	-	+	-	+	+ 2.8	-
P27	-	-	+ 1.5	-	+	-	+ 1	+3	-

P28	-	-	+1.5	+4	+	-	-	+2.7	-
P29	-	+1.2	-	+4	-	-	-	+3.2	-
P30	-	+1.5	+1.4	+4.4	+	-	-	+2.8	-
M31	-	+1.9	-	+4.8	-	-	-	+2	-
M32	-	+1.2	-	+4	+2.7	-	-	+	-
M33	+2.3	+1.8	+0.9	-	+3.3	-	+	+3.5	-
M34	-	+1.4	+1.4	-	-	-	+2	+4	-
M35	-	+2.5	+0.8	+3.8	+4	-	+2.8	+4	-
P36	-	-	-	-	+3.5	-	+1.7	+3.5	-
P37	-	+1	-	+3.5	+3.3	-	+1.5	+5	+
Y38	+2.7	+4.8	-	+3.9	+3.2	-	+2	+4.5	-

+

test positif , - test négatif , P:déchet de pomme de terre ,M:lemzeiet , Y:yaourt .

D'après notre étude, les différentes souches sélectionnées ont montré une grande capacité d'activités enzymatique à savoir :

- ✓ **α -amylase**: l'étude a montré que 4 souches (P4, P18, M33 et Y38) sont productrice de cette enzyme (tableau 11) car ,elles montrent après révélation avec lugol des zones claires figure 22. Elles sont réparties selon l'origine comme suit : 50% de déchets de pomme de terre, 25% de yaourt et 25% de lemzeiet. Et les résultats indiquent, aussi, que la meilleure levure pour la production de l' α -amylase est la souche P4 puisque qu'elle montre la meilleure zone de lyse (2,8 cm) (tableau 11).

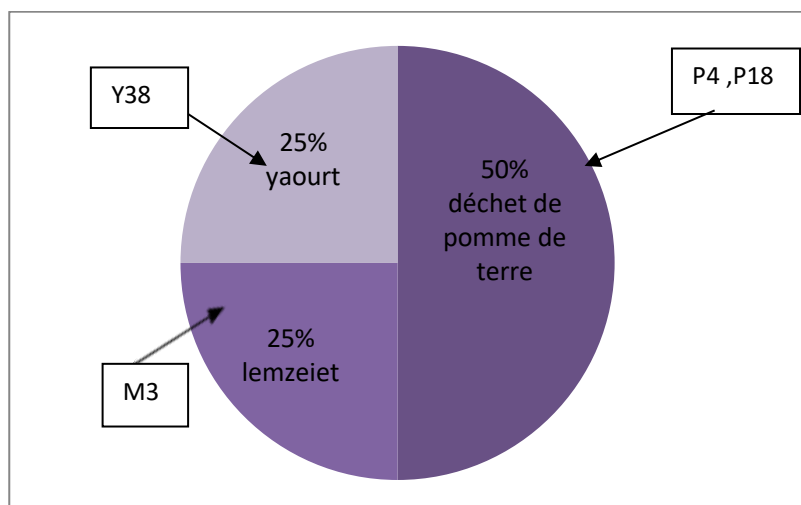
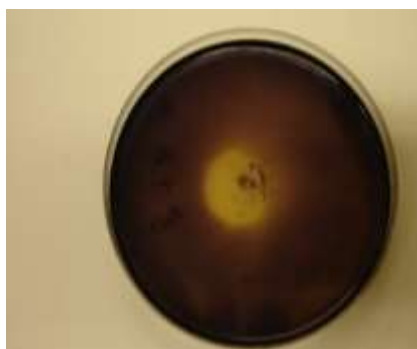


Figure21 : Fréquence des souches productrices d' α -amylase



Souche M 33

Figure22 : Mise en évidence de l' α -amylase

- ✓ **CMCase (cellulase)**: 24 souche sont productrice de cette enzyme (tableau 11)figure 23 car ,elles montrent après révélation avec rouge congo des zone claire forme anneau figure 24. Les résultats révèlent que 75% des souches sont d'origine de déchets de pomme de terre, 20,83% isolées à partir de lemzeiet et 4, 17% proviennent du yaourt.

La meilleure souche productrice de CMCase est la souche Y38 (zone de lyse de 4,8 cm) (tableau 11).

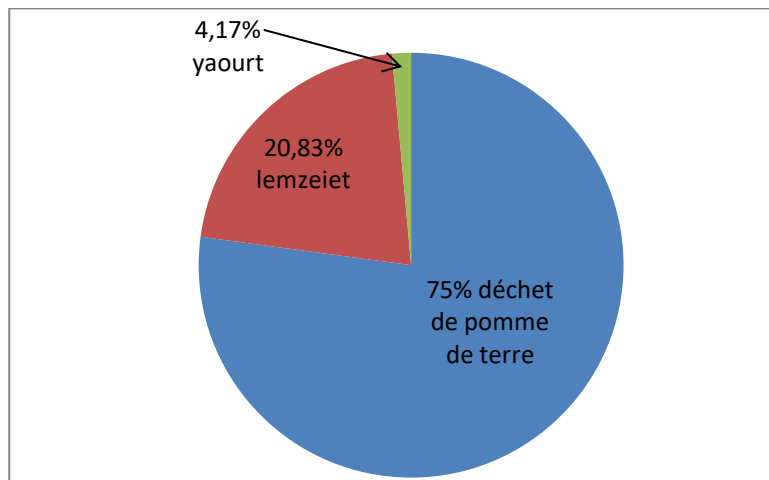


Figure23 : Fréquence des souches productrices de cellulase

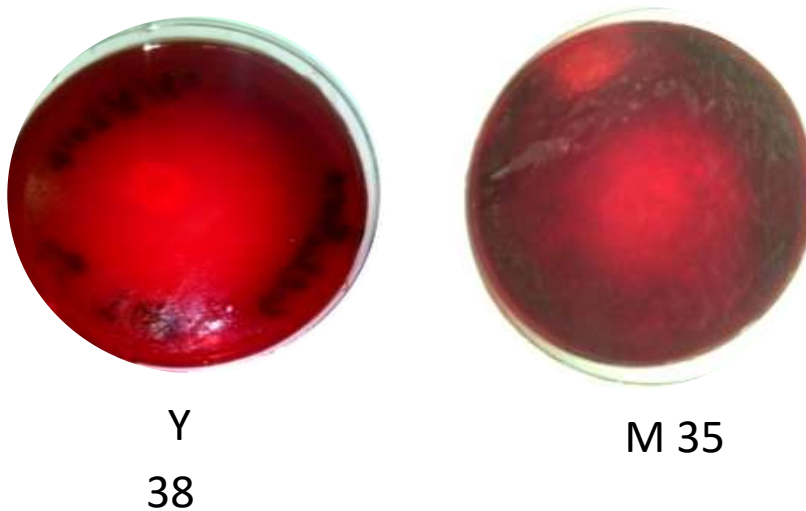


Figure24 : Mise en évidence de cellulase

- ✓ **Maltase** : Les souches productrices de cette enzyme, dans cette étude, sont 20 souches (tableau 11) et après révélation avec rouge congo, elles montrent des zones claires de forme d'anneau (figure 26). 85% et 15% de ces souches sont d'origine de déchets de pomme de terre et de lemzeiet respectivement (figure 25). Les meilleures souches pour la synthèse de cette enzyme sont P27 et P28 suivies de P24, P26, P30 et P34 avec les meilleures zones de lyse (tableau 11).

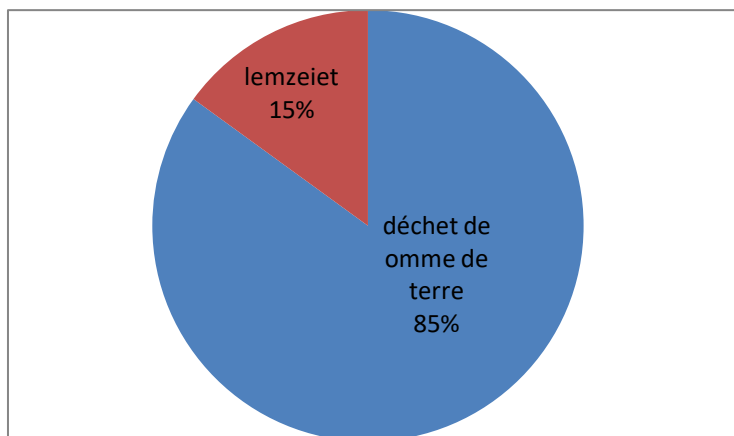


Figure25 : Fréquence des souches productrices de maltase



Souche P25



Souche P30

Figure26: Mise en évidence de maltase

✓ **Protéase** : l'étude a montré que 30 souches sont productrices de cette enzyme (tableau 11)

car, elles montrent après révélation des zones claires figure 26. Leur répartition est comme suit : 87% sont procurés de déchets de pomme de terre, 10% proviennent de lemzeiet et 3% sont d'origine du yaourt (figure 25). La souche la plus performante pour la production de cette enzyme est M31(zone de lyse de 4,8 cm) (tableau 11).

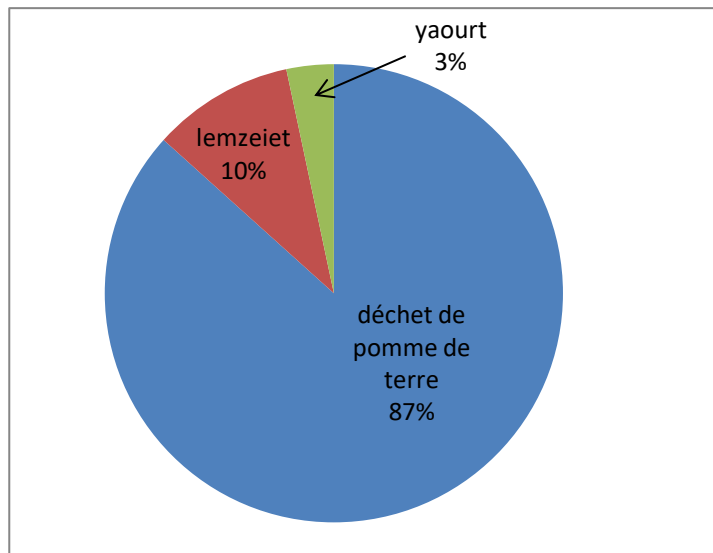


Figure27 : Fréquence des souches productrices protéase



Souche M 30 et M 31



Souche Y38

Figure28 : Mise en évidence de protéase

✓ **Lipase** : l'étude a montré que 28 souches sont productrices de cette enzyme (tableau 11) car ,elles montrent après révélation des précipitation des cristaux autour des colonies figure 30 La répartition des souches productrices de lipase est la suivante : 82,143% sont d'origine de déchets de pomme de terre, 14,286 % et 3,57% proviennent de lemzeiet et du yaourt respectivement (figure 29). La meilleure souche pour la lipase est M35 (zone de lyse 4 cm)

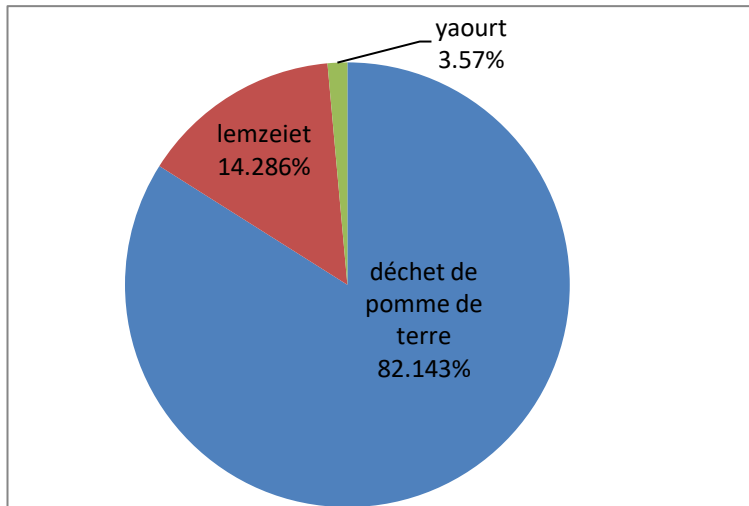


Figure29 : Fréquence des souches productrices de lipase



Souche M 35



Souche M 33

Figure30 : Mise en évidence de lipase

- ✓ **Laccase**: cette étude montre qu'une seule souche P5 est productrice de cette enzyme (tableau 11), car elles montrent après révélation un anneau jaune de 3,5 cm (figure 32). Elle est issue de déchets de pomme de terre (figure 31)



Figure31 : Fréquence des souches productrices de laccase



Souche P5

Figure32 : Mise en évidence de laccase

- ✓ **Pectinase** : La révélation avec le lugol révèle que 20 souches sont productrice de cette enzyme (tableau 11) car, elles montrent des zones claires (figure 34). 75% de ces souches sont d'origine de déchets de pomme de terre, 20% sont isolées à partir de lemzeiet et 5% proviennent du yaourt (figure 33). La meilleure souche pour cette enzyme est M35 avec une zone de lyse de 2,8 cm (tableau 11).

