

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

GLOSSAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXES

INTRODUCTION.....1

1ère partie: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES LEVURES	3
I.1. GÉNÉRALITÉS	3
I.2. CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES	3
I.3. BESOINS NUTRITIFS DES LEVURES	4
I.3.1. Source de carbone	4
I.3.2. Source d'azote.....	4
I.3.3. Besoins en lipides	5
I.3.4. Oligoéléments et facteurs de croissance	5
I.4. BESOINS PHYSICO-CHIMIQUES.....	5
I.4.1. La température	5
I.4.2. L'humidité et activité de l'eau	5
I.4.3. Le pH	6
I.5. MODE DE REPRODUCTION	6
I.6. CLASSIFICATION DES LEVURES	7
I.7. IMPORTANCE DE LA LEVURE	7
II. LE FRUIT DE TAPIA	8
II.1. HISTORIQUE ET DESCRIPTION DE LA PLANTE	8
II.2. ORIGINE	9
II.3. POSITION SYSTÉMATIQUE	9
II.4. UTILISATIONS.....	10

2ème partie: MATERIELS ET METHODES

I. MATERIELS	11
I.1. MATERIEL VEGETAL	11
I.1.1. Principe de collecte	11
I.1.2. Mode opératoire.....	11
I.2. MATERIELS DE LABORATOIRE.....	11

II. METHODES	11
II.1. ISOLEMENT DES LEVURES	11
II.1.1. Préparation de la suspension mère	12
II.1.2. Culture des levures	12
II.1. 3. Caractérisation des colonies isolées	12
II.2. PURIFICATION	13
II.3. CONSERVATION	13
II.4. IDENTIFICATION	14
II.4.1. ETUDE DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET CULTURAUX	14
II.4.1.1. Observation macroscopique	14
II.4.1. 2. Observation microscopique	14
II.4.1.2.1. Examen à l'état frais	14
II.4.1.2.2. Coloration Gram	15
II.4.2. ETUDE DES CARACTERES PHYSIOLOGIQUES	16
II.4.2.1. Type respiratoire	16
II.4.2.2. Test de catalase	16
II.4.3. ETUDE DES CARACTERES BIOCHIMIQUES	17
II.4.3.1. Test sur milieux spécifiques	17
II.4.3.1.1. Test sur milieu HAJNA-KLIGLER	17
II.4.3.1.2. Test sur milieu MANNITOL-MOBILITE	17
II.4.3.1.3. Test sur milieu LYSINE-FER	18
II.4.3.1.4. Test sur milieu CITRATE DE SIMMONS	18
II.4.3.2. Test sur API 20 C AUX	19
II.4.3.3. Auxanogramme du carbone	19

3ème partie: RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	20
I.1. ISOLEMENT	20
I.2. PURIFICATION ET CONSERVATION	20
I.3. IDENTIFICATION DES SOUCHES	20
I.3.1. Caractères cultureux des colonies	20
I.3.2. Caractères morphologiques	22
I.3.2.1. Examen à l'état frais	22
I.3.2.2. Coloration Gram	24
I.3.3. Caractères physiologiques	24

I.3.3.1 Recherche de catalase.....	25
I.3.3.2. Type respiratoire.....	25
I.3.4.Caractères biochimiques.....	26
I.3.4.1 Tests sur milieux spécifiques.....	27
I.3.4.2. Auxanogramme du carbone.....	28
I.3.4.3. Test sur API 20 C AUX.....	29
I.4. CLASSIFICATION DES SOUCHES.....	30
II. DISCUSSION.....	31
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	34
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	36
REFERENCES WEBOGRAPHIQUES.....	41
ANNEXES	
ABSTRACT	
RESUME	

LISTE DES ABREVIATIONS

°C: degré Celsius

APG III: Angiosperm Phylogeny Group III system

ASJA: Athénée Saint Joseph Antsirabe

a_w: activity water

CIRM-Levures : Centre International de Ressources Microbiologiques sur les
Levures

CO₂: dioxyde de carbone

CSFL : Chambre Syndical Française de la Levure

EMLEM : Etude Microbiologique des levures endogènes de Madagascar

g: gramme

GLU: Glucose

H₂O: eau

H₂O₂: eau oxygénée

H₂S: sulfure d'hydrogène

ha: hectare

ISO: International Standard Organisation

LACT: Lactose

LDA : Lysine désaminase

LDA : Lysine désaminase

LDC : Lysine décarboxylase

LDC: Lysine décarboxylase

ml: millilitre

NaCl: chlorure de sodium

O₂: oxygène

PCA: Plate Count Agar

UFC: Unité formant colonie

GLOSSAIRE

Catalase : enzyme qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxyde.

Colonie : un amas de cellules qui ont les mêmes caractères culturels, physiologiques et biochimiques.

Endémique : propre au pays, non présente nulle part ailleurs.

Facteur de croissance : toute substance organique, apportée en petite quantité, indispensable à la vie mais dont le vivant est incapable de synthétiser. Sa carence (absence ou insuffisance) perturbe le métabolisme du vivant.

Fermentation : transformation que subissent certaines matières organiques (substrats) sous l'action d'enzymes sécrétées par des microorganismes et qui conduit à la formation de produits (alcool, acide lactique, ...) et de biomasse.

Galerie API : ensemble de petits tubes contenant des milieux prêts à l'emploi permettant l'identification de microorganismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

Héliophile : plante préférant le soleil direct c'est-à-dire la forte luminosité pour vivre.

Métabolisme : ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein d'un être vivant pour lui permettre notamment de se maintenir en vie, de se reproduire, de se développer et de répondre au stimulus de son environnement.

Mycélium : partie végétative des champignons, formée de filaments souterrains ramifiés, généralement blanc, et sur laquelle croissent les carospores ou champignons.

Pyrophyte : plante qui a la capacité de se multiplier après les incendies.

Plante saillante : plante dont les appareils reproducteurs dépassent nettement ce qui l'entoure.

Sclérophylle : végétal à feuilles dures et épaisses bien adapté à la sécheresse.

Sempervirente : plante à feuilles persistantes (feuilles conservées toute l'année).

Sternutatoire : substance irritante qui produit l'éternuement ou l'ébrouement.

Toxique : produit nocif pour l'organisme.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Exemple de colonies d'une souche de levure	4
Figure 2 : Division de cellules levuriennes par bourgeonnement	6
Figure 3 : Arbre de Tapia.....	9
Figure 4 : Fruit de Tapia sur l'arbre.....	9
Figure 5 : Les suspensions mères avant ensemencement.....	12
Figure 6: Souches 28, 2 et 22 observées au microscope après la coloration Gram...24	
Figure 7: Résultats de la galerie API de la souche M-TA 13.....	29
Figure 8: Résultats de la galerie API de la souche M-TA 33.....	29

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractères macroscopiques des colonies des souches de levures.....	21
Tableau 2 : Caractères morphologiques des souches de levures isolées.....	22
Tableau 3 : Caractères physiologiques des souches de levures isolées.....	24
Tableau 4 : Caractères biochimiques des souches de levures isolées.....	26
Tableau 5 : Tableau des identités des souches de levures isolées.....	30

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I: Coordonnées géographiques de la collecte	
ANNEXE II: Positions systématiques des souches identifiées	
ANNEXE III: Composition des milieux de culture utilisés	
ANNEXE IV : Résultats d'identification sur CIRM-levures	



INTRODUCTION

Les levures sont des microorganismes faisant partie des champignons unicellulaires donc des microorganismes évolués ou protiste supérieur. Elles ont été les microorganismes observés en premier au microscope par A. Van Leeuwenhoek en 1680 (BERRAHO, 2009). Le thalle de la levure est l'appareil végétatif le plus simple, ne présentant ni tige, ni rameau, ni feuille et non chlorophyllien (HENCKE, 2000). Les découvertes de Pasteur ont montré que ces levures sont des microorganismes utiles et peuvent être exploités dans les industries, surtout en industrie agro-alimentaire (BENAOUIDA, 2008). Elles sont utilisées par l'homme depuis des millénaires dans la fabrication de nombreux produits alimentaires notamment pour la fabrication de boissons fermentées et la panification. (BOUIX et LEVEAU, 1991 ; POL, 1996). Actuellement, en raison de leur double état de micro-organisme et d'eucaryote, les levures constituent un matériel expérimental de choix (POL, 1996).

Une grande variété de levures se trouvent partout dans l'écosystème, en particulier chez les végétaux riches en sucres directement assimilables, comme les fruits et les fleurs, qui ont les principales caractéristiques adaptées à leur développement (BOUIX et LEVEAU, 1991 ; MERABTI, 2006). De nombreuses levures ont été isolées et étudiées afin de sélectionner des souches à potentialités valorisables (MERABTI, 2006). Selon des études, les souches de levure présentent une diversité génétique qui résulte de leur évolution sous la pression de sélection du milieu dans lequel elles se trouvent (MARTINS, 2012).

Les fruits sont des aliments riches en vitamines donc il est nécessaire aux hommes d'en manger. Une énorme variété de fruits existe dans le monde. Ces variétés, dans une région ou un pays déterminé, dépendent de la zone climatique, de la température ainsi que de l'humidité et de la nature du sol.