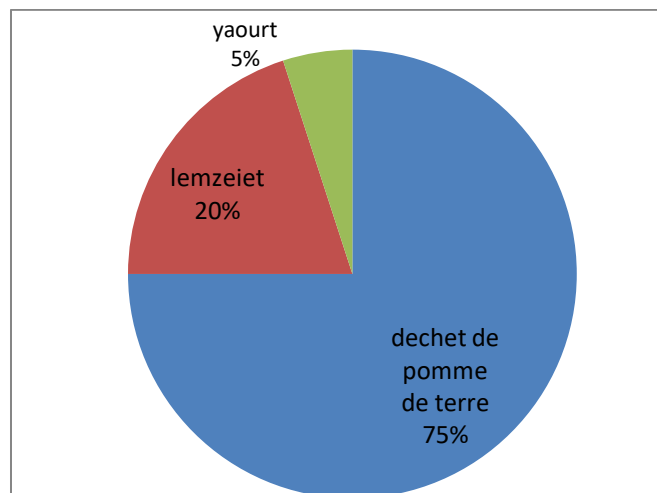


Figure33 : Fréquence des souches productrices de pectinase

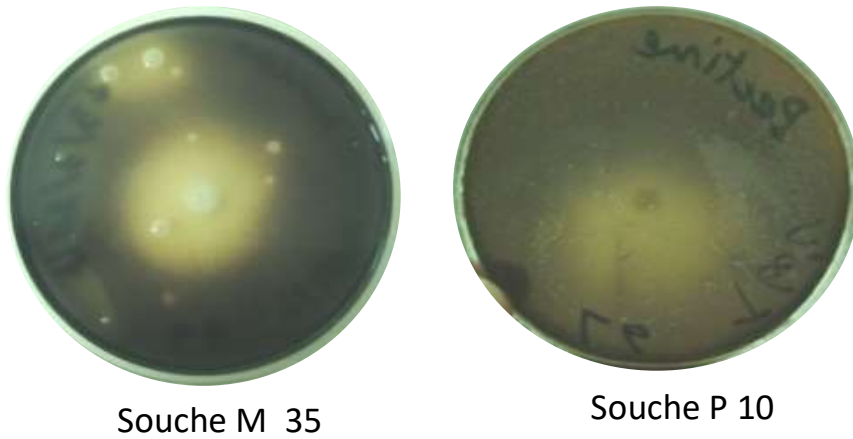


Figure34 : Mise en évidence de pectinase

- ✓ **Estérase** : 32 souches sont productrices de cette enzyme (tableau 11) car ,elles montrent après révélation un anneau clair (figure 36). La souche la plus performante pour l'activité d'estérase est P37 avec une zone de lyse de 5cm (tableau 11). 78% des souches productrices de'estérase sont d'origine de déchets de pomme de terre, 19% sont isolées de lemzeiet et 3% du yaourt (figure 35).

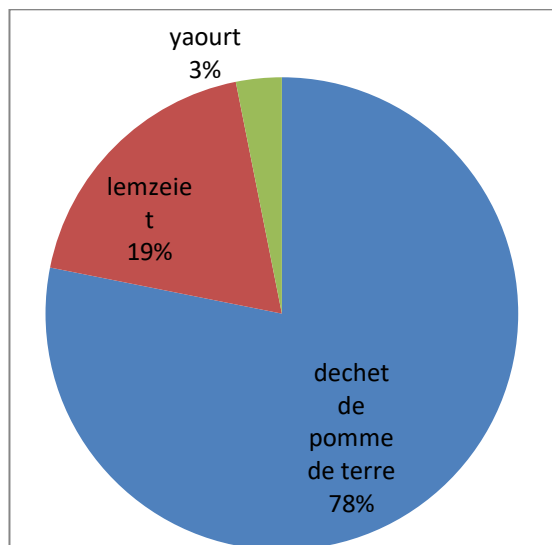


Figure35 : Fréquence des souches productrices d'estérase.



Souche P37

Figure36 : Mise en évidence d'estérase

- ✓ **Uréase** : l'étude montre que 05 souche isolées de déchets de pomme de terre sont productrice de cette enzyme (tableau 11 ; figure 37) car, elles montrent après révélation une coloration rouge violacée figure 38.

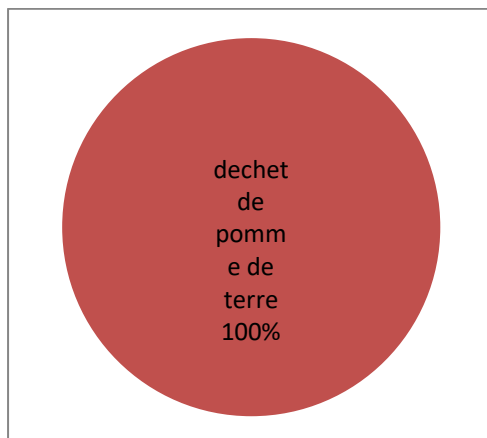


Figure37 : Fréquence des souches productrices d'uréase



Souche P4



Souche P 14 et P 15

Figure38 : Mise en évidence de uréase

Différentes études ont isolées les levures à partir de différents échantillons : végétaux, déchets agro-alimentaires, denrées alimentaires,.....

Feillet., 2000 a isolé, une trentaine de souches levuriennes amylolytiques, à partir des grains de blé. Par sa composition riche en amidon, en matière azotée et en matière minérale, le grain de blé constitue une bonne source pour l'isolement de levures.

Ouédraogo, 2012 a étudié vingt cinq souches de levures isolées à partir de déchets de pommes de terre, dix souche amylolytiques (productrices d' α -amylase) ont été identifiées à savoir : *Candida utilis* (3 souches), *Candida guilliermondii* (02 souches), *Trichosporon mucoides* (01 souche) , *Candida pelliculosa* (01 souche) , *Candida lusitaniae* (01 souche), *Candida ciferri* (01 souche) , *Candida famata* (01 souche) .

Hossam et al.,2011 : Cent quatre-vingt dix huit espèces de levures ont été isolées à partir de canne à sucre, de déchets de traitement de croustilles (Tels que les pommes, les raisins, les prunes et les figues) avec une attention particulière aux fruits pourris et en décomposition (obtenus sur le marché local d'Assiout, Assiout, Egypte).

Silvia., 2001 : 577 isolats de levure ont été isolés à partir du yaourt. Les souches appartiennent à 10 types de levures: *Debaryomyces hansenii* , *Saccharomyces cerevisiae* , *Hansenula spp.*, *Mrakia frigida* , *Candida parapsilosis*, *Debaryomyces castellii* , *Candida maltosa*, *Schizosaccharomyces pombe* , *Candida mogii* et *Kluyveromyces marxianus* .

Ozmen et al.,2013 : 96 isolat de levure isolée à partir de yaourts produits selon des méthodes traditionnelles dans la région nord-est de l'Anatolie de Turquie

Merabti. ,2015 : une flore de levure isolé de blé dure et de blé fermenté (lemzeiet).

Dakhmouche.,2016 : Une trentaine de souches levuriennes ont été isolée à partir des grains de blé dont une douzaine de souches de levures productrices d' α -amylase et de pullulanase thermostables.

Dali et al.,2016 ont étudié l'activité d' α -amylase et de maltase à partir de levures isolées par Dr Dakhmouche-Djekrif Schehrazad ,2016 à partir des grains de blé d'une région aride.

Shahida.,2004 : a isolée 165 souches de levure à partir de 100 échantillons de sol ont été prélevés dans 10 régions comprenant 10 sites .Les levure obtenu : *Lipomyces starkeyi* , *L. tetrasporus*, *D. hansenii* var. *Fabryi* et *D.occidentalis* , *Debaryomyces polymorphus*, *Dipodascus spicifer*, *Galactomyces geotrichum*, *G. reessii*, *Kluyveromyces lactis*, *L. kononenkoeae*, *L. mesembrius*, *L.spencermartinsiae*, *Pichia anomala*, *P. fabianii*, *P. guilliermondii* , *Yarrowia*, Cinq isolats qui ont été classiquement identifiés, comme *Lipomyces*

Labrani.,2015 : L'isolement des levures à partir d'un sol agricole a permis l'obtention de 15 souches appartenant à : *Saccharomycétales (Hanseniaspora uvarum , Pichia kluyveri , Hanseniaspora opuntiae , Meyerozyma guilliermondii et Saccharomyces cerevisiae)*

Aichour .,2017 : deux souches *Meyerozyma guilliermondii* et *Clavispora lusitaniae* ABS7 isolées d'écosystèmes arides, région de Biskra, Sud Algérien . Les deux souches levuriennes montrent une activité α -amylasique, maltasique, cellulasique et pectique.

Bennamoun , 2017 a isolée une vingtaine de souches de levures à partir du sol de la région d'El-M'gheir Wilaya d'El-Oued, les souche ont été identifiées : 02 souches de *Clavispora lusitaniae*, 02 souches de *Cryptococcus magnus*, 12 souches de *Meyerozyma guilliermondii* ; cette levure a montré une activité de lipase et d'estérase ,01 souche d'*Aureobasidium pullulans* produit de différentes activités enzymatiques : pectinase , amylase ,estérase ,protéase et lipase , 03 souches de *Yarrowia lipolytica* ont donné des activités enzymatiques pour la lipase et l'estérase.

Simon et Meunier, 1970 ; Sicard, 1982 ; Liese et al., 2000 ; Wong et al., 2002 ; Pandey, 2006 ; Sikander et al., 2010 et Johnson et Echavarii, 2011 ont étudié différentes levures productrices d'enzymes comme *Lipomyces starkeyet* et *Schwanniomyces castellii* productrices d' α -amylase .*Candida pseudotropicali*, *Klyveromyces fragilis* et *Candida sp.* productices de lactase .

nCandida lipolytica , Candida rigosa, Saccharomycopsis lipolytica ,Pseudozyma Antarctica Trichosporon fermentum et *Yarrowia lipolytica* productrice de lipase .

Lo Chi-Ming et al., 2009 :*Candida bombicola* produit la cellulase.

Boonvitthya et al., 2013 : *Yarrowia lipolytica* est productrice de cellulase.

Thongekkaew et al., 2014 : *Candida easanensis* produit la cellulase.

Bhatia et al., 2015 : *Pichia stipitis* est productrice de cellulase.

Van Zyl et al., 2016 : *Saccharomyces cerevisiae* produit la cellulase.

Wang et al., 2016 : *Clavispora NRRL* est productrices de cellulase.

Aline et al .,2011 : 89 isolats de levure, collectées dans différents sites de l'Antarctique (Admiralty Bay, King George Island et Port Foster Bay et Deception Island) sont : *Aureobasidium pullulans ,Bensingtonia yamatoana , Candida glabrosa ,C. sake 2 ,C. spencermartinsiae , C. zeylanoides ,Cryptococcus antarcticus ,Cr. victoriae ,Debaryomyces hansenii Dioszegia aurantiaca ,D. crocea , D. hungarica ,Dioszegia sp,Exophiala xenobiotica , Filobasidium spIssatchenkia (Pichia) orientalis,Kodamaea ohmeri , Leuconeurospora sp, Leucosporidiella creatinivora , L. fragaria , L. muscorum ,Leucosporidium scottii ,Metschnikowia australis ,Microglossum sp.1 ,Microglossum sp. 2, Nadsonia commutate , Pichia guilliermondii , Rhodotorula glacialis , Rhodotorula. laryngis*

,*Rhodotorula. mucilaginosa* , *Sporidiobolus salmonicolor* . Les activités de cellulase et d'estérase étaient les plus fréquentes, elles sont présentées dans 76% des isolats.

Les isolats de *victoriae* ont été capables d'hydrolyser la cellulose, et la plupart des isolats *L. scottii* pourraient hydrolyser la protéase et la pectinase

Ratledge et Tan (1990) ont examiné la production de lipases extracellulaires par les levures, mais les données sur les levures de vin n'ont pas été présentées. L'étude a révélé que plusieurs levures de vin (*C. stellata*, *C. pulcherrima*, *C. krusei*, *T. delbrueckii* et *C. colliculosa*) ont le potentiel de produire une activité lipolytique extracellulaire.

5. Sélection des souches les plus performante pour la production d'enzymes

-Nous avons sélectionné 5 souche qui ont représenté la grande capacité de production d'enzyme à savoir :P5,P10,M35,P37et Y38 .

Tableau 12: Souches les plus performantes pour la production d'enzymes

Code des souche	Performance enzymatique
P5	Capable de produire 0 7enzymes : cellulase, maltase, protéase, laccase, pectinase , estérase et uréase Elle présente la seule souche levurienne productrice de laccase
P10	Révèle la présence de 03 enzymes : cellulase, protéase et estérase Elle est caractérisée par la croissance rapide
M35	Produit 06 enzymes :cellulase, maltase, protéase, lipase, pectinase et estérase)
P37	Présente 06 activités enzymatiques :cellulase, protéase, lipase, pectinase, estérase et uréase.
Y38	06 enzyme sont détectées : α -amylase, cellulase, protéase, lipase, pectinase et estérase. Le diamètre des zones de lyse de ces enzymes est intéressant

6. Identification des levures

6.1. Caractéristiques morphologiques

Les observations microscopiques et macroscopiques de la morphologie des cellules en milieu liquide et en milieux solide est variable d'une souche à une autre


6.1.1. Caractéristiques macroscopiques

Sur milieu YPG et YPGA, on a étudié la forme, la taille ,couleur ...etc.

6.1.1.1. Aspect en milieu liquide

Après d'incubation 14 à 28 jour à 25°C l'observation des cultures a montré la formation d'un dépôt qui représente la masse cellulaire (tableau13).

Tableau13 : Caractères culturaux des souches de levures isolées sur milieu YPG liquide






Code des souche	jour	Caractères culturaux sur milieu liquide				Vue le résultat sur tube
		Dépôt	Anneau	Pellicule	voile	
P5	14	+	-	-	-	 <p>La forme Dépôt</p>
	21	+	-	-	-	
	28	+	-	-	-	
P10	14	+	-	-	-	
	21	+	-	-	-	
	28	+	-	-	-	
M35	14	+	-	-	-	
	21	+	-	-	-	
	28	+	-	-	-	
P37	14	+	-	-	-	
	21	+	-	-	-	
	28	+	-	-	-	
Y38	14	+	-	-	-	
	21	+	-	-	-	
	28	+	-	-	-	

(+ : présence ; - : absence).

6.1.1.2. Aspects en milieu solide

Après culture de 3 jours à 25°C sur milieu YPGA , les résultat sont présentés dans le tableau 14. Il ressort que le plupart des souches possèdent en commun la forme ronde, la surface lisse et bombée excepté la souche 37 qui a une surface Plate . quand à la couleur des souches, elle est blanche ou crème.

Tableau 14 : Caractères cultureux des souches de levures isolées après une culture de 3 jours sur YPGA à 25°C .




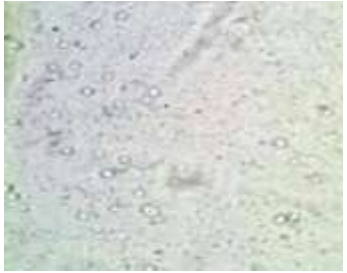
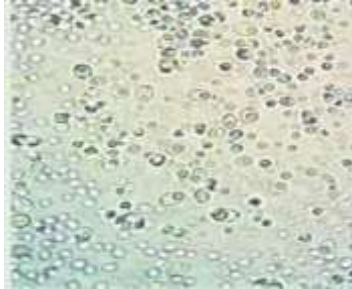
Code des souche	Caractères cultureux sur milieu solide	Aspet des souche
P5	Ronde, la surface lisse bombée, crème brillante et crémeuse	
P10	Ronde, la surface lisse bombée, blanche, brillante et crémeuse	
M35	Ronde, la surface lisse bombée, crème et mate	
P37	Ronde, la surface lisse plate, crème, brillante et visqueuse	
Y38	Ronde, la surface lisse bombée ,blanche brillante et crémeuse	

6.1.2. Caractéristiques microscopiques

L'observation microscopique permet de déterminer la forme et la taille des cellules des levures sélectionnées (tableau15).La forme des cellules est ou ovoïde, ovoïde allongées. Les

cellules peuvent se reproduire par bourgeonnement(unipolaire) ou plusieurs bourgeonnement (bipolaire et multilatérale) (tableau 15)





Tableau 15 : Caractères morphologiques des souches de levures isolées cultivées pendant 3 jours à 25°C dans YPGA.

Codes des souches	Forme et taill des cellule microscopique	Aspect microscopique (grossissement x 100)
P5	-Cellules ovoïdes Petite et grand -Bourgeonnement multilatéral.	
P10	-Cellules ovoïdes allongées Petites -Bourgeonnement multilatéral.	
M35	-Cellules ovoïdes Petites et grandes -Bourgeonnement multilatéral.	
P37	-Cellules globuleuses Petites -Bourgeonnement monopolaire	
Y38	Cellules ovoïdes Petite et grand Bourgeonnement multilatéral.	

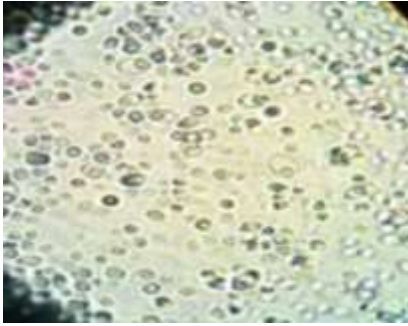
6.1.3.Mode de reproduction:

L'étude de la reproduction sexuée sur milieu YPGA et asexuée sur milieu PDA a été réalisée et les résultats sont récapitulés dans le tableau16

Tableau16 : Mode de reproduction des levure

Codes des souches	Mode de reproduction			Aspect microscopique (grossissement x 100)
	Sexuée (sporulation)	asexuée		
		bourgeonnement	mitoses	
P5	+	+	-	
P10	+	+	-	
M35	+	+	-	
P37	-	+	+	

Y38	+	+	+
-----	---	---	---





(+ : présence ; - : absence).

6.1.1.2.3 Test de filamentation

Le test de filamentation sur le milieu PDA révèle la présence de pseudomycélium chez la souche Y38 et de vrai mycélium chez les souche P5 et P10 alors que chez les souches M35 et P37, on note l'absence de mycélium (Tableau 17).

Tableau17 :filamentation de levures

Codes des souches	Présent de Filamentaion		Aspect microscopique (grossissement x 100)
	pseudomycellium	vrai mycélium	
P5	-	+	
P10	-	+	
M35	-	-	

P37	-	-	
Y38	+	-	

+ : présence de filamentation; - : absence de filamentation

6.2. Caractéristiques physiologiques

Les caractéristiques physiologiques sont obtenues à partir des tests de fermentation et d'assimilation de substrats carbonés et de substrats azotés par la méthode classique

6.2.1. Fermentation des sucres

Les résultats de la fermentation des sucres par les levures sélectionnées sont regroupés dans le tableau 18

Le test positif de la fermentation est reflété par la présence du gaz dans la cloche (figure 39).

Tableau18 : Résultats du test de fermentation de différents sucres par les isolats de levures (+ : présence ; - : absence).

Code des souches	jour	Fermentation de sucres								
		Glucose	Galactose	cellubiose	D-xylose	Raffinose	Amidon soluble	Maltose	Saccharose	lactose
P5	3	-	+/-	-	-	-	-	+/-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-
P10	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M35	3	-	-	-	-	+	-	-	+/-	-
	7	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P37	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Y38	3	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	-	-	-	-	-	-	-	-	+

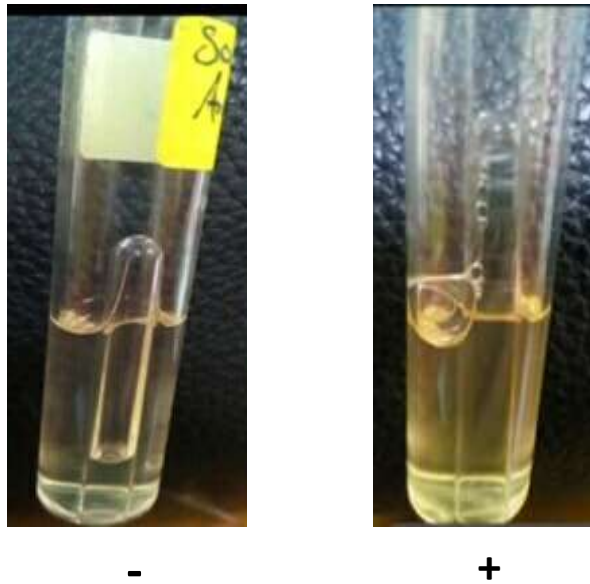


Figure39:Résultat du teste de fermentation

De ce tableau, il ressort que :

- la souche P5 est capable de fermenter: le galactose et le maltose (après 3 jour d'incubation) , le lactose (après 28 jours d'incubation)
- la souche P10 n'est pas capable de fermenter les sucres
- la souche M35 fermente le raffinose, le saccharose (après 3 jour d'incubation), le glucose et le saccharose (après 7 jour d'incubation)
- la souche P37 fermente uniquement le glucose (après 03 jours d'incubation)
- la souche Y38fermente le D-xylose (après 03 jours d'incubation) et le lactose (après 28 jour d'incubation)

6.2.2.Assimilation de substrats carbonés et de substrats azotés :

L'ensemble des résultats de l'assimilation de différent substrat carbonés et azotés sont regroupés dans le tableau 19 ;

Le résultat positif correspond au milieu trouble (figure40) et à la formation des colonies autours des disques (figure41).