Madagascar présente 12000 espèces de Flore dont 85% sont endémiques (RABETALIANA, 2003). Quelques fruits sont classés dans cette flore endémique et chaque espèce de ces fruits caractérise généralement une région. Parmi ces fruits

endémiques compte le fruit nommé vernaculairement "Tapia" et scientifiquement *Uapaca bojeri*, de la région d'Arivonimamo, qui fructifie chaque année entre le mois de Septembre et Décembre (KULL *et al.*, 2005). Selon une croyance villageoise relative à la forêt de Tapia, la cueillette des fruits sur pied demeure un tabou et seuls ceux tombés par terre peuvent être récoltés (KULL *et al.*, 2005). Des études ont montré que la forêt du Tapia contribue au maintien de la stabilité du sol forestier, plus précisément, protège le sol contre l'érosion (BAOHANTA, 2011). Outre le fait d'être comestibles, les fruits du Tapia sont surtout destinés à nourrir les vers à soie (KULL *et al.*, 2005).

Le Tapia, étant un fruit, est sûrement une niche favorable au développement des levures. Il est de surcroît endémique de Madagascar donc pourrait héberger des souches de levure qui seraient spécifiques au pays. D'où notre étude qui consiste en l'isolement et l'identification des levures du fruit de Tapia ou *Uapaca bojeri*, un fruit endémique de Madagascar récolté dans la région d'Arivonimamo.

Notre travail sera présenté dans trois parties composées de la synthèse bibliographique qui va expliquer les caractéristiques des levures et du fruit de Tapia, des matériels et méthodes qui va illustrer les différentes procédures que nous avons adoptées pendant les manipulations effectuées lors de notre stage et enfin les résultats et discussion. L'introduction précède ces parties qui seront suivies par la conclusion et les perspectives.

A green scroll graphic with a white outline, featuring a vertical strip on the left side and a small circular detail at the top right corner.

1^{ère} Partie :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES LEVURES

I.1. GENERALITES

Les scientifiques ont initié leurs études portant sur les levures après l'apparition du microscope en 1680, alors que l'emploi des levures date bien avant cette année (HENCKE, 2000).

Les levures peuvent être définies comme des eucaryotes microscopiques. Le caractère unicellulaire et l'absence de vrai mycélium (dans la plus grande partie de leur cycle biologique) classent les levures en hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons unicellulaires (GUIRAUD, 1998).

Le nom levure, issu du mot latin « levare » qui signifie « lever », est appliqué aux microorganismes capables de produire du dioxyde de carbone (CO₂) pendant la fermentation, de convertir des glucides simples en matériel de réserve comme le glycogène et le tréhalose (ROSE et HARRISSON, 1987 ; LABRECQUE, 2003) et de lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (OTENG-GYANG, 1984).

Les levures sont très largement répandues dans notre environnement puisqu'ils occupent presque toutes les niches écologiques existant dans la nature : le sol, l'eau, l'air, selon les conditions physico-chimiques qui y règnent (PORCHET, 1931).

Les levures élaborent une masse importante de protéines à partir d'une solution d'azote simple (ammoniaque) et de sucres fermentescibles, c'est pour cela qu'elles sont considérées comme étant des usines à protéines (BENAOUIDA, 2008).

I.2. CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Les levures sont des micro-organismes eucaryotes (noyau bien différencié limité par une membrane nucléaire), non photosynthétiques, chimio-hétérotrophes, champignons à thalle unicellulaire immobiles. Les levures ont une taille plus grande et une masse importante par rapport aux bactéries. Sa masse est 100 fois plus grande que celle des bactéries (HENCKE, 2000). La figure 1 nous montre un exemple de colonies d'une souche de levure.

Du point de vue forme, les levures sont principalement ovoïdes ou sphériques, parfois allongées, cylindriques ou en bâtonnet (MERABTI, 2006).

La couleur des levures varie d'une espèce à l'autre. Toutefois, la couleur blanchâtre, jaunâtre, verdâtre sont les plus retrouvées lors des études des levures déjà effectuées (MERABTI, 2006 ; BENAOUIDA, 2008).



Figure 1 : Exemple de colonies d'une souche de levure (source : google)

I.3. BESOINS NUTRITIFS DES LEVURES

Pour leur développement, les levures ont besoin de divers éléments.

I.3.1. Source de carbone

Le carbone constitue 50 % du poids sec de la levure (LEVEAU et BOUIX, 1993). Généralement, la levure utilise les mêmes composés carbonés en tant que source d'énergie, de carbone et d'hydrogène. Les levures ont besoin de glucides (BOURGEOIS et LARPENT, 1996) mais par contre la nature du ou des sucre(s) assimilable(s) varie selon l'espèce (FERREIRA, 1997).

I.3.2. Source d'azote

L'azote, sous forme organique ou non, est indispensable lors de la multiplication lévurienne (LARPENT et GOURGAUD, 1997). Du point de vue quantité, il est le deuxième constituant apporté par le milieu (LEVEAU et BOUIX, 1993).

La synthèse des composés azotés structuraux et fonctionnels de la cellule dépend de leurs formes oxydées ou réduites parce que les levures ne peuvent pas fixer l'azote libre (BABJEVA *et al.*, 1977).

I.3.3. Besoins en lipides

Les lipides peuvent être indispensables pour la croissance des levures.

I.3.4. Oligoéléments et facteurs de croissance

Les sels minéraux et les oligoéléments, à de très faibles concentrations, sont nécessaires pour la plupart des microorganismes, dont les levures, pour assurer un développement adéquat (LARPENT et SANGLIER, 1992 ; BOIRON, 1996). De plus, d'autres facteurs comme les vitamines sont aussi essentiels (BOIRON, 1996).

I.4. BESOINS PHYSICO-CHIMIQUES

I.4.1. La température

La température est un des facteurs le plus important dans la croissance et la survie des micro-organismes (ROSSO *et al.*, 1995) donc elle influence aussi la structure de la population levurienne (PETTERSSON et BAATH, 2003). La température optimale de croissance de la majorité des levures se situe entre 25 et 30°C ; la température maximale de croissance se situe entre 35 et 45°C. Toutefois, il existe des levures qui subsistent à une température proche de 0°C (levures psychrophiles) ou à plus de 50°C (levures thermophiles) (NOMENJANAHARY, 2014).

I.4.2. l'humidité et activité de l'eau

L'humidité est un facteur important pour la croissance et la diversité microbienne, d'après plusieurs études dans différents écosystèmes (LEYDEN *et al.*, 1987; BUTENSCHOEN *et al.*, 2011). L'activité microbienne peut être ralentie si l'humidité augmente (LINN et DORAN, 1982; DUHAIL, 1999; HORZ *et al.*, 2004).

Chaque microorganisme présente des besoins en eau spécifique. Dans la majorité des cas, les levures sont plus exigeantes que les bactéries et les autres champignons. Les levures exigent une activité de l'eau $a_w \geq 0,90$ (activity water = a_w) (CHRISTIAN, 1980).

I.4.3. Le pH

Le pH optimal de développement dépend du type de micro-organisme (CHAMIER 1987; ROUSK *et al.*, 2010). Les levures tolèrent un pH entre 2,4 à 8,6 (LECLERC, 1975 ; NOMENJANAHARY, 2014), leur croissance optimale se situe généralement entre 4,6 et 6,5. Toutefois, quelques espèces peuvent s'adapter à des milieux très acides (levures acidophiles) ou très basiques (levures alcalophiles) (NOMENJANAHARY, 2014).

I.5. MODE DE REPRODUCTION

Le mode de reproduction des levures, organismes unicellulaires, se fait principalement par bourgeonnement (figure 2). Le bourgeon grandit peu à peu, et forme une nouvelle cellule qui se détache de la cellule mère (MERABTI, 2006)

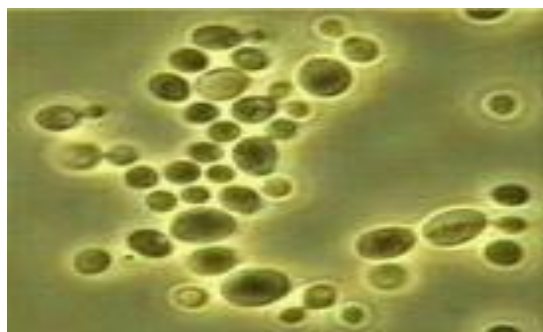


Figure 2 : Division de cellules lévuriennes par bourgeonnement

(Kwon-Chung et Bennett, 1992)

I.6. CLASSIFICATION DES LEVURES

Pour les levures, la classification KURTZMANN, FELL et BOECKHOUT en 2011 est actuellement la référence.

Les levures sont incluses dans le règne des *Fungi* et se divisent en six grands phylums (divisions ou embranchements) qui sont :

- ❖ ASCOMYCOTA : se reproduisent par un processus sexué dans un asque résultant de la transformation d'une cellule après méiose.
- ❖ BASIDIOMYCOTA : se reproduisent par un processus sexué avec formation de basidiospores sur une baside.
- ❖ CHYTRIDIOMYCOTA : ayant des zoospores (spores flagellés) à un flagelle mais il n'y a pas de mycélium.
- ❖ DEUTEROMYCOTA : connu sous le nom de *Fungi imperfecti* (levures imparfaites), à reproduction végétative.
- ❖ GLOMEROMYCOTA : n'ayant pas de reproduction sexuée ; à mycélium siphonné, sans cloison.
- ❖ ZYGOMYCOTA : ayant des zygospores (fusion de deux gamétanges), avec un mycélium siphonné, sans cloison.

I.7. IMPORTANCE DE LA LEVURE

La diversité des espèces augmente les utilisations de la levure et en fait un microorganisme de choix pour un champ considérable d'applications. Les levures sont utilisées :

- ❖ En industrie alimentaire et industrie de fermentation. Elles sont utilisées comme levures « ferments » (HENCKE, 2000)
- ❖ comme des levures « aliments » si son utilisation est à des fins nutritionnelles (BERRAHO, 2009)
- ❖ pour restaurer la flore intestinale et synthétiser des protéines thérapeutiques à haute valeur ajoutée (hormones, vaccins...), pour cela les levures sont comme des levures « médicaments » (ROUSK *et al.*, 2010).

- ❖ comme « outil de laboratoire » pour étudier la génétique et la biologie des organismes eucaryotes (ROUSK *et al.*, 2010).
- ❖ pour les traitements des eaux résiduaires et des matières organiques et minérales non assimilées (LINN et DORAN, 1982)

II. LE FRUIT DE TAPIA

II.1. HISTORIQUE ET DESCRIPTION DE LA PLANTE

Le genre afro-malagasy *Uapaca* a été établi en 1858 par Baillon avec 12 espèces dont deux présentes à Madagascar : *Uapaca densifolia* et *Uapaca bojeri* (RADCLIFFE, 1993). Selon les croyances Malagasy, si les fruits d'*Uapaca bojeri*, fruits endémiques de Madagascar, sont cueillis encore sur l'arbre, un malheur va frapper le village, telle une chute de grêle pouvant conduire à la destruction des cultures.

L'arbre d'espèce *Uapaca bojeri* peut atteindre 9 à 12 m de hauteur comme dans la figure 3. C'est une essence sempervirente, sclérophylle, héliophile (KOECHLIN *et al.*, 1974) et pyrophyte (GADE, 1985). Sa cime présente un aspect sphérique, rappelant quelque peu celle de l'olivier (VIGNAL, 1963).

Les fruits sont des drupes obovoïdes, oblongues, arrondies, à côtes plus ou moins saillantes. Ils sont verts ou jaunes sur l'arbre ; deviennent bruns comme ceux de la figure 4 lorsqu'ils sont mûrs et tombent au sol. C'est un fruit comestible et juteux formé d'une drupe à mésocarpe charnu, sucré, gluant et d'un endocarpe ligneux protégeant à maturité trois graines atteignant jusqu'à 18 mm de long (KULL *et al.*, 2005).



Figure 3 : Arbre de Tapia (échelle : 1/200)



Figure 4 : Fruit de Tapia sur l'arbre

II.2. ORIGINE

Le fruit d'*Uapaca bojeri* est un fruit endémique de Madagascar. Il est rencontré dans les hautes terres centrales comme à Arivonimamo et du côté d'Ambositra (KULL *et al.*, 2005). Madagascar représente 12000 ha de forêt dont les 16% forment la forêt de Tapia d'Arivonimamo c'est-à-dire à peu près 2000ha (RATSIMBASON et RAMANARIVOSOA, année inconnue)

II.3. POSITION SYSTEMATIQUE

Selon le système APG III (*Angiosperm Phylogeny Group III system*), *Uapaca* est un genre Afro-Malagasy connu avec 12 espèces mais seules 2 espèces existent à Madagascar, y compris l'espèce *Uapaca bojeri* (LEANDRI, 1957 ; KULL *et al.*, 2005).

Ci-après la position systématique de l'espèce endémique :

Règne : VEGETAL

Embranchement : SPERMATOPHYTES

Classe : DICOTYLEDONES

Ordre : EUPHORBIALES

Famille : EUPHORBIACEAE

Genre : *Uapaca*

Espèce : *bojeri*

Noms vernaculaires : *Tapia* (français et malagasy en général), *hazondandy* (merina, betsileo, ancien), *voampaka* (betsileo), *voanTapia* (betsileo)

II.4. UTILISATIONS

Le *Tapia*, non seulement les fruits mais la plante entière, est de multiples usages :

- Les forêts de *Tapia* ont des fonctions écosystémiques importantes (RABETALIANA *et al.*, 2003). Elles contribuent à la protection du sol contre l'érosion, au maintien de l'environnement à proximité des cultures et des habitations, à la régulation du cycle de l'eau par le phénomène de rétention et d'évapotranspiration (RAJOELISON *et al.*, 2009).
- La forêt de *Tapia* forme également un habitat préférentiel pour certains animaux (hérissons, vers à soie). *Uapaca bojeri* constitue la principale plante nourricière des vers à soie sauvages (GADE, 1985).
- L'exploitation de la forêt à Madagascar est essentiellement destinée à couvrir les usages domestiques (MINTEN *et al.*, 2003) d'où les populations utilisent le bois de *Tapia* comme matériel de construction pour leur maison (échelles, piliers de véranda), comme matériel et accessoire d'usage quotidien (pilon, *rambaramba*) ainsi que pour les poteaux de clôture des bétails (INTERCOOPERATION, 2009).
- Le *Tapia* produit de grandes quantités de petits fruits juteux qui sont commercialisés depuis plus de 200 ans (KULL *et al.*, 2005). Les fruits de *Tapia* sont destinés également à la fabrication de boissons alcoolisées.
- La tige de *Tapia* fournit le meilleur produit à mêler au tabac pour augmenter ses propriétés sternutatoires (KULL *et al.*, 2005).
- L'écorce de l'arbre de *Tapia* est utilisée dans le cas de dysenterie (CABANNIS *et al.*, 1969).

A green scroll graphic with a white outline, featuring a white scroll edge on the left and a small white scroll edge on the top right. The text is centered within the scroll.

2^{ème} Partie :
MATERIELS
ET METHODES

I. MATERIELS

I.1. MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal que nous avons utilisé est le fruit de *Tapia* collecté dans la Région d'Arivonimamo, présentée en annexe I.

I.1.1.Principe de collecte

La collecte se fait en suivant les conditions d'asepsie parfaite, loin des routes nationales, des habitations et des activités humaines et animales afin d'éviter autant que possible toute contamination microbienne (RAMIANDRASOA, 2014).

I.1.2. Mode opératoire

Les fruits de *Tapia* tombés sur le sol sont ramassés stérilement, mis en sachet et conservé dans une glacière à 4°C. Le port de gants est obligatoire pour le ramassage. Les échantillons sont composés de 3 lots de 125 grammes de fruit chacun. Ces derniers sont transportés et conservés stérilement à l'université ASJA jusqu'à leur utilisation.

I.2. MATERIELS DE LABORATOIRE

Les matériels utilisés sont ceux du laboratoire de microbiologie et de physico-chimie de l'Athénée Saint Joseph Antsirabe (ASJA).

II. METHODES

Au laboratoire, toutes les manipulations sont réalisées dans des conditions d'asepsie parfaite.

II.1. ISOLEMENT DES LEVURES

L'isolement consiste à séparer les différents types de souche de levure contenus dans un mélange. Ainsi, le but est de séparer donc d'isoler les unes des autres toutes les souches de levure présentes dans chaque lot de fruits de *Tapia*.

II.1.1. Préparation de la suspension mère

Selon la norme (NFV 08-002), Xg de l'échantillon à étudier est mis en suspension dans une solution de NaCl 9‰ jusqu'à l'obtention du volume 10x X ml. Pour cela, 25g de chaque lot de fruit sont pesés, découpés en tranches minces puis mélangés avec 225ml de NaCl 9‰ pour obtenir un volume total de 250 ml. La suspension mère, illustrée par la figure 5, est obtenue après une douce agitation du mélange.



Figure 5: Les suspensions mères avant ensemencement

II.1.2. Culture des levures

Le milieu Sabouraud est le milieu sélectif utilisé pour l'isolement et pour mettre en évidence les caractères macroscopiques des levures et moisissures.

Le coulage du milieu se fait dans des boîtes de Pétri et pour une bonne répartition du milieu, il faut tourner délicatement chaque boîte sur la paillasse et attendre sa solidification. Dès la solidification du milieu, 1 ml de chaque solution mère est ensemencé à la surface de la gélose. Enfin, chaque boîte est renversée et incubée pendant 24 heures à 30°C.

II.1.3. Caractérisation des colonies isolées

Les colonies bien isolées, indépendamment des moisissures sont observées à la surface de chaque milieu pour déterminer le nombre de types de colonies de chaque lot

de fruitensemencé.

La caractérisation des colonies isolées repose sur l'observation macroscopique de leurs caractéristiques : forme, taille, relief, couleur, consistance, etc.... Toutes les colonies qui présentent les mêmes caractéristiques font partie d'un seul type de colonie. Le nombre de types de colonie déterminé équivaut au nombre de souches de levure isolées à partir de chaque lot de fruit de Tapia.

II.2. PURIFICATION

La purification a pour but de ré-isoler les différents types de colonies présents à la surface d'un milieu afin d'obtenir des cultures pures. Une culture pure contient une population homogène formée par des colonies identiques en tout point donc une seule souche de levure (souche pure).

Chaque type de colonies trouvé dans chaque culture est repiqué dans une boîte de Pétri muni déjà du milieu Sabouraud. La méthode utilisée est la méthode de quadrillage : ensemencement de l'inoculum selon une série de stries parallèles puis, sans rechargement ni stérilisation de l'ose, selon une 2^{ème} série de stries perpendiculaires à celles de la 1^{ère} série. L'incubation se fait 24 heures à 30°C.