D'après les résultats présentés dans le tableau19, il ressort que :

Les souches isolées sont capables d'assimiler les glucides testés à l'exception de :

La souche P5 et Y38 qui n'assimilent pas le cellobiose

La souche P10, M35 et P37 n'assimilent pas le lactose.

La souche M35 n'assimile pas l'amidon soluble.

La souche P10 n'est pas capable d'assimiler le sorbose et le sorbitole

En ce qui concerne l'assimilation des substrats azotés, toutes les souches isolés et sélectionnées n'assimilent pas la guanine, la glutamine, la cystéine et le tryptophane.

Toutes les souches sélectionnées assimilent la peptone et le sulfate d'ammonium (utilisés comme témoin) et aussi le glutamate.

Concernant le reste des substrats azotés, la variation de l'assimilation par les levures étudiées est présentée dans le tableau 19

Tableau19:Résultats des tests d'assimilation des glucides et des sources azotées des souches de levures isolée (+ :teste positif croissance microbienne ; - : absence).

Code des souches	jour	Assimilation des glucides														Assimilation des sources azotées													
		Arabinose	Cellulose	Glucose	galactose	Raffinose	Lactose	Rhamnose	Saccharose	Manitol	Amidon Soluble	Sorbitole	Sorbose	d-xylose	Inositol	Maltose	Peptone	Sulfate	nitrate	cystien	aspartique	tryptophane	leucine	Glutamine	alanine	glutamique	threonine	guanine	adimine
P 5	3	-	-	+	-	+/-	-	+/-	+	+	+	+/-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
	7	-	+/-	+	-	+/-	-	-	+	-	+	-	-	+/-	+/-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	
	14	+	-	+	-	+/-	+	+	+	-	+	-	+/-	+	+/-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
	21	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+/-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
	28	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
P 10	3	+/-	+/-	-	+/-	+	-	+/-	+	+	+/-	+/-	-	+/-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+/-	+/-	+	-	-	
	7	+/-	+/-	-	+/-	+	-	+/-	+	+	+/-	-	-	+/-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	
	14	+/-	+	-	+/-	+	-	+/-	+	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	
	21	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-
	28	+	+	-	+	+	-	+/-	+	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-
	3	+	+/-	+	-	+	-	+/-	+	+	-	+/-	+/-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+

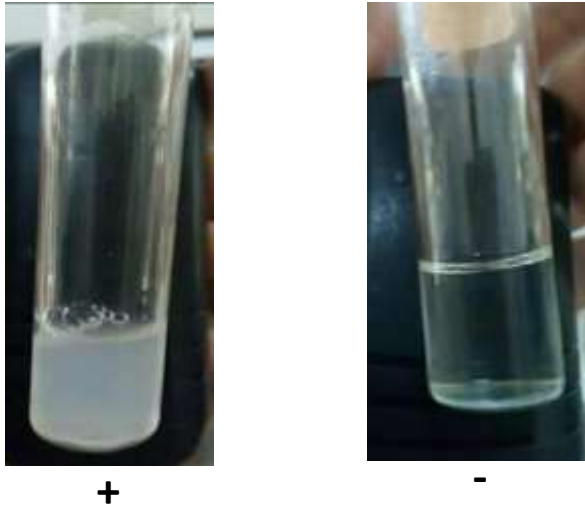


Figure40: Résultat de l'assimilation des substrats carbonés

Figure41 : résultat de l'assimilation des substrats azotés



- Zone claire forme anneau autour du disque de la source azotées (test négatif)



+ Formation de colonies autour du disque de la source azotée (test positif)

Conclusion

Les résultats obtenus pour ce test sont comparés aux résultats de Kurtzman et al., 2011 afin d'identifier les 05 souches sélectionnées. Selon la comparaison, les souches levuriennes P5, P10, M35, P37, Y38 appartiennent probablement aux genres *saccharomyces sp.*, *kluveromyces sp.*, *debaryomyces sp.*, *lipomyces sp.* et *schwanniomyces sp.* respectivement.

Conclusion générale

Cette étude a pu répondre aux différents objectifs d'isolement et de la production qualitatives par les levures de différentes enzymes à intérêt industriel.

Un lot de souches de levures est isolées à partir de trois échantillons à savoir le yaourt, les pelures de pomme de terre et lemzeiet en utilisant le milieu YGC à 25°C pendant 3 jour, Le nombre total de ces isolats a été estimé à 80 souches: 80% des isolats sont isolés à partir de déchet de pomme de terre, 12.5% proviennent de lemzeiet et 2.5% sont d'origine du yaourt.

Parmi ces isolats 38 souches ont été sélectionnées selon la croissance rapide sur YPGA à 30°C. Un screening est réalisé sur milieu solide (Boîte de Pétri) pour la mise en évidence de 09 enzymes à savoir : alpha-amylase, pectinase, lipase, maltase, estérase, cellulase, protéase, laccase et uréase. Les souches testées sont cultivées sur un milieu à base de substrat inductible pour chaque enzyme. Ces milieux solides sont incubés à 25°C pendant 3 à 5 jour. Les résultats ont montré que la majorité des isolats de la flore étudiée sont productrices d'enzymes :

L'activité α -amylasique (6,25% de souches isolées de déchets de pomme de terre (PT) sont productrices d' α -amylase: 2% de lemzeiet:, 100% Yaourt)

L'activité maltasique (PT: 50%, lemzeiet: 60%, Yaourt: 0%)

L'activité lipolytique: Lipase (PT: 75%, lemzeiet70%, Yaourt: 100%)

Estérase (PT: 78,125%, lemzeiet: 100%, Yaourt: 100%)

L'activité cellulasique (PT: 80%, lemzeiet: 5%, Yaourt: 100%)

L'activité pectinolytique (PT: 50 %, lemzeiet: 60%, Yaourt: 0%)

L'activité de laccase (PT:3.125%, lemzeiet: 0%, Yaourt: 0%)

Parmi ces résultats on a sélectionné cinq souches à base de la grande diversité pour le production d'enzymes:

La souche P5:révélé la présence de 07 enzymes : pectinase, , maltase, estérase, cellulase, protéase, laccase et uréase et c'est la seule souche levurienne productrice de laccase

La souche P10 : montre l'activité de 03 enzymes : cellulase, protéase et estérase et elle est caractérisée par sa croissance rapide.

La souche M35: possède 06 enzymes : , pectinase, lipase, maltase, estérase, cellulase et protéase.

La souche P37:capable de produire 06 enzymes : pectinase, lipase, estérase, cellulase, protéase et uréase.

La souche Y38:produit 0 6 enzyme : α -amylase, pectinase, lipase, estérase, cellulase et protéase, et le diamètre de la zone de lyse de ces enzymes est intéressant.

l'identification des cinq souches sélectionnées a été réalisé par l'étude des caractères morphologiques et physiologiques.

Les résultats ont révélé la capacité des souches suivantes : P5, P10 et Y38 de former le mycélium ; P5 et P10 de former le pseudomycellium et Y38 de former le vrai mycélium. A l'exception de P37 et M35, les quatre souches ont une reproduction sexuée .

Pour l'identification physiologique différentes sources de carbone ont été utilisées pour la fermentation: glucose ,galactose ,cellubiose,D-xylose,raffinose,amidon soluble,maltose ,lactose, saccharose.

Pour l'assimilation de carbone et d'azote, les substrats azotés utilisés sont : peptone,sulfate d'ammonium, cystéine, tryptophane, guanine, adinine, thréonine ,nitrate, leucine ,aspertate, glutamine et glutamate et les substrats carbonés sont :arabinose ,cellubiose, glucose, galactose, raffinose, lactose, rhamnose, saccharose, manitol, amidon soluble, sorbitol, sorbose,D-xylose, inositol et maltose.

Les résultats montre que: la souche P5 est capable de fermenté: le galactose et le maltose, le lactose. La souche P10 ne fermenté pas les sucres.

La souche M35 fermente le raffinose, le saccharose, le glucose et le saccharose. Quant à la souche P37 fermente uniquement le glucose alors que la souche Y38 fermente le D-xylose et le lactose.

Concernant l'assimilation de carbone et d'azote: les souches isolées sont capables d'assimiler les glucides testés. Pour l'assimilation des substrats azotés, toutes les souches isolées n'assimilent pas la guanine et le glutamine, la cystiéne et le tryptophane. Cependant, toutes les souches sélectionnées assimilent la peptone,le sulfate et le glutamate Pour l'identification des levures étudiées, les résultat obtenus ont été comparés avec ceux de Kurtzman et al.,2011. Selon la comparaisons, les souches levuriennes P5 ,P10 ,M35 ,P37, Y38 appartiennent probablement aux genres *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Lipomycés*. et *Schwanniomyces* respectivement.

Comme perspectives, il serait intéressant :

- D'étudier la production quantitative des enzymes révélées par les levures isolées en fermentation liquide ou solide.
- D'utiliser les déchets agroalimentaires et autres pour la production enzymatique afin de minimiser son coût.
- D'identifier les souches levuriennes par la biologie moléculaires.

Références bibliographique

Références bibliographiques

Ababa E. A. E. (2008). "Production and characterisation of a mesophilic lipase isolated from *Bacillus stearothermophilus* AB- 1." *Pakistan Journal of Biological Sciences*. Vol.11, pp.1100-1106

Abed Samad M. Y., Abed Razak C. N., Salleh A. B., Zin wan yunus W. M., Ampon K. & Basri M. (1989). A plate assay for primary screening of lipase activity. *Journal of Microbiological Methods*. 9: 51-56.

Abhijit Ray (2012). "Application of Lipase in Industry". *Asian J. Pharma. Tech*. Vol. 2, pp.33-37

Açourene, S., Buelguedj, M., Tama, M. et Taleb, B. (2001). Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Ziban. *Revue Recherche Agronomique*. (8):819-39

Adekunle O. A., Olanike O. et Olabisi A. (2012). Production of amylase from *Aspergillus niger* using a defined synthetic growth medium and also rice (*Oryza sativa*) as growth substrate, *E3 Journal of Medical Research*. 1(7) : 091-094.

Adewara A.O. & Ogunbanwo S.T. (2013). Effects of processing variables on the production of "Burukutu". a Nigerian fermented beverage. *Nat. Sci.* 11:16-28.

Adrian J., Legrand G., Frangne R. (1991). Dictionnaire de biochimie alimentaire et de

Aehle W. et Misset O. (1999). Enzymes for industrial applications. In: Rehm H.J., Reed G., editors. *Biotechnology*, 2nd ed. Germany: Wiley-VCH, pp.189-216

Agrawal, Pramodkumar B., Aniruddha B. Pandit. (2003). Isolation of α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*: cell disruption and adsorption. *Biochemical engineering*. 15(3) : 3745

Aiba, S., Humphrey, A. E. and Millis, N. F. 1965. *Biochemical engineering*. New York: Academic Press, 333 p.

AICHOUR Nour El Houda. Etude des hydrolases chez les levures. Purification et caractérisation de l' α -amylase chez *Clavispora lusitaniae* ABS7.(2017)

Aït Kaki A. (2004). Isolement de la moisissure *Rhizopus oryzae* et optimisation d'un milieu à base de lactosérum pour la production de l-amylase. Thèse de magistère. Université Mentouri Constantine.

Aït kaki- El-Hadef El-Okki A., Leghlimi H., Dakhmouche S., Bennamoun L. et Meraihi Z. (2012). Utilisation de la planification expérimentale pour l'optimisation de la production de l' α -amylase par *Rhizopus oryzae*. *Rev.Microbiol. Ind. San et Environn.* 6 (1): 1-17.