Pour assurer la purification, le repiquage de chaque type de colonies est répété plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'une souche pure de levure.

II.3. CONSERVATION

Le principe est de conserver le plus longtemps possible la pureté des souches de levure obtenues c'est-à-dire qu'elles doivent garder toutes leurs propriétés et que toute contamination est strictement à éviter.

Chaque souche pure est ensemencée en stries serrées faites à partir du fond vers le haut d'un tube vissé contenant du milieu Sabouraud-Chloramphénicol 5% en surfusion. La culture est incubée durant 24 heures à 30°C avant d'être conservée au réfrigérateur à +4°C.

II.4. IDENTIFICATION

L'identification microbienne doit toujours être menée sur des souches pures. Elle aboutit à la détermination du genre et de l'espèce auxquels appartient chaque souche microbienne.

L'identification des souches de levure comporte une série d'étude dont l'étude des caractères morphologiques et cultureux, l'étude des caractères physiologiques et l'étude des caractères biochimiques.

II.4.1. ETUDE DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET CULTURAUX

Dans cette étude, pour chaque souche pure de levure, un examen macroscopique des colonies constitutives est effectué puis un examen microscopique des cellules formant ces colonies.

II.4.1.1. Observation macroscopique

Les colonies de chaque souche pure de levure sont observées à l'œil nu afin de déterminer leurs caractères cultureux notamment : leur taille, leur couleur, leur forme du relief, leur contour, l'aspect de leur surface, leur consistance et leur opacité.

II.4.1. 2. Observation microscopique

Un échantillon de chaque souche pure de levure est observé sous microscope pour déterminer les caractères morphologiques des cellules qui la constituent.

II.4.1.2.1. Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais est une observation pour trouver les caractéristiques des cellules vivantes de chaque souche pure de levure.

Une ansée d'une colonie est mélangée avec une goutte d'eau distillée déjà déposée sur une lame mince bien dégraissée. La préparation est ensuite recouverte d'une lamelle en évitant de faire des bulles d'air. L'observation s'effectue au microscope au fort

grossissement (x100) pour voir la forme, le mode de groupement et la mobilité des cellules constitutives de la souche pure.

II.4.1.2.2. Coloration Gram

La coloration Gram est la coloration différentielle systématiquement réalisée lors d'un examen microscopique des microorganismes (surtout des bactéries mais aussi des levures). Elle permet non seulement de confirmer la forme et le mode de groupement des cellules mais aussi de classer les microorganismes en deux grands groupes taxonomiquement différents:

- les microorganismes à Gram positif (Gram +) qui retiennent le colorant basique utilisé (cristal-violet) après lavage à l'alcool
- les microorganismes à Gram négatif (Gram -) qui sont décolorés par l'alcool et ne retiennent pas la coloration violette.

La technique de la coloration Gram commence par la préparation d'un frottis. Pour cela, un prélèvement issu d'une suspension de la souche pure de levure à étudier est étalé en couche mince sur une lame. Après séchage à l'air libre et la fixation par flambage, le frottis est recouvert par une solution de cristal-violet pendant une minute. Ce colorant est chassé avec une solution iodo-iodurée (Iugol) laissée sur le frottis pendant une minute puis rincer avec de l'eau distillée. Après, le frottis subit un mordantage par l'alcool 70°, un lavage avec de l'eau distillée puis recouvert d'une goutte de Fuschine de Ziehl. Enfin, le frottis est lavé avec de l'eau distillée et séché délicatement avec une feuille de papier Joseph avant d'être observé au microscope.

Les germes qui retiennent le colorant basique utilisé (cristal-violet) après lavage à l'alcool sont dites à Gram positif et celles qui ne le retiennent pas sont dites à Gram-négatif.

II.4.2. ETUDE DES CARACTERES PHYSIOLOGIQUES

II.4.2.1. Type respiratoire

Ce test consiste à identifier le comportement de la levure vis-à-vis de l'oxygène de l'air.

Le milieu utilisé pour ce test est le Plate Count Agar (PCA).

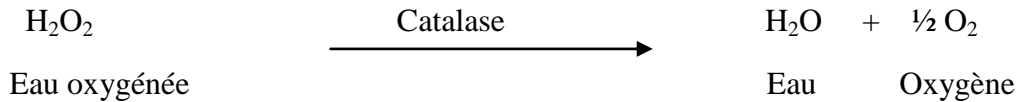
La culture classique se poursuit: préparation du milieu suivant sa concentration puis coulage de ce milieu dans des tubes vissés. L'ensemencement de la souche de levure à étudier se fait par une seule piqûre de l'anse au centre du milieu de culture verticalement vers le bas.

Après 24 heures d'incubation, quatre cas peuvent se présenter :

- Développement en profondeur de la levure caractérisé par la croissance des germes sur la partie inférieure de la ligne d'ensemencement : il s'agit de **levure anaérobie stricte** qui ne croît qu'en absence totale d'oxygène.
- Prolifération de la levure dans la partie supérieure du milieu de culture : **levure aérobie stricte** qui exige la présence d'oxygène pour se développer.
- Développement sur toute la hauteur du milieu avec une abondance près de la zone superficielle : **levure aéro-anaérobie facultative** qui croît aussi bien en présence qu'en absence d'oxygène, mais préférant l'aérobiose.
- Croissance sur toute la hauteur du milieu, mais plus marquée en profondeur : **levure anaéro-aérobie facultative** qui croît aussi bien en présence qu'en absence d'oxygène mais préférant l'anaérobiose.

II.4.2.2. Test de catalase

Ce test consiste à rechercher l'enzyme catalase dans chaque souche de levure isolée. Cette enzyme catalyse la dégradation de l'eau oxygénée (H_2O_2). L'action de la catalase provoque un dégagement d'oxygène d'après la réaction suivante :



Une goutte d'eau oxygénée est versée sur une suspension de levure déposée sur une lame porte-objet. La présence de la catalase dans la souche de levure se traduit par une effervescence c'est-à-dire un dégagement d'oxygène.

II.4.3. ETUDE DES CARACTERES BIOCHIMIQUES

II.4.3.1. Test sur milieux spécifiques

Chaque test est effectué afin de déterminer le métabolisme de chaque souche pure de levure.

II.4.3.1.1. Test sur milieu HAJNA-KLIGLER

Le test sur HAJNA-KLIGLER consiste à détecter la fermentation du glucose et lactose effectuée par chaque souche de levure.

Après le coulage du milieu, l'ensemencement se fait par une piqûre centrale dans le culot suivi des stries sur la pente de la gélose. L'incubation se fait toujours à 30°C pendant 24 à 48 heures.

La fermentation du glucose est marquée par un virage au jaune du culot et la fermentation du lactose par un virage jaune de la pente.

En outre, ce test vérifie le dégagement du dioxyde de carbone (CO₂) marqué par des bulles d'air ainsi que la production du sulfate d'hydrogène (H₂S) qui est marqué par un noircissement du culot.

II.4.3.1.2. Test sur milieu MANNITOL-MOBILITE

Le test sur MANNITOL-MOBILITE consiste à détecter l'utilisation du mannitol par la souche de levure et de vérifier sa mobilité.

Après le coulage du milieu, l'ensemencement se fait par une piqûre centrale du

milieu arrêtant à 1 cm du fond. L'incubation se fait toujours à 30°C pendant 24 à 48 heures.

La fermentation du mannitol est marquée par un virage au jaune du milieu et la croissance de germes en dehors de la ligne d'ensemencement en créant un trouble dans le milieu de culture marque la mobilité de la levure. Donc les souches immobiles croissent tout au long de la ligne d'ensemencement.

II.4.3.1.3. Test sur milieu LYSINE-FER

Le test sur LYSINE-FER consiste à détecter la présence de la Lysine décarboxylase (LDC) et de la Lysine désaminase (LDA) ainsi que l'utilisation du glucose et la formation d'H₂S.

Comme toute culture, après le coulage du milieu, l'ensemencement se fait par une piqûre centrale dans le culot suivi des stries sur la pente de la gélose. L'incubation se fait toujours à 30°C pendant 24 à 48 heures.

La présence de la Lysine décarboxylase (LDC) est marquée par la couleur violette du culot et une pente de couleur rouge vineux indique la présence de la Lysine désaminase (LDA). En outre, ce test vérifie la production du sulfate d'hydrogène (H₂S), marqué par un noircissement du culot.

II.4.3.1.4. Test sur milieu CITRATE DE SIMMONS

Ce test est utilisé pour rechercher l'utilisation du citrate par la souche de levure.

Après le coulage du milieu, l'ensemencement se fait par une strie longitudinale sur la pente à partir de 1 cm du fond. L'incubation se fait toujours à 30°C pendant 24 à 48 heures.

Une levure est dite citrate positif lorsqu'elle utilise le citrate comme seule source de carbone, provoquant ainsi une alcalinisation du milieu qui se traduit par un virage au bleu de l'indicateur du pH, le bleu de Bromothymol.

II.4.3.2. Test sur API 20 C AUX

API 20 C AUX est un système d'identification précise des levures conçu par Biomérieux S.A. Ce système permet de connaître le nom de genre et d'espèce des levures grâce au test et au profil numérique du logiciel d'identification « api web TM ». La galerie API 20 C AUX a comme support une plaque qui comporte 20 cupules contenant différents substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation.

Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables de métaboliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait après 48h à 72h d'incubation à 30°C en comparant aux témoins de croissance et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou du logiciel d'identification.

II.4.3.3. Auxanogramme du carbone

L'identification des souches de levure par la méthode d'auxanogramme se fait par la vérification de la différence de métabolisme des sucres simples. Le milieu de culture utilisé comporte l'eau distillée stérile additionnée d'un sucre précis. Les sucres utilisés sont le saccharose, l'amidon, le xylose, le L-Rhamnose Monohydrate, le gamma-lactose monohydrate et le sucrose.

Après coulage du milieu liquide, la souche à identifier estensemencée à l'aide d'une anse chargée d'inoculum. La préparation est incubée à 30°C pendant 48 à 72h avant de vérifier le pH de chaque souche pure de levure avec le pH-mètre.

L'utilisation du sucre dans le milieu par la souche de levure entraîne une acidification du milieu vérifié par la diminution du pH du milieu.

A green scroll graphic with a white outline, featuring a white scroll edge on the left and top-right corners. The text is centered within the scroll.

3^{ème} Partie :
RESULTATS
ET DISCUSSION

I. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I.1. ISOLEMENT

Trente-neuf types de colonies de levure ont été distingués après caractérisation de toutes les colonies obtenues après culture des solutions mères des extraits des 3 lots de fruits de *Tapia* étudiés.

I.2. PURIFICATION ET CONSERVATION

La purification des différents types de colonies a permis d'obtenir au total 39 souches pures de levure. Chaque souche de levure est codée par la première lettre du nom du manipulateur suivie d'un trait puis des deux lettres initiales du nom du fruit étudié, et enfin suivie du numéro de la souche. Ainsi, les souches de levure isolées à partir des fruits de *Tapia* sont codées en M-TA suivie du numéro de souche correspondante.

Les souches pures de levure codées, après leur culture dans des tubes vissés sont conservées à +4°C.

I.3. IDENTIFICATION DES SOUCHES

Taxonomiquement, les caractères cultureux, morphologiques, physiologiques et biochimiques distinguent les levures des autres champignons. Ces critères d'identification doivent être utilisés dans un ordre bien déterminé car ils n'ont pas tous la même importance. (BOUIX et LEVEAU, 1991)

I.3.1. Caractères cultureux des colonies

Les caractères cultureux observés sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractères cultureux des souches pures de levure

SOUCHES	TAILLE	COULEUR	ASPECT DE LA SURFACE	ASPECT DU CONTOUR	FORME DU RELIEF	OPACITE	CONSISTANCE
M-TA 1	p	B	L	R'	B'	O	C
M-TA 2	G	J	L	R'	B'	T	C
M-TA 3	p	J	L	R'	B'	T	C
M-TA 4	G	B	L	R'	sB	O	P'
M-TA 5	p	J	R	I	sB	T	C
M-TA 6	G	J	L	R'	sB	O	P'
M-TA 7	p	B	L	I	P	O	P'
M-TA 8	p	B	L	R'	sB	O	C
M-TA 9	p	J	L	R'	sB	T	C
M-TA 10	P	B	L	R'	sB	t	P'
M-TA 11	G	B	L	R'	B'	O	C
M-TA 12	p	J	L	R'	sB	T	C
M-TA 13	G	J	L	R'	B'	O	C
M-TA 14	G	V	L	I	sB	O	C
M-TA 15	G	V	R	I	sB	T	C
M-TA 16	p	J	L	R'	P	t	C
M-TA 17	p	V	L	R'	sB	T	C
M-TA 18	p	B	L	R'	B'	t	C
M-TA 19	G	B	L	R'	sB	O	P'
M-TA 20	p	B	L	R'	sB	O	C
M-TA 21	G	J	R	R'	sB	O	C
M-TA 22	G	B	L	I	P	O	S
M-TA 23	G	B	L	I	sB	T	P'
M-TA 24	G	B	L	R'	sB	t	C
M-TA 25	p	J	L	R'	P	O	S
M-TA 26	G	V	L	I	P	O	S
M-TA 27	G	J	R	I	P	O	S
M-TA 28	p	B	L	I	P	O	S
M-TA 29	p	V	L	I	B'	O	S
M-TA 30	p	V	L	R'	B'	O	P'
M-TA 31	p	V	L	I	P	O	S
M-TA 32	p	J	L	R'	sB	O	C
M-TA 33	p	V	R	R'	P	O	C
M-TA 34	p	B	R	R'	sB	t	C
M-TA 35	p	V	L	I	sB	O	C
M-TA 36	G	B	R	R'	sB	t	C
M-TA 37	G	V	L	I	sB	O	P'
M-TA 38	p	B	L	R'	sB	T	C
M-TA 39	G	B	R	R'	sB	t	C

p: petite ; G : Grande ; B : Blanchâtre ; J : Jaunâtre ; V : Verdâtre ; L : lisse ; R : Rugueuse ; R' : régulière ; I : irrégulière ; B' : bombée ; P : plate ; sB : semi-bombée ; O : opaque ; T : transparente ; t : translucide ; C : crémeuse ; S : sèche ; P' : pâteuse

D'après ces résultats, les colonies des 39 souches pures de levure présentent des analogies mais aussi des différences quant à :

- ❖ La taille : les souches sont bien divisées en deux (2) grands groupes : groupes de petite taille (23 souches) et l'autre groupe de grande taille (16 souches).
- ❖ La couleur : 17 souches sont blanchâtres, 12 souches jaunâtres et les 10 souches restantes sont verdâtres.
- ❖ L'aspect de la surface : 31 souches sont lisses et 8 souches rugueuses
- ❖ L'aspect du contour : 26 souches sont régulières, 13 irrégulières.
- ❖ La forme du relief : 5 souches sont bombées, 9 souches plates et 25 souches semi-bombées
- ❖ L'opacité : 23 souches opaques, 9 transparentes et 7 translucides.
- ❖ La consistance: 24 souches sont crémeuses, 9 pâteuses, 6 sèches.

I.3.2. Caractères morphologiques

I.3.2.1. Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais a permis d'observer sous microscope les cellules constitutives respectives des 39 souches pures de levure isolées.

Le tableau 2 résume les caractères morphologiques et la nature du Gram de toutes les souches de levure isolées.

Tableau 2 : Caractères morphologiques des souches de levure isolées

SOUCHES	FORME DE LA CELLULE	MODE DE GROUPEMENT	MOBILITE	GRAM
M-TA 1	ovoïde	isolé	immobile	-
M-TA 2	allongée	isolé	immobile	+
M-TA 3	allongée	amas	immobile	-
M-TA 4	ovoïde	amas	immobile	+
M-TA 5	ovoïde	chaînette	immobile	-
M-TA 6	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 7	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 8	ovoïde	chaînette	immobile	-
M-TA 9	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 10	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 11	ovoïde	paire	immobile	+
M-TA 12	ovoïde	amas	immobile	-

Tableau 2 (suite): Caractères morphologiques des souches de levure isolées

SOUCHES	FORME DE LA CELLULE	MODE DE GROUPEMENT	MOBILITE	GRAM
M-TA 13	ovoïde	amas	immobile	+
M-TA 14	allongée	amas	immobile	-
M-TA 15	ovoïde	amas	immobile	+
M-TA 16	ovoïde	chaînette	immobile	+
M-TA 17	ovoïde	amas	immobile	+
M-TA 18	ovoïde	paire	immobile	-
M-TA 19	allongée	amas	immobile	-
M-TA 20	ovoïde	chaînette	immobile	-
M-TA 21	allongée	chaînette	immobile	-
M-TA 22	allongée	amas	immobile	-
M-TA 23	allongée	isolé	immobile	+
M-TA 24	allongée	chaînette	immobile	+
M-TA 25	ovoïde	chaînette	immobile	-
M-TA 26	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 27	allongée	chaînette	immobile	-
M-TA 28	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 29	allongée	chaînette	immobile	-
M-TA 30	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 31	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 32	allongée	amas	immobile	-
M-TA 33	ovoïde	amas	immobile	-
M-TA 34	ovoïde	chaînette	immobile	+
M-TA 35	allongée	amas	immobile	-
M-TA 36	ovoïde	amas	immobile	+
M-TA 37	allongée	amas	immobile	-
M-TA 38	allongée	amas	immobile	+
M-TA 39	ovoïde	amas	immobile	+

(-) : négatif (+) : positif

D'après le tableau 2, les cellules des souches de levure diffèrent les unes des autres par rapport à leur forme et leur mode de groupement :

- Les cellules des souches sont soit ovoïde soit allongée.
- La plupart (24/39) de ces cellules sont groupées en amas ; 2 souches ont des cellules groupées par paire ; 3 souches (M-TA 1, M-TA 2, M-TA 23) sont formées par des cellules isolées et 10 souches par des cellules groupées en chaînette

Toutes les souches sont immobiles.

I.3.2.2. Coloration Gram

L'observation au microscope après coloration Gram a permis de séparer en deux grands groupes différents les souches de levure isolées : l'un levure à Gram positif de couleur violette et l'autre à Gram négatif coloré en rose illustrés par les résultats des souches de levure M-TA 28, M-TA 2 et M-TA 22 présentées dans la figure 6.