Aline (B. M. Vaz¹, Luiz H. Rosa¹, Mariana L. A. Vieira¹, Virginia de Garcia², Luciana R. Brandão¹, Lia C. R. S. Teixeira¹, Martin Moliné², Diego Libkind², Maria van Broock², Carlos A.Rosa¹. The diversity, extracellular

- enzymatic activities and photoprotective compounds of yeasts isolated in Antarctica. (2011). *Brazilian Journal of Microbiology* (2011) 42: 937-947
- ascomycetous yeast genera *Brettanomyces*, *Debaryomyces*, *Dekkera* and *Kluyveromyces*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 46: 542- 549.
- ATI ABDEL OUAHAB N.**, 2008- microbiologie alimentaire. 4362. Ed 3. Office des publications universitaires Constantine. Alger. 147p.
- Babacan**, Sibel, et Arthur G. Rand. (janvier 2007). Characterization of honey amylase. *Journal of Food Science* 72(1) : 210-340.
- Babu I. S. & Rao H.** (2007). Optimisation of process parameters for the production of lipase in submerged fermentation by *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Research journal of microbiology*. 1: 8 [112] Alloue W.A.M. (2008). Formulation et immobilisation de la lipase de *Yarrowia lipolytica*. Thèse de doctorat. Faculté universitaire des sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique. Pp 165.8-93
- BACHA A.**, 2008- production et étude de l'activité de l'invertase produite par la levure *Saccharomyces cerevisiae* sur substrat à base de datte. thèse magister. technologie alimentaire. batna. université el hadj lakhdar. 98p
- Badot R.M.** et Merlin D. (1984). Métabolisme énergétique et mouvement révolutif chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*). *Ann. Sci. Uni. Franche-Comté, Biol.Veg.* (4) : 7-12.
- Baglinière**, François. (2013). Impacts des souches du genre *Pseudomonas* protéolytiques sur la stabilité des produits laitiers transformés : maîtrise et prédiction de la qualité des laits UHT.
- Bakri Y.**, Jacques P-H. et Thonart P-H. (2003). Xylanase production by *Penicillium canescens* solidstate fermentation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 108 : 737-748.
- Bala, Anju**, et Bijender Singh. (2016). Cost-effective production of biotechnologically important hydrolytic enzymes by *Sporotrichum thermophile*. *Bioprocess and biosystems engineering* 39(1) : 181–191.
- Bala, Anju**, et Bijender Singh. (2016). Cost-effective production of biotechnologically important hydrolytic enzymes by *Sporotrichum thermophile*. *Bioprocess and biosystems engineering* 39(1) : 181–191.
- Barker**, Megan K., David R. (2013). Rose. Specificity of processing α -glucosidase I is guided by the substrate conformation crystallographic and in silico studies. *Journal of biological chemistry*. 288(19) : 13563–13574
- Barnett J. A.**, Payne R. W. and Yarrow D. (2000). *Yeast: Characteristics and identification*. Third edition 2000, reprinted 2007. Cambridge University Press
- Beguin P.**, Aubert J P. (1994). The biological degradation cellulose. *FEMS (Federation of European Microbiological Societies). Microbiology Reviews*. 13:25-58.

Beisson F, V Arundel and R Verger. (2000). “Assaying Arabidopsis lipase activity”. *Biochem Soc Trans.* Vol. 28, pp. 773-775

Benjamin S and A Pandey. (1998) . “ Candida rugosa lipases : molecular biology and versatility in biotechnological”. *Yeasts.* Vol.14, pp.1069-87

Bennamoun L .(2001). Production de l’ α -amylase par *Aspergillus oryzae* cultivée sur un milieu à base de déchets d’oranges, optimisation du milieu de culture, purification partielle et étude des propriétés physico-chimiques de l’enzyme. Thèse de Magister. Faculté des Sciences, Université Mentouri de Constantine

Bennamoun Leila .(2017). Isolement, sélection de souches levuriennes de sols arides sahariens (El-M’gheir) productrices de polygalacturonase: Purification et caractérisation enzymatique Thèse présentée pour l’obtention du diplôme de Doctorat en Sciences

Bennett J.W. (1998). *Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology.* J.

Bensmira, Meriem, Bo Jiang, Consolate Nsabimana, et Tang Jian. (2007). Effect of lavender and thyme incorporation in sunflower seed oil on its resistance to frying temperatures. *Food research international.* 40(3) : 341–346.

Bergin, Naomi Á, Bróna Fletcher, Orla Franklin, et Ellen Crushell. (2016). Unexpected resolution of cardiomyopathy in severe alpha-mannosidosis. *Molecular genetics and metabolism* 117(2) : 27-2324.

Bhatia, Latika, et Sonia Johri. (2015). Biovalorization potential of peels of *Ananas cosmosus* (L.) Merr. for ethanol production by *Pichia stipitis* NCIM 3498 & *Pachysolen tannophilus* MTCC 1077. *Indian journal of experimental biology.* 53 : 819–827.

Biochem J. 302: 463-469.

Boonvitthya, (Nassapat, Sophie Bozonnet, Vorakan Burapatana, Michael J. O’Donohue, et Warawut Chulalaksananukul.(2013). Comparison of the heterologous expression of *Trichoderma reesei* endoglucanase II and cellobiohydrolase II in the yeasts *Pichia pastoris* and *Yarrowia lipolytica*. *Molecular biotechnology.* 54(2) : 158–169.)

Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P. L., Larpent J. P., Reymont P., Bouix M., Leveau J. Y. (1991). Les levures dans : Bourgeois C. M., Leveau J.Y., techniques d’analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Edition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 3: 206-229.

Bouix M., Leveau J. Y. (1991). Les levures dans : Bourgeois C. M., Leveau J.Y., Techniques

Bouix M., Leveau J. Y. (1999). Production des Enzymes. In : Scriban R. (Ed) : Biotechnologies. Ed. Lavoisier. 344-400.

Bourgeois C. M. et Larpent J. P. (1996). Microbiologie alimentaire. Tome II aliment fermenté et fermentations alimentaires. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier, Paris. : 100-450.

Bourgeois C.M., Meslle J. F., Zucca J., 1988- Microbiologie alimentaire. Tome I. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, APRIA, Paris: 161-169. Cité par Benaouida K., 2008- Etude de l'alpha amylase de levure isolée d'un écosystème extrême (sole environnant des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Diplôme de magistère. Université MANTOURI Constantine. 100p.

Bousmaha, L., Elmoualdi, L., Ouhssine, M. and El Yachioui, M. 2007. Souche de candida guilliermondii isolée de la saumure de carottes productrice d'une β fructofuranosidase extracellulaire. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux 146: 51-62

by thermophilic fungus *Thermoascus aurantiacus* CBMAI 756. Journal of Microbiology. 48: 452-459.

C. G. Kumar, R. K. Malik and M. P. Tiwari. (1998). "Novel enzyme based detergent : An Indian perspective". Curr. Sci.

Cai J., Roberts I. N., Collins M. (1996). Phylogenetic relationships among members of the

Camille M. Barr., Maurine Neiman., Douglas R. Taylor. (2005). Inheritance and recombination of mitochondrial genomes in plants, fungi and animals. New Phytologist. 168: 39–50.

Cao, Pinghua, Lei Wang, Yaoyue Wang, Ning Zhou, Yulin Chen. (2015). Alkali-tolerant glucosidase produced by newly isolated *Aspergillus fumigatus* WL002 from rotten wood. International biodeterioration & biodegradation. 105 : 276–282.

Carl J. Yeoman, Guohua Yin, Ilya Borovok, Margret E. Berg Miller, Bareket Dassa, Itzhak Mizrahi, Harry J. Flint, Edward A. Bayer. (2015). Functional phylotyping approach for assessing intraspecific diversity of *Ruminococcus albus* within the rumen microbiome. FEMS microbiology letters. 362(3) : 1–10.

Carvalho Ana Flávia Azevedo., Boscolo Maurício., Da Silva Roberto, Gomes Henrique

Carvalho N. B., R. L. Souza, H. F. Castro, G. M. Zanin, A. S. Lima and C. M. L. Soares.(2008). "Sequential production of amylolytic and lipolytic enzymes of bacterial strain isolated from petroleum contaminated s oil". Applies Biochemistry and Biotechnology. Vol.150, pp.25-32

Cellobiohydrolase I and Crystalline Cellulose. Department of Food Science.)

Chae HJ, Joo H, In MJ (2001). Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. Bioresour. Technol., 76(3): 253-258.

Chao, C., J. R. Zatarain, Y. Ding, C. Coletta, A. A. Mrazek, N. Druzhyina, P. Johnson. (2016). Cystathionine-betasynthase inhibition for colon cancer : Enhancement of the efficacy of aminooxyacetic acid via the prodrug approach. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*. 22(5) : 420-53.

Coelho JS, Souza CGM, Oliveira AL, Bracht A, Costa MAF, Peralta RM (2010). Comparative Removal of Bentazon by *Ganoderma lucidum* in Liquid and Solid State Cultures. *Curr. Microbiol.*, 60(5): 350-355.

Costas M., Dieve F. J. & Longo M. A. (2004). Lipolytic activity in submerged cultures of *Issantchankia orientalis*. *Process biochemistry*. 39: 2109-2114

d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, édition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 3: 206-229.

DALI Nadine Sofia, HAMAME Afaf. (2016). Recherche de levures productrices d'enzymes glycolytiques exocellulaires thermostables : Production (sur boîte de Pétri et en batch) et Caractérisation des enzymes produites.

Dan S., Marton I., Dekel M., Bravdo B A., He S., Withers S G., Shoseyov O. (2000). Cloning, expression, characterization, and nucleophile identification of family 3, *Aspergillus niger* β -glucosidase. *J. Biol. Chem.* 275(7): 4973-4980

Davies G., Henrissat B. (1995). Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. *Structure*. 3: 853-859

de Nutrition et de Diététique 47: S4–S15.)

Devin Scannell R., Geraldine Butler., Kenneth. Wolfe H. (2007). Yeast genome evolution the origin of the species. *Yeast*. 24: 929–942.

Djekrif D. S., Gillmann L., Cochet N., Bennamoun L., Ait-kaki A., Labbani K., Nouadri T. and Meraihi Z. (2014). Optimization of thermophilic pullulanase and α -amylase production by amylolytic yeast. *International journal of microbiology research*. 6 (2) : 559-569.

Djekrif, D. S., Leila, B., Amel, A.K., Kenza, L., Tahar, N., Zoubida, G.-A. and Zahia, M. (2016). An Optimization Study of α -Amylase Production by *Aspergillus niger* ATCC 16404 Grown on Orange Waste Powder. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 7 : 123-132.

Djekrif-Dakhmouche S. (2016). Production et caractérisation de l'amylopullulanase de la levure *Clavispora lusitaniae* ABS7 isolée de blé cultivé et stocké en zones arides. Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantine

Dominguez de Maria P., Sanchez-Montero J. M., Sinisterra J. V. & Alcantara A. R. (2006). Understanding *Candida rugosa* lipases: An overview. *Biotechnology Advances*. 24 : 180 196

Dubois M., Gills K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A. and Smith F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, 1956, 28: 350-356.

Elevees en Tunisie. *Livestock Research for Rural Development*. 2 : 25.

Fakhreddine L., Kademi A., Aït-Abdelkder N. & Baratti J. C. (1998). Microbial growth and lipolytic activities of moderate Thermophilic bacterial strains. *Biotechnology letters*. 20: 879-883

Fang Y., Lu Z., Lv F., Bie X., Liu S., Ding Z., Xu W. (2006). A newly isolated organic solvent tolerant *Staphylococcus saprophyticus* M 36 produced organic solvent stable lipase. *Current Microbiology*. 5

Ferreira Eleni. (2010). Purification and characterization of the alpha-glucosidase produced

Fossi Bertrand Tatsinkou, Tavea Frederic and Ndjouenkeu Robert. (2005). Production and partial characterization of a thermostable amylase from *ascomyces* yeast strain isolated from starchy soils. *African Journal of Biotechnology*. 4(1): 14-18.