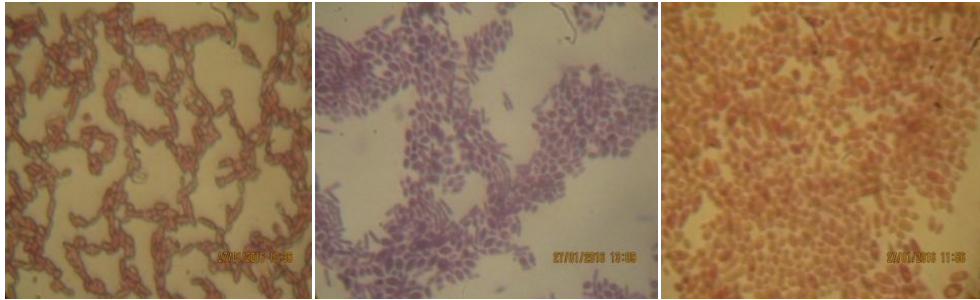


Figure 6 : Souches M-TA 28, M-TA 2 et M-TA 22 observés au microscope après la coloration Gram

Les résultats du tableau 2 montrent que parmi les 39 souches pures de levure isolées, 26 souches sont à Gram négatif et 13 souches à Gram positif.

I.3.3. Caractères physiologiques

Les caractères physiologiques font partie des paramètres fondamentaux pour identifier les souches de levure. Le tableau 3 résume les caractères physiologiques de toutes les souches de levure isolées.

Tableau 3 : Caractères physiologiques des souches de levure isolées

SOUCHES	CATALASE	TYPE RESPIRATOIRE
M-TA 1	+	Aéro-anaérobie facultatif
M-TA 2	-	
M-TA 3	+	
M-TA 4	-	
M-TA 5	+	
M-TA 6	+	
M-TA 7	-	
M-TA 8	+	
M-TA 9	+	
M-TA 10	+	

Tableau 3 : (suite) Caractères physiologiques des souches de levure isolées

SOUCHES	CATALASE	TYPE RESPIRATOIRE
M-TA 11	+	Aéro-anaérobie facultatif
M-TA 12	+	
M-TA 13	+	
M-TA 14	-	
M-TA 15	+	
M-TA 16	+	
M-TA 17	+	
M-TA 18	+	
M-TA 19	+	
M-TA 20	+	
M-TA 21	+	
M-TA 22	+	
M-TA 23	+	
M-TA 24	+	
M-TA 25	+	
M-TA 26	+	
M-TA 27	+	
M-TA 28	+	
M-TA 29	+	
M-TA 30	+	
M-TA 31	+	
M-TA 32	+	
M-TA 33	-	
M-TA 34	+	
M-TA 35	-	
M-TA 36	+	
M-TA 37	+	
M-TA 38	+	
M-TA 39	+	

I.3.3.1 Recherche de catalase

Les résultats obtenus montrent que la majorité des souches pures de levure isolées possèdent l'enzyme catalase qui prévient l'accumulation de l'eau oxygénée (H_2O_2) et seules les 6 souches de levure (M-TA 2, M-TA 4, M-TA 7, M-TA 14, M-TA 33, M-TA 35) en sont dépourvues.

I.3.3.2. Type respiratoire

Les résultats, déduits selon la croissance des souches de levure dans le milieu en tube, montrent que toutes les souches de levure sont aéro-anaérobies facultatives. Elles se développent sur toute la hauteur du milieu mais beaucoup plus en

abondance vers la surface donc préfèrent l'aérobiose. Ce qui confirme le caractère général de la plupart des levures (BENAOUIDA, 2008).

I.3.4. Caractères biochimiques

Le tableau 4 résume les caractères biochimiques de toutes les souches de levure isolées :

Tableau 4 : caractères biochimiques des souches de levure isolées

SOUCHES	HAJNA-KLIGLER				MAN NITO L-MOBILITE		LYSINE-FER			CITRATE DE SIMMONS	AUXANOGRAMME				
	GLU	LACT	H ₂ S	CO ₂	MANNITOL	MOBILITE	LDC	LDA	H ₂ S		SACCHAROSE	AMIDON	XYLOSE	L-RHAMNOSE	δ-LACTOSE
M-TA 1	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 3	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
M-TA 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 8	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
M-TA 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
M-TA 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
M-TA 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
M-TA 12	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
M-TA 14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 15	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+
M-TA 16	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 17	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+
M-TA 18	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
M-TA 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
M-TA 20	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
M-TA 21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
M-TA 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
M-TA 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 24	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-

Tableau 4 (suite): caractères biochimiques des souches de levure isolées

SOUCHES	HAJNA-KLIGLER				MAN NITO L-MOBI LITE		LYSINE-FER			CITRATE DE SIMMONS	AUXANOGRAMME				
	GLU	LACT	H ₂ S	CO ₂	MANNITOL	MOBILITE	LDC	LDA	H ₂ S		SACCHAROSE	AMIDON	XYLOSE	L-RHAMNOSE	β-LACTOSE
M-TA 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
M-TA 26	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+
M-TA 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
M-TA 28	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
M-TA 29	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+
M-TA 30	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
M-TA 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
M-TA 32	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
M-TA 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
M-TA 34	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
M-TA 35	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
M-TA 36	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
M-TA 37	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
M-TA 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
M-TA 39	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-

I.3.4.1 Tests sur milieux spécifiques

- ❖ La culture des souches de levure sur milieu Hajna-Kligler permet de dire :
 - 06 souches (M-TA 15, M-TA 17, M-TA 26, M-TA 32, M-TA 37, M-TA 35) sont capables de métaboliser en même temps le glucose et le lactose.
 - 18 souches (M-TA 4, M-TA 5, M-TA 6, M-TA 7, M-TA 9, M-TA 10, M-TA 11, M-TA 12, M-TA 13, M-TA 14, M-TA 19, M-TA 22, M-TA 23, M-TA 25, M-TA 27, M-TA 31, M-TA 33, M-TA 38) ne métabolisent ni le Glucose ni le lactose.
 - 02 souches (M-TA 29, M-TA 21) ne métabolisent que le Glucose
 - 13 souches (M-TA 1, M-TA 2, M-TA 3, M-TA 8, M-TA 16, M-TA 18, M-TA 20, M-TA 24, M-TA 28, M-TA 30, M-TA 34, M-TA 36, M-TA 39) ne métabolisent que le lactose.

La lecture sur ce milieu Hajna-Kligler prouve aussi la production de gaz carbonique(CO₂) par 6 souches de levure (M-TA 12, M-TA 14, M-TA 15, M-TA 17, M-TA 26, M-TA 29, M-TA 39). Ce qui signifie le non dégradation du glucose dans le culot (anaérobiose) et l'attaque par voie oxydative du glucose sur la pente (aérobiose).

Seule la souche M-TA 26 produit le sulfure d'hydrogène(H₂S) c'est-à-dire que les sulfates sont réduits en sulfure par la souche de levure.

- ❖ La culture des levures sur le milieu Mannitol nous a permis à voir que 21 souches ne sont pas capables d'utiliser le mannitol et 18 souches le métabolisent et toutes les souches sont aéro-anaérobies facultatives.
- ❖ Les résultats sur le milieu Lysine fer a montré l'enrichissement de la lysine décarboxylase (LDC) dans 2 souches de levure (M-TA 17 et M-TA 26) c'est-à-dire la production de la cadavérine qui réalcalinise le milieu. Par contre la lysine désaminase (LDA) n'est pas produite dans toutes les souches isolées.

Ici, la production de sulfure d'hydrogène(H₂S) par la souche M-TA 26 que nous avons vu lors de la culture sur Hajna-Kligler est prouvée par le noircissement du milieu.

- ❖ Pour la culture sur Citrate de Simmons, 21 souches sur 39 utilisent le citrate comme source de carbone.

I.3.4.2. Auxanogramme du carbone

L'assimilation des sucres est importante pour identifier les souches de levure. C'est un des critères de distinction des levures (WICKERHAM et BURTON, 1948).

Les résultats de l'auxanogramme montrent que :

- presque toutes les souches utilisent le saccharose pour croître soit 33 souches sur 39.
- les souches M-TA 36, M-TA 37, M-TA 38, M-TA 39 n'utilisent pas l'amidon.
- 2 souches seulement dégradent le xylose : M-TA 19, M-TA 39.

Résultats et discussion

- le L-Rhamnose est utilisé par les souches M-TA 5, M-TA 8, M-TA 10, M-TA 13, M-TA 15, M-TA 17, M-TA 18, M-TA 20, M-TA 22, M-TA 26, M-TA 29, M-TA 36, M-TA 39
- le gamma-lactose est utilisé par 26 souches de levure isolées.

I.3.4.3. Test sur API 20 C AUX

Quelques résultats de la galerie API sont illustrés par les figures 7 et 8.

REF: M-TA 13 2,0,1,6, / 0,2, / 2,6

Origine / Source / Herkunft / Fruit
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

48 h	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
72 h	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
	0	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy : *Cryptococcus laurentii*

Ident. / Ταυτοποίηση : 100%

Figure 7 : Résultats de la galerie API de la souche M-TA 13

REF: M-TA 33 2,0,1,6, / 0,2, / 2,6

Origine / Source / Herkunft / Fruit
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

48 h	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
72 h	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	
	0	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy : *Rhodotorula minuta*

Ident. / Ταυτοποίηση : 100%

Figure 8 : Résultats de la galerie API de la souche M-TA 33

La culture des souches pures de levure dans les cupules de plaques de la galerie API 20 C AUX permet de connaître pour chaque souche, l'utilisation de différents sucres pour les numériser afin de rapporter le résultat au site apiwebTM.

I.4. CLASSIFICATION DES SOUCHES

Le report des résultats de l'étude des caractères cultureux, morphologiques, physiologiques et biochimiques sur deux bases de données différentes (le site apiwebTM et le CIRM-Levures) a abouti à l'identification des 39 souches pures de levure isolées. Le tableau 5 donne l'identité respective des souches de levure.

Tableau 5 : Identités des souches pures de levure isolées

SOUCHES	NOM DE LA SOUCHE
M-TA 1	<i>Candida railenensis</i>
M-TA 3	
M-TA 30	
M-TA 34	
M-TA 2	<i>Candida albicans</i>
M-TA 16	
M-TA 4	<i>Nakaseomyces delphensis</i>
M-TA 7	
M-TA 12	
M-TA 14	
M-TA 5	<i>Debaryomyces hansenii</i>
M-TA 10	
M-TA 22	
M-TA 23	
M-TA 28	
M-TA 29	
M-TA 6	<i>Rhodotorula minuta</i>
M-TA 24	
M-TA 31	
M-TA 33	
M-TA 8	<i>Trichosporon mucoïdes</i>
M-TA 15	
M-TA 20	
M-TA 18	

Tableau 5(suite): Identités des souches pures de levures isolées

SOUCHES	NOM DE LA SOUCHE
M-TA 9	<i>Candida utilis</i>
M-TA 25	
M-TA 39	
M-TA 11	<i>Sacharomyces uvarum</i>
M-TA 37	
M-TA 13	<i>Cryptococcus laurentii</i>
M-TA 36	
M-TA 17	<i>Candida mesenterica</i>
M-TA 26	
M-TA 19	<i>Saccharomycopsis malanga</i>
M-TA 21	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
M-TA 27	<i>Saccharomycopsis vini</i>
M-TA 32	<i>Candida boidinii</i>
M-TA 35	
M-TA 38	<i>Candida zeylanoides</i>

Ainsi, les lectures des résultats ont mené à l'obtention de 8 genres et 15 espèces différents dont les positions systématiques sont illustrées à l'annexe I, à savoir :

- Le genre *Candida* avec 6 espèces : *mesenterica*, *railenensis*, *zeylanoïdes*, *albicans*, *utilis*, *boidinii*,
- Le genre *Nakaseomyces* espèce *delphensis*,
- Le genre *Debaryomyces* espèce *hansenii* ,
- Le genre *Rhodotorula* espèce *minuta*,
- Le genre *Trichosporon* espèce *mucoïdes*,
- Le genre *Sacharomyces* avec 2 espèces : *cerevisiae*, *ovarum* ,
- Le genre *Cryptococcus* espèce *laurentii*,
- Le genre *Saccharomycopsis* avec 2 espèces : *malanga* et *vini*

II. DISCUSSION

Notre étude a pour objectif l'isolement et l'identification des levures du fruit de Tapiia. Les résultats obtenus montrent que le fruit de Tapiia est très riche en levures aussi bien du point de vue quantité que variété car nous avons pu isoler 39 souches

pures de levure réparties en 8 genres et 15 espèces. D'après ces résultats, on peut dire que le fruit de *Tapia* récolté dans la région d'Arivonimamo comporte un nombre de levures supérieur à celui des autres fruits de Madagascar déjà étudiés par le projet EMBLEM ou Etudes Microbiologique et Biotechnologique des Levures Endogènes de Madagascar (TOKINDRAINNY, 2015 ; RAMIANDRASOA, 2014 ; RANDRIAMANANTSOA, 2015 ; ALI, 2015). Ce projet vise à explorer la biodiversité des levures endogènes de Madagascar et à prospecter leurs propriétés biotechnologiques valorisables.

Parmi les souches de levure issues du fruit de notre étude, figurent des souches de :

- ❖ *Saccharomyces cerevisiae*: utilisée dans le monde entier depuis des millénaires dans différents domaines (fdnieu.free.fr/cours/bts/A2/microbiologie/souche/pdf). Pour ses caractéristiques fermentatives, plusieurs industries comme l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique l'utilisent notamment dans la panification, dans la fabrication des bières, dans la thérapeutique... (www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/levure-de-biere.htm).
- ❖ *Candida utilis* : une levure utilisée dans la production de complément alimentaire, de probiotiques. Elle est aussi connue comme levure de bière (www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/levure-de-biere.htm). Elle présente aussi une efficacité dans la biorestauration ainsi que dans les traitements des eaux usées car cette espèce possède des propriétés anti-algues, antibactériennes, antifongiques (www.gazette.gc.ca.rp-pr/p1/2015/2015-05-23/html/notice-avis-fra.php).
- ❖ *Debaryomyces hansenii* : une espèce de levure présente naturellement dans le lait ou fromage, elle participe à la désacidification des caillés en consommant le lactose et l'acide lactique (NABARAJ, 2014). En effet, elle est connue comme agent d'affinage(www.lip-sas.fr/nos

produits/levures).

Les caractéristiques de ces quelques espèces de levure parmi les 15 espèces auxquelles appartiennent les souches isolées de notre étude, prouvent que les levures sont des "outils" biotechnologiques importants. Le fruit de *Tapia* étant un fruit endémique de Madagascar, les souches de levure qu'il abrite pourraient présenter des caractéristiques potentiellement valorisables.

A green scroll graphic with a white outline, featuring a vertical strip on the left side and a small circular tab at the top right. The text is centered within the main rectangular area of the scroll.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Notre étude s'est basée sur l'isolement et l'identification des levures du fruit de Tapia ou *Uapaca bojeri*, un fruit endémique de Madagascar, récolté dans la région d'Itasy.

Le fruit de Tapia que nous avons étudié est riche en levures puisque nous avons pu en isoler 39 souches pures. L'identification, après plusieurs étapes, permet de classer ces souches pures de levure dans 8 genres et 15 espèces de levures différents:

- 3 souches du genre *Saccharomyces* avec 2 espèces différentes : *cerevisiae*, *ovorum* ;
- 6 souches de *Debaryomyces hanseni* ;
- 14 souches du genre *Candida* avec 6 espèces différentes : *mesenterica*, *railenensis*, *zeylanoïdes*, *albicans*, *utilis*, *boidinii* ;
- 2 souches du genre *Saccharomycopsis* avec 2 espèces différentes : *malanga et vini* ;
- 4 souches de *Rhodotorula minuta* ;
- 4 souches de *Nakaseomyces delphensis* ;
- 2 souches de *Cryptococcus laurentii* ;
- 4 souches de *Trichosporon mucoïdes* ;

Cette étude des levures du Tapia nous a permis de:

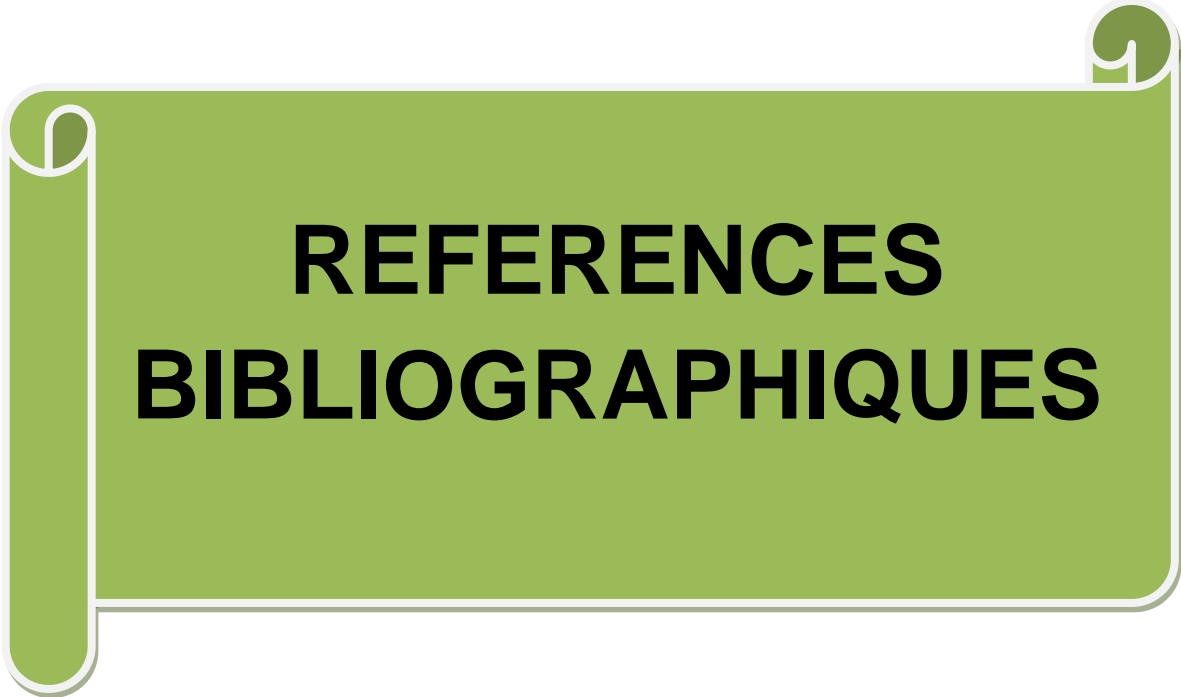
- nous familiariser avec les matériels de laboratoire
- acquérir les techniques de manipulation de base en microbiologie surtout l'isolement et l'identification des souches microbiennes.
- nous initier à l'exploitation de bases de données

Le domaine de la microbiologie reste un grand défi pour l'avenir scientifique. Les résultats obtenus lors de notre étude ouvrent plusieurs perspectives:

- La confirmation de l'identification des souches de levure isolées par des méthodes plus perfectionnées comme la biologie moléculaire.