Gasmi Boubaker. A., Ben Ismail H., Ben Hmida I., L Yahyaoui. (2013). Qualites physicochimiques et microbiologiques du lait de deux races ovines (Comisana et Sicilo-sarde)

Giannesi G. C., de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli M., Terenzi H. F., Jorge J.A. A. Giannesi, John D., et Stephen G. Withers. (2006). Unequivocal identification of Asp-214 as the catalytic nucleophile of *Saccharomyces cerevisiae* α -glucosidase using 5-fluoro glycosyl fluorides. *Journal of biological chemistry*. 271(12) : 6889– 6894.

Gouasmi razika, Badaoui naima. Etude biochimique de l'influence du séchage sur la valeur nutritionnelle de deux variétés de blé dur Algériennes (Bousseleme et Siméto). (2017). Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention d'un diplôme de Master. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana

Gravouelle J.M., (1996) : Utilisation pour l'alimentation humaine In Rousselle R, Robert Y., Crosnier J.C, éd. La pomme de terre, Paris: INRA éditions, p. 451-498.

Greppi A. et al. (2013). Yeast dynamics during spontaneous fermentation of mawè and tchoukoutou, two traditional products from Benin. *Int. J. Food microbiol*. 165 : 200- 207

Guiraud J. P. (1998). *Microbiologie alimentaire*. Dunod, Paris. : 310-321.

Gutiérrez-Alonso, Patricia, María Gimeno-Pérez, Mercedes Ramírez-Escudero, Francisco J. Plou, Julia Sanz-Aparicio, et María Fernández-Lobato. (2015). Molecular characterization and heterologous expression of a *Xanthophyllomyces dendrorhous* α -glucosidase with potential for prebiotics production. *Applied microbiology and biotechnology*. 15(2) : 1–11

Haba E., Bresco O., Ferrer C., Marqués A., Busquets M., Mnresa A. (2000). Isolation of lipase- secreting bacteria by deploying used frying oil as selective substrate. *Enzyme and microbial technology*. 26: 40-44.

haemulonii and *Cutaneotrichosporon dermatis* isolated from soft corals on the Brazilian reefs. Archives of microbiology. 45(2) : 1–9.

Hao Zhou , Cheng-Zhang Wan, Jian-Zhong Ye, Hong-Xia Chen, Ran Tao, Yu Si Zhang. (2015).

Hencké S., 2000- Utilisation alimentaire des levures. Diplôme de Docteur: Pharmacie.

Hofman, Zonne LM, Anurag Relan, Sacha Zeerleeder, Christian Drouet, Bruce Zuraw, et C. Erik Hack. (2016). Angioedema attacks in patients with hereditary angioedema: Local manifestations of a systemic activation process. Journal of allergy and clinical immunology.

Holde. p : 132.

Hossam (E. F. Abdel- Raheam, Mohamed K. A. Fereg, Wafeek S. M. Rageb, Elsayed A. Abdel- Rahman and Ghonaimy A. Ghonaimy. Isolation and identification of amylolytic yeasts from agricultural and industrial wastes. Assuet J. of Agric. Sci., 2011, 42 (3): 55-64.)

Huang A H C. (1984). “Studies on specificity of lipases”. In: Borgstrom B, Brockmann Hl, editors. Lipases. Amsterdam: Elsevier; pp.419-42.

Huang, Lin, Kousuke Haratake, Hatsumi Miyahara, et Tomoki Chiba. (2016). Proteasome activators, PA28γ and PA200, play indispensable roles in male fertility. Scientific reports 6.

Hyeyeon Jeon., Hyewon Lee., Dahye Byun., Hyejeong Choi., ShimJae-Hoon. (2015).

Iftikhar T., & Hussain A. (2002).Effect of nutrients on the extracellular lipase production by mutant strain of *Rhizopus oligosporus*. Biotechnology. 1: 15-20.

Iftikhar T., Niaz M., Afzal M., Haq I. & Rajoka M. I. (2008).Maximization of Intracellular Lipase Production in a Lipase-Overproducing Mutant Derivative of *Rhizopus oligosporus* DGM 31: A Kinetic Study. Food Technol. Biotechnol. 46: 402-412.

Irfan, Muhammad, Asma Safdar, Quratulain Syed, Muhammad Nadeem. (2012). Isolation and screening of cellulolytic bacteria from soil and optimization of cellulase production and activity. Turkish Journal of biochemistry turk biyokimya dergisi. 37(4) : 123-532.

ISSN 1517-8382)

Jaeger K E and T Egger.(2002) “ Lipase for biotechnology”. Curr. Opin. Biotechnol . Vol. 13, pp.390-397 [5]. R. Sharma, Y. Christi and U. C. Banerjee. (2001) “Production, Purification, characterisation and applications of lipases”. BiotechnolAdv. Vol. 19, pp. 627- 672 [6]. K E **Jaeger** and T Egger.(2002) “Lipase for biotechnology”. Curr.Opin. Biotechnol. Vol. 13, pp.390- 397

- Jaeger K. E., Ransac S., Dijkstra B. W., Colson C., Heuvel M. V & Misset O. (1994).** Bacterial lipases. *FEMS Microbiology reviews*. 15:29-633: 510-515
- Janda K. (2005).** The lipolytic activity of *Thermomyces lanuginosus* strains isolated from different natural sources. *International Bio deterioration & Biodegradation*. 55:149 152.
- Jerome J.P., James T. S et Stephen L. (2004).** *Microbiologie*, (edn) DUNOD. Paris
- Jia, Xiaojing, Shuofu Mi, Jinzhi Wang, Weibo Qiao, Xiaowei Peng, Yejun Han. (2014).** Insight into glycoside hydrolases for debranched xylan degradation from extremely thermophilic bacterium *Caldicellulosiruptor lactoaceticus*. *Plos one*. 9(9) : 106-482.
- Jimoh S.O., Ado S.A., Ameh J.B. & Whong C.M.Z. (2012).** Characteristics and diversity of yeast in locally fermented beverages sold in Nigeria. *World J. Eng. Pure Appl. Sci*. 2 : 40-44.
- John (W. B, Michael E. H, Linghao .Z, Michael F. C, and Mark R. N.(2005).** Towards Understanding the Action of Cellulases: Molecular Dynamics Simulation of *T. reesei*
- Johnson E. A. and Echavarri C. Erasum. (2011).** Part II, Chapter 3 : Yeast biotechnology in Kurtzman C. P., Fzll J. W. and Boekhout T. (eds). *The yeast. A taxonomic study*. Fifth edition. Elsevier. 1: 21-45.
- Kader A J., Omar O., Feng L S. (1999).** Isolation of cellulolytic fungi from the barrio Highlands, Sarawak. University of Kebangsaan, Malaysia. *Review of Biodiversity and Environmental Conservation*
- Katrin Viigand, Triinu Visnapuu, Karin Mardo, Anneli Aasamets, Tiina Alamäe. (25 février 2016).** Maltase protein of *ogataea (hansenula)* polymorpha is a counterpart to resurrected ancestor protein ancMALS of yeast maltases and isomaltases. *Yeast (Chichester, England)*. 5(2) : 250-530.
- Kelly, Catherine T., Mary Giblin, et William M. Fogarty. (2014).** Resolution, purification, and characterization of two extracellular glucohydrolases, α -glucosidase and maltase, of *Bacillus licheniformis*. *Canadian journal of microbiology*. 32(4) : 342–347.
- Kelly, R.M., L. Dijkhuizen and H. Leemhuis. (2009).** Starch and α -glucan acting enzymes, modulating their properties by directed evolution. *J. Biotechnol*. 140 : 184-193.
- Ketna Matkar, Digantkumar Chapla, Jyoti Divecha, Anand Nighojkar, Datta Madamwar. (2013).** Production of cellulose by a newly isolated strain of *Aspergillus sydowii* and its optimization under submerged fermentation. *International biodeterioration & biodegradation*. (78) : 24–33.
- Kleman-Leyer K M., Gilkes N R., Miller R C., Kirk T K. (1994).** Changes in the molecular size distribution of insoluble cellulose by the action of recombinant *Cellulomonas fimi* cellulases.

Kurtzman Cletus P., Jack W. Fell, Teun Boekhout and Vincent Robert. Chapter 7: Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. In Kurtzman C. P., Fell J. W. and Boekhout T. (Eds). The yeasts, a taxonomic study. Volume1, Fifth edition. Elsevier, 2011 b, p. 87-111.

Labrani Fatima-Zohra-Kenza .Activité « Killer » chez des levures isolées des sols du Nord-Est Algérien : Purification, caractérisation et effet sur les souches de levures indésirables.(2015).THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES.

Lagzouli, M., Charouf, R., Yachioui, E. M., Ouhssine, M., Berny, E. H., Jadal, M. 2007a. Optimisation de la croissance et de la production de glucoamylase extracellulaire par *candida guilliermondii*. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux 146: 251-270.

Lakchmi B.S., Kanguane P., Abraham B. & Pennathur G. (1999).Effect of vegetable oils in the secretion of lipase from *Candida rugosa* (DSM 2031) .Applied microbiology. 29: 66-70

Larpent J., 1990- biotechnologie des levures. masson, paris. Milan barcelona bonn.426p.

Larpent-gourgaud M. et Sanglier J.J. (1992). Biotechnologies, principes et méthodes. Ed Doin. 574-581.

Liese (A., Seelbach S., Wandrey C. et Wileyu VCH., 2000. Industrial biotransformations.

Liu, Z. Lewis, Scott A. Weber, Michael A. Cotta, et Shi-Zhong Li. (2012). A new α -glucosidase producing yeast for lower-cost cellulosic ethanol production from xylose-extracted corncob residues by simultaneous saccharification and fermentation. Bioresource technology. 104(4) : 410–416

Lo Chi-Ming, et Lu-Kwang Ju. (2009). Sophorolipids-induced cellulase production in cocultures of *Hypocrea jecorina* Rut C30 and *Candida bombicola*. Enzyme and microbial technology. 44(2) : 107–111.

López, María Consuelo, José Juan Mateo, Sergi Maicas. (2015). Screening of β -glucosidase and β -xylosidase activities in four non-*Saccharomyces* yeast isolates. Journal of food science. 80(8) : C1696–C1704.

MADIGAN AT GOHN MARTINKO M., 2007- biologie des microorganismes.11édition:pearson éducation. paris. 480p.

Madigan M. T., Martino J. M. (2006). Brock biology of microorganisms. pearson education. Upper Saddle River, NJ, USA

Mahalakshmi, N., S. Jayalakshmi. (2016). Amylase, cellulase and xylanase production from a novel bacterial isolate *Achromobacter xylosoxidans* isolated from marine environment. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci 3. 12(1) : 230–233

Maleki, Maryam, et Mehdi Nematbakhsh. (2016). Renal blood flow response to angiotensin 1-7 versus hypertonic sodium chloride 7.5% administration after acute hemorrhagic shock in rats. International journal of vascularmedicine. 56(5) : 452-632.

- Maneesri, J.** and Masniyom, P. 2007. Induction and inhibition of film yeast from fermented bamboo shoot by seasoning plants. Songklanakarin. Journal of Science and Technology 29(4): 1135-1143.
- Manzoni, P.,** M. Mostert, et E. Castagnola. (2015). Update on the management of *Candida* infections in preterm neonates. Archives of disease in childhood-fetal and neonatal. 100(5) : F454–F459
- Maria Simitsopoulou,** Athanasios Chatzimoschou, et Emmanuel Roilides. (2016). Biofilms and antifungal susceptibility testing *Candida species*: Methods and protocols. 58(8) : 183–197
- Merabti** ryma. Blé dur fermenté lemzeiet : étude du nouveau procédé de fermentation à l'extérieur du matmor et caractérisation de l'écosystème (interactions du microbiote avec la matrice) .(2015). THESE Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Spécialité : Sciences alimentaires.
- Mohand Mouloud B.,** 1994- relation entre la structure des polymères pariétaux et la floculation des levures KLUYVEROMYCES LACTIC. Thèse doctorat science naturelles.université Henri Pointcarré.448p
- molecular cloning, characterization, and application of a novel thermostable α -glucosidase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrobaculum aerophilum* strain IM2. Food Science and Biotechnology. 24: 175-182 .
- Moubasher,** Abdel-Aal H., Mady Ahmed Ismail, Nemmat A. Hussein, Hassan A. Gouda. (2016). Enzyme producing capabilities of some extremophilic fungal strains isolated from different habitats of Wadi El-Natrun, Egypt : Cellulase, xylanase and pectinase. European journal of biological research. 6(2) : 103–111.
- Najjar A.** (2010). Etude quantitative de la sécrétion de lipase, de la lipolyse et du stockage de lipides chez *Yarrowia lipolytica* lors de sa croissance en présence d'huile d'olive. Thèse. Microbiologie et Biotechnologies. Mol. Biol. 230: 575-591.
- Naumov, G. I.,** M. Yu Shalamitskiy, et E. S. Naumova. (2016). New family of pectinase genes PGU1b–PGU3b of the pectinolytic yeast *Saccharomyces bayanus var uvarum*. In doklady biochemistry and biophysics. 467:89–91. Springer,
- Nawaz,** Muhammad Asif, Asad Karim, Afsheen Aman, Roberta Marchetti, Shah Ali Ul Qader, et Antonio Molinaro. (2015). Continuous degradation of maltose: improvement in stability and catalytic properties of maltase (α -glucosidase) through immobilization using agar-agar gel as a support. Bioprocess and biosystems engineering. 38(4) : 631-38
- Okuyama,** Masayuki, Masayuki Saburi, Yuya Kumagai, Atsuo Kimura, Haruhide Mori. (2015). Biochemical properties and substrate recognition mechanism of GH31 α -glucosidase from *Bacillus sp.* AHU 2001 with broad substrate specificity. Biochimie. 108(4) : 140–148
- Olajuyigbe,** Folasade M., Chidinma M. Nlekerem, Olusola A. Ogunyewo. (2016). Production and characterization of highly thermostable α -glucosidase during the biodegradation of methyl cellulose by *Fusarium oxysporum*. Biochemistry research international. 58(8) : 256-658.

- Onsori H., Zamani M R., Motallbei M., Zarghami N. (2005).** Identification of over producing strain of endo- β -1, 4-glucanase in *Aspergillus* species: characterization of crude carboxymethyl cellulose. *African.Jour. Biotechnol.* 4 (1): 26-30
- Oteng-Gyang, K. 1984.** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Paris : Ed. Lavoisier, « Tec. & Doc. », pp. 43-62 (272 p).
- Ouédraogo, N., Savadogo, A., Zongo, C., Somda, K. M. and Traoré, A. S.** High performance amyolytic yeast strains isolation and identification for valorization of potatoes waste available in Burkina Faso. *International Food Research Journal* 19(4): 1463-1469 (2012).
- Ozmen Biberoglu and Ziya Gokalp Ceylan** Eastern Anatolia Agricultural Research Institute, Erzurum, Turkey. Isolation and Identification of Yeasts from Traditional Yoghurts and Some Microbiological Properties. 2013. Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Ataturk University, 25240 Erzurum, Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 12 (14): 1250-1255, 2013. ISSN: 1680-5593.
- Pagani, Danielle M., Daiane Heidrich, Gustavo VB Paulino, Karine de Oliveira Alves, Paula T. Dalbem, Caroline F. de Oliveira, Zélia MM Andrade. (2016).** Susceptibility to antifungal agents and enzymatic activity of *Candida*
- Pandey A., Webb C., Soccol C.R. and Larroche C. (Eds). (2006).** *Enzyme Technology*. Springer. Asiatech Publishers. New Delhi.
- Pfaller, Michael A. (2015).** Application of Culture-Independent Rapid Diagnostic Tests in the Management of Invasive Candidiasis and Cryptococcosis. *Journal of Fungi* 1(2): 217–251.
- Quang, D. N., Judiet, M. R. S. and Agoston, H. 2000.** Optimization of composition of media for the production of Amyolytic enzymes by *Thermomyces lanuginosus* ATCC 34626. *Food Technology and Biotechnology* 38(3): 229–234. Reiser et Gasperik (1995)
- Rahman, A. K. K. M. S., Rahman, M. F., Nath, P. K., Hoq, M. M. and Hossain, M. 1993.** Glucoamylase activity of some selected strains of *Aspergillus niger* and *A. oryzae*. *Bangladesh Journal of Microbiology* 10: 107-110
- Ranjan, Kamleh, Mansoor Ahmad Lone, Sanjay Sahay. (2016).** Detergent compatible cold-active alkaline amylases from *Clavispora lusitaniae* CB13. *The journal of microbiology, biotechnology and food sciences.* 5(4) : 306- 523
- Relan Anurag, Hofman, Zonne LM, Sacha Zeerleeder, Christian Drouet, Bruce Zuraw, C. Erik Hack. (2016).** Angioedema attacks in patients with hereditary angioedema: local manifestations of a systemic activation process. *Journal of allergy and clinical immunology.* 25(5) : 256-634
- Rezki-Bekki M., 2014-** production de métabolite par les levures : caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse doctorat biotechnologie. Université d’Oran. 161 P.

- S. Blesa**, H. Chautard, M. Delcourt, L. Mesta. (2015). Brevet US9109210 - enhanced phytase variants - google brevets. Candida Lusitaniae Enhanced Phytase Variants.
- S. Garcia-Vallvé**, A. Romeu, J. Palau. (2000). Horizontal gene transfer of glycosyl hydrolases of the rumen fungi. *Molecular biology and evolution*. 17(3) : 352-61.
- S. Maicas**, José P. Guirao-Abad, Juan-Carlos Argüelles. (2016). Yeast trehalases: two enzymes, one catalytic mission. *Biochimica et biophysica acta (bba)-general subjects*. 25(5) : 325-523.
- S. Umamaheswari** et al. (2010), *J. Chem. Pharm. Res.* 2(4): 442-448. **Sieczko**, Karin Meisterl, Peter Peduzzi. (2016). Variable enzymatic activity . *Biochemis.* 5(2) : 25-36.
- Sanglier J. J., Vayssier Y., Veau P. (1990)**. Moisissures utiles et nuisibles d'importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biothechnologies. 35 -419.
- Saulnier**, (L. 2012. Les grains de céréales : diversité et compositions nutritionnelles. Cahiers *Schizosaccharomyces* genus isolated from wasted mangos in Burkina Faso. *Biosciences Biotechnology*
- Schrag J.D.** & Cygler M. (1993). 1.8 A refined structure of the lipase from *Geotrichum candidum*. *J.*
- Shariff F . M.** , T. C. Leow, A. D. Murkhed, A. N. Salleh, M. Bas ri and R. N. Z. R. A . Rah man. “ Production of L2 lipase by *Bacillus* sp. Strain L2 : Nutritional and physical factors”. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 47, pp. 406-412
- Sharma R.**, Chisti Y. & Banerjee U. C. (2001). Production, purification, characterization, application of lipases. *Biotechnology advances*. 19: 627-662
- Sicard P.** (1982). Applications industrielles des enzymes. In : Les enzymes production et utilisation industrielles Durand G, Monson P. (Ed):. Ed. Gauthier-Villars. 121-164.
- Sikander** (Ali., Hameedullah Rafi., Ikram-Al-Haq . (2010). Production of an extracellular lipase from *Candida lipolytica* and Parameter significance analysis by plackett-burman design. *Engineering in Life Sciences*.10: 465–473.)
- Silvia**(Regina Moreira¹; Rosane Freitas Schwan^{1*}; Eliana Pinheiro de Carvalho²; Alan E. Wheals.2001. Isolation and identification of yeasts and filamentous fungi from yoghurts in brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* (2001) 32:117-122)
- Simon P.** et Meunier R. (1970). *Microbiologie industrielle et génie biochimique*. Masson ET Cie, Editeurs. Paris VIe. p: 31-47, 385-411.)
- Singh A. K.** & Mukhopadhyay M. (2012). Overview of Fungal Lipase: A Review. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 166: 486 520.

Sinnott M L. (1990). Catalytic mechanism of enzymic glycosyl transfer. *Chem. Rev.* 90: 1171-1202.

Solid-state fermentation of *Ginkgo biloba*. Residue for optimal production of cellulase, protease and the simultaneous detoxification of *Ginkgo biloba* L. Residue using *Candida tropicalis* and *Aspergillus oryzae*. *European food research and technology.* 240(2) : 379-388.

Somda, K. M., Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Ouattara, A. S. and Traore, A. S. 2010. Production of alcohol from mango (*Mangifera Indica* L.) using *Saccharomyces* and

Su mita Thakur. (2012). “Lipases, its sources, Properties and Applications : A Review”. *International Journal of Scientific and Engineering Research* . Vol. 3

Talantikite, Kellil, Souad. (2015). Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie. 5(2) : 120-230.

Tatsinkou (F. B., Taveai F., Ndjouenkeui R. (2005). Production And Partial Characterisation Of A Thermostable Amylase From Ascomycetes Yeast Strain Isolated From Starchy Soils. *African Journal Of Biotechnology.* 4(1): 14-18.)

Teeri T T. (1997). Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases. *Tibtech.* 15: 160-165.

Thongekkaew, Jantaporn, Wanlee Patangtasa, et Apichat Jansri. (2014). Cellulase and xylanase production from *Candida easanensis* using agricultural wastes as a substrate. *Songklanakarin Journal of Science & Technology* 36, no 6.

Treesukon, Treebupachatsakul, Hikaru Nakazawa, Hideaki Shinbo, Hiroki Fujikawa, Asami Nagaiwa, Nobuhiro Ochiai, Takashi Kawaguchi. (2016). Heterologously expressed *Aspergillus aculeatus*-glucosidase in *Saccharomyces cerevisiae* is a cost-effective alternative to commercial supplementation of α -glucosidase in industrial ethanol production using *Trichoderma reesei* cellulases. *Journal of bioscience and bioengineering.* 12(1) : 27–35.

Van Zyl, John Henry D., Riaan Den Haan, Willem H. Van Zyl. (2016). Overexpression of native *Saccharomyces cerevisiae* ER-to-Golgi SNARE genes increased heterologous cellulase secretion. *Applied microbiology and biotechnology.* 100 (1) : 505–518.

Vasilios M. E., Andriotis, Gerhard Saalbach, Robbie Waugh, Robert A. Field, et Alison M. Smith. (2016). The Maltase involved in starch metabolism in barley endosperm is encoded by a single gene. *Plos one.* 11(3) : 151-642. Vol.75, pp.1312-1318

Wang, Xu, Z. Lewis Liu, Scott A. Weber, et Xiaoping Zhang. (2016). Two new native β -glucosidases from *Clavispora nrrl y-50464* confer its dual function as cellobiose fermenting ethanologenic yeast. *Plos one.* 11(3) : 151-293.

- Wiseman A** , Introduction to principles In: W is eman A . editor. Handbook of enzyme biotechnology. 3rd edition. Padstow, Cornwall, UK: Ellis Horwood Ltd. T.J Press Ltd. pp.3-8
- Xu Wang, Z. Lewis Liu, Scott A. Weber, Xiaoping Zhang.** (2016). Two new native β -glucosidases from *Clavispora* NRRL Y-50464 confer its dual function as cellobiose fermenting ethanologenic yeast. Plos one. 11(3) : 151- 293.
- Xue, Lin, Cui-Ying Zhang, Xiao-Wen Bai, Dong-Guang Xiao.** (2015). Effects of GLC7 and REG1 deletion on maltose metabolism and leavening ability of baker's yeast in lean dough. Journal of biotechnology. 20(9) : 1-6.
- Xuesong, L. I.** (2016). Proteines structure et fonctions. Université de Liège. 123-356.
- Yecheng, Sun, Xuguo Duan, Lei Wang, et Jing Wu.** (2016). Enhanced maltose production through mutagenesis of acceptor binding subsite in *Bacillus stearothermophilus* maltogenic amylase. Journal of biotechnology 217(4) : 53-61.
- Zhang D., Yanqing Luo, Shaohua Chu, Yuee Zhi, Bin Wang, Pei Zhou.** (2016). Enhancement of cellulase and xylanase production using pH-shift and dissolved oxygen control strategy with *Streptomyces griseorubens*. JSD-1. 178(2) : 338-352.

Annexes

Annexe 1

Composition des milieux de culture

1-YPGA(yeast extract peptone glucose agar) :

Il est utilisé pour la purification et la conservation des souches

-Extrait de levure :10 g/l

-Peptone :10 g / l

-Glucose :20 g / l

-Agar :20 g / l

Stérilisation à 121 °C pendant 20 min.

2-Potato Dextrose Agar (PDA)

-Amidon de pomme de terre 4 g

-Glucose 20 g

-Agar 20g

3-Milieu de la mise en évidence de l'uréase

-4,5 ml de gélose à l'urée de Christensen:

-1 g de peptone,

-5 g de NaCl,

-2 g de dihydrogénophosphate de sodium,

-12 µl de rouge de phénol

-11 ml eau déminéralisée

-ajuster à pH 6,8

-20 g d'agar

-Remuer et réchauffer jusqu'à ce que l'agar fonde,

-Distribuer dans des tubes et stériliser à 121 ° C pendant 15 min.

-Ajouter 0,5 ml de solution d'urée dans chaque tube.

Solution d'urée :

-20 g d'urée (20%)

-100 ml d'eau déminéralisée

-Stériliser par filtration

4- Réactif de révélation

Solution lugol 1 pour l'activité amylolytique (amylase) :

-100ml eau distillé

-2g Iodure de potassium

-1g Iode métalloïde I₂

Solution lugol 2 pour l'activité pectinolytique (pectinase) :

- 330 ml eau distillé

- 1g de diiode (I₂)

- 5g d'iodure de potassium (KI)

Rouge Congo 1%

-1g de poudre de Rouge Congo

- 100ml eau distillée.

NaCl

-58.44g de NaCl

-1L eau distillées

5-Milieu d'identification

solution sucré 2% :

- 2g de sucre
- 100 ml d'eau distillée
- YNB 6.7 g
- Glucose 5 g
- Eau distillée 1000 ml
- 20g Glucose
- 1g de KH_2PO_4
- 0,5 g de MgSO_4
- 20 g d'Agar
- 1000 ml d'eau distillée

❖ Solution azoté 1%

- 1g de source azoté
- 100ml d'eau distillée

Annexe 2

1-Méthodes d'analyse

1-1-Dosage des sucres totaux (méthode de Dubois 1956)

-Principe

L'acide sulfurique concentré provoque à chaud la déshydratation des oses avec la formation d'hydroxy-méthyl furfural (cas d'un hexose) et d'un furfural (cas d'un pentose). Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des composés colorés dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en oses.

-Réactifs

- Acide sulfurique concentré $d = 1.84$
- Phénol 5%

-Mode opératoire

- Ajouter à 1ml de l'extrait dilué 1ml de phénol 5% et 5ml d'acide sulfurique concentré
- Après agitation, laisser reposer 10 mn
- Incuber au bain-marie à 30°C pendant 20 à 30 mn
- Lecture à 488 nm par rapport à un témoin et une gamme étalon à 100 $\mu\text{g/ml}$ de glucose.

Résumé

Dans cette étude, nous nous sommes intéressées à l'isolement et l'identification des souches de levures productrices d'enzymes à intérêt industriel. L'isolement a été réalisé à partir de trois échantillons à savoir le yaourt, les pelures de la pomme de terre et lemzeiet.

Ces niches microbiennes ont permis l'isolement de 80 souches. Parmi ces dernières, 38 souches ont été sélectionnées selon la croissance rapide sur YPGA à 30°C. Le potentiel enzymatique des isolats étudiés a été évalué pour produire 09 activités différentes par la croissance des microorganismes sur différents substrats. Les enzymes étudiées sont α -amylase, pectinase, lipase, maltase, estérase, cellulase, protéase, laccase et uréase. Les résultats ont montré que les souches les plus perforantes pour chaque enzyme sont : α -amylase : P4, cellulase:Y 38, maltase : P28, protéase : M31, lipase :M3, laccase :P5, pectinase:M34, estérase: P37 et uréase:P4. L'identification des cinq souches sélectionnées a été réalisé par l'étude des caractères morphologiques et physiologiques. Les résultats ont révélé la capacité de trois souches P5, P10 et Y38 de former le mycélium et à l'exception de P37 et M35, les quatre souches P5, P10, M35 et Y38 ont une reproduction sexuée. Pour l'identification physiologique différentes sources de carbone ont été utilisées pour la fermentation à savoir : glucose, galactose, cellulose, D-xylose, raffinose, amidon soluble, maltose, lactose, saccharose. Pour l'assimilation de carbone et d'azote, les substrats azotés utilisés sont : peptone, sulfate, cystéine, tryptophane, guanine, adénine, thréonine, nitrate, leucine, aspartate, glutamine et glutamate et les substrats carbonés sont : arabinose, cellulose, glucose, galactose, raffinose, lactose, rhamnose, saccharose, manitol, amidon soluble, sorbitole, sorbose, D-xylose, inositol et maltose. Pour l'identification des levures étudiées, les résultats obtenus ont été comparés avec ceux de Kurtzman et al., 2011. Selon la comparaison, les souches levuriennes P5, P10, M35, P37, Y38 appartiennent probablement aux genres *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Lipomyces*. et *Schwanniomyces* respectivement

Mots clés : levure, α -amylase, pectinase, lipase, maltase, estérase, cellulase, protéase, laccase et uréase

في هذه الدراسة ، كنا مهتمين بعزل وتحديد سلالات الخميرة المنتجة لإنزيمات ذات أهمية صناعية. وقد تحققت العزلة من ثلاث عينات هي الزبادي وقشر البطاطس والمزيت. هذه المنافذ الميكروبية سمحت بعزل 80 سلالة. من هذه ، تم اختيار 38 سلالة على أساس النمو السريع على YPGA عند 30 درجة مئوية. تم تقييم إمكانات انزيم العزلات درس لإنتاج 09 الأنشطة المختلفة من خلال نمو الكائنات الحية الدقيقة على مختلف ركائز الانزيمات المدروسة هي ألفا الأميليز ، بكتيناز ، والليباز ، الشعير ، استريز ، السيلولوز ، الأنزيم البروتيني ، لكاز واليورياز . أسفل وقد أظهرت النتائج أن معظم سلالات تثقيب لكل انزيم هي: α - الأميليز : P4 ، سلولاز : Y 38 ، مالتاز : P 28 ، الأنزيم البروتيني : M 31 ، والليباز : M3 ، لكاز : P5 ، بكتيناز : M 34 ، استيراز : P37 و يورياز : P4. تم تحديد السلالات الخمسة المختارة من خلال دراسة الخصائص المورفولوجية والفسولوجية. وكشفت النتائج عن قدرة ثلاث سلالات P5 و P10 و Y38 على تكوين الميسيليوم ، وباستثناء P37 و M35 ، كانت السلالات الأربعة P5 ، P10 ، M35 و Y38 تحتوي على التكاثر الجنسي. للتعرف الفسيولوجي ، تم استخدام مصادر مختلفة لتخمير الكربون : الجلوكوز ، الجالاكتوز ، سيليبوز ، د-كزيلوز ، رافينوز ، النشا القابل للذوبان ، المالتوز ، اللاكتوز ، السكروز. ومن أجل امتصاص الكربون والنيتروجين ، فإن ركائز النيتروجين المستخدمة هي بيتون ، سولفات ، سيستين ، تريبتوفان ، غوانين ، أدينين ، ثيونين ، نترات ، لوسين ، أسبارتات ، غلوتامين و غلوتامات وركائز الكربون هي: أرابينوز ، سيليبوز ، الجلوكوز. الجالاكتوز ، الرافينوز ، اللاكتوز ، الرامنوز ، السكروز ، المانيتول ، النشا القابل للذوبان ، السوربيتول ، السوربوز ، د-كزيلوز ، اينوزيتول ، المالتوز ، وتمت مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها مع نتائج كورترمان وآخرون ، 2011 . و سمحت المقارنة بتصنيف السلالات الخمس للخمائر P5 ,P10 ,P37 , Y38 , M35. و التي تنتمي إحتمالا و على التوالي إلى الأجناس التالية: :

Saccharomyces , Kluyveromyces . , Debaryomyces . , Lipomyces . et Schwanniomyce

كلمات المفتاح: الخميرة، أميلاز، بيكتيناز، سيلولاز، بروتيناز، ليباز، لاكتاز، يورياز، إستيراز و مالتاز.

Abstract

In this study, we have been interested in the isolation and identification of yeast strains producing enzymes of industrial interest. Isolation was achieved from three samples namely yoghurt, potato peel and lemzeiet. These microbial niches allowed the isolation of 80 strains. Of these, 38 strains were selected based on rapid growth on YPGA at 30 ° C. The enzymatic potential of the isolates studied was evaluated to produce 09 different activities by the growth of microorganisms on different substrates. The enzymes studied are : alpha-amylase, pectinase, lipase, maltase, esterase, cellulase, protease, laccase and urease. The results showed that the most perforating strains for each enzyme are: for α -amylase: P4, cellulase: Y 38, maltase: P 28, protease : M 31, lipase : M3, laccase : P5, pectinase: M 34, esterase: P37 and urease: P4. The identification of the five selected strains was made by studying the morphological and physiological characteristics. The results revealed the ability of three strains P5, P10 and Y38 to form mycelium and with the exception of P37 and M35, the four strains P5 , P10 ,M35 and Y38 had sexual reproduction. For physiological identification, different carbon sources were used for fermentation: glucose, galactose, cellubiose, D-xylose, raffinose, soluble starch, maltose, lactose, sucrose. For the assimilation of carbon and nitrogen, the nitrogen substrates used are peptone, sulphate, cystein, tryptophan, guanine, adinine, threonine, nitrate, leucine, aspertate, glutamine and glutamate and the carbon substrates are: arabinose, cellubiose, glucose , galactose, raffinose, lactose, rhamnose, sucrose, manitol, starch-soluble, sorbitol, sorbose, D-xylose, inositol and maltose. The results obtained for this test are compared to the results of kurtzman et al., 2011 to identify the 05 strains selected. According to the comparisons, the yeast strains P5, P10, M35, P37, Y38 probably belong to the genera *Saccharomyces.*, *Kluyveromyces.* ,*Debaryomyces.*, *Lipomyces.* and *Schwanniomyces.* respectively

Key words : levure, α -amylase, pectinase, lipase, maltas, estérase, cellulase, protéase, laccase et uréase