Conclusion et perspectives

- La recherche des potentialités valorisables des souches de levure identifiées telle la production de métabolites (primaires ou secondaires) intéressants comme des arômes, des antibiotiques ou d'autres produits biologiques
- Faire des études comparatives sur l'isolement et l'identification des levures du Tapioca des autres régions de Madagascar.
- L'identification des souches de levure d'autres fruits endémiques de Madagascar.



**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Références bibliographiques

1. **ALI A.**, 2015 « Isolement et identification des levures sur cinq fruits tropicaux et de la canne à sucre, récoltés dans trois régions de Madagascar », [MEMOIRE DE MASTER]
2. **BABJEVA I., MOAVAD K., MARCHENKO A.**, 1977. “Microbiologya”. 46, p: 270.
3. **BAOHANTA R.**, 2011 « Facilitation de la régénération d’*Uapaca bojeri* par la gestion des communautés de champignons mycorhyziens associées aux espèces pionnières de la zone dégradée de la forêt sclérophylle d’Arivonimamo », Thèse de doctorat, 2011
4. **BENAOUIDA K.**, 2008 « Etude de l’alpha amylase de levures isolées d’un écosystème extrême (sol environnant des souches thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactoserum »
5. **BERRAHO E.**, 2009 « Cours de Microbiologie Générale »
6. **BOIRON P.**, 1996, Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. p : 13-35
7. **BOUX M., LEVEAU G.**, 1991. « Les levures » extrait du livre du Bourgeois, Leveau, « Techniques d’analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires », édition 2 Lavoisier Tec & Doc, Paris. 3, p: 206-229
8. **BOURGEOIS C., LARPENT J.**, 1996. « Microbiologie alimentaire. Tome II aliment fermenté et fermentations alimentaires ». Edition Technique et Documentation Lavoisier, Apria, Paris: 100-450.
9. **BUTENSCHOEN O., SCHEU S., EISENHAUER N.**, 2011“Interactive effects of warming, soil humidity and plant diversity on litter decomposition and microbial activity”. Soil Biology and Biochemistry 43: 1902–1907.

Références bibliographiques

10. **CABANNIS Y., CHABOUIS L.**, 1969, « Végétaux et groupements végétaux de Madagascar et des Mascareignes ». Vol I. Antananarivo : Bureau pour le Développement de la Production Agricole (BDPA).
11. **CHAMIER A.**, 1987, “Effect of pH on microbial degradation of leaf litter in seven streams of the English Lake District”. *Oecologia*71: 491–500.
12. **CHRISTIAN J.**, 1980, “Reduced water activity”. *Microbial ecology of foods*. Academic Press, London
13. **DUHAIL C.**, 1999 « La pourriture du raisin : facteurs de sélection des microorganismes dominantes et incidences œnologiques ». Université de Bordeaux II, France.
14. **FERREIRA F.**, 1997, « *Saccharomyces cerevisiae* importance dans le développement des sociétés humaines. Rôle dans l'industrie agro-alimentaire et en thérapeutique ». 119 p. Thèse: Pharmacie: Paris XI
15. **GADE D.**, 1985, “Savanna woodland, fire, protein and silk in highland Madagascar”. *Ethnobiol.*,5(2), 109-122.
16. **GUIRAUD J.**, 1998, « Microbiologie alimentaire ». Dunod, Paris. p : 310-321
17. **HENCKE S.**, 2000, « Utilisation Alimentaire des levures » [Thèse de doctorat] Université Henri Poincare - Nancy I, Faculté de Pharmacie, spécialité : Pharmacie
18. **HORZ H., BARBROOK A., FIELD C., BOHANNAN B.**, 2004, “Ammonia-oxidizing bacteria respond to multifactorial global change”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 15136–15141.
19. **INTERCOOPERATION**, 2009, « Ligne de référence, site tapia Itasy, aspect socio-économique ». Antananarivo : Projet REDD-FORECA/ Intercoopération.

- 20. KOECHLIN J., GUILLAUMET J., MORAT P.,** 1974, « Flore et végétation de Madagascar ». Vaduz : Ed. J. Cramer.
- 21. KULL C., RATSIRARSON J., RANDRIAMBOAVONJY G.,** 2005, « Les forêts de tapia des hautes terres malgaches. Terre Malgache », 24(2), 22-58.
- 22. LABRECQUE M.,** 2003, « Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène ». Mémoire, Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation, Université LAVAL. p : 19
- 23. LARPENT G., SANGLIER J.,** 1992, « Biotechnologies ». Principes et méthodes .p:574-581.
- 24. LARPENT J., GOURGAUD M.,** 1997, « Mémento technique de microbiologie » 3^{ème} édition, Lavoisier Tec &Doc, Paris. 8, p : 217-240.
- 25. LEANDRI J.,** 1957, « Sur quelques témoins de la végétation primitive du versant occidental des hauts plateaux malgaches (partie centrale) ». Bull. Jardin Bot. État Bruxelles, 27(2), 209-216.
- 26. LEBLON C.,** 1988, « Etude des levures de vinification et des facteurs agissant sur la fermentation alcoolique » 235p thèse pharmacie : Nancy I ; n°51
- 27. LECLERC H.,** 1975, « Microbiologie générale », doin éditeurs, Paris. p : 28
- 28. LEVEAU J., BOUIX M.,** 1993, « Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel ». Lavoisier TEC& DOC, Paris. 08, p : 2-92.
- 29. LEYDEN J., MCGINLEY K., NORDSTROM K., WEBSTER G.,** 1987, "Skin microflora". J. Invest. Dermatol. 88: p 65–72.
- 30. LINN D., DORAN J.,** 1982, "Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Production in Tilled and Non tilled Soils 1". Soil Science Society of America Journal 48: 1267–1272.

- 31. MARTINS G.**, 2012, « Communautés microbiennes de la baie de raisin »
- 32. MERABTI R.**, 2006, « Isolement et caractérisation des souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien »
- 33. MINTEN B., MOSER C.**, 2003, « Forêts : usages et menaces sur une ressource ». In : Minten B., Randrianarisoa J.-C. & Randrianarison L., édition Agriculture, pauvreté rurale et politiques économiques à Madagascar.
- 34. NABARAJ B.**, 2014, « *Debaryomyces hansenii* : a foodborne yeast that produces anti-candida killer toxin »
- 35. NOMENJANAHARY H.**, 2014, « Isolement et identification des levures sauvages des fruits de Goyavier (*Psidium gajava* variété ruby) De la région du Vakinakaratra » [DEA]
- 36. OTENG G.**, 1984, « Introduction à la microbiologie alimentaire » .Vol II : Aliments fermentés et fermentation alimentaire. Lavoisier, Paris 8, 523p.
- 37. PETTERSSON M., BAATH E.**, 2003, “Temperature-dependent changes in the soil bacterial community in limed and unlimed soil”. FEMS Microbiology Ecology 45: 13–21.
- 38. POL D.**, 1996, « Travaux pratiques de biologie des levures ». Guide de laboratoire. Ellipses édition marketing S.A, Paris 15.
- 39. PORCHET B.**, 1931, « Etude comparative de quelques levures de fruits (raisins, poires, cerises, pruneaux) » extrait du livre Contribution à l'étude de l'adaptation des levures à l'acide sulfureux. Annuaire agricole de la Suisse 1931 p49-69
- 40. RABETALIANA H., BERTRAND A., RAZAFIMAMONJY N., RABEMANANJARA E.**, 2003, “Dynamique des forêts naturelles de montagne à Madagascar ». Bois For. Trop., 276(2), 59-72.

- 41. RADCLIFFE S.**, 1993, “Notes on African Euphorbiaceae XXIX: *Uapaca*.” *Kew Bull.*, 48(3), 611-617
- 42. RAJOELISON L., RAKOTO R., RAKOTOMALALA L., RAKOTONDROSOA L., RANDRIANIRINA M., RATOVO O.**, 2009, « Inventaire de biomasse dans les forêts de Tapia. Régions Itasy (Miarinarivo) et Amoron'i mania (Ambatofinandrahana)-Madagascar". » Rapport final. Antananarivo : Projet FORECA/REDD
- 43. RAMIANDRASOA H.**, 2014, « isolement et identification des levures vivants sur deux fruits tropicaux de la région Vakinankaratra : Diospyros kaki variété voatabia et Ananas comosue variété cayenne lisse », [DEA]
- 44. RANDRIAMANANTSOA L.**, 2015, « Isolement et identification des levures sur six fruits tropicaux de trois régions de Madagascar », [MEMOIRE DE MASTER]
- 45. ROSE A., HARRISON J.**, 1987, “The yeast », V1, *Biology of yeast*. 2nd édition Academic Press. London. p: 23- 35.
- 46. ROSSO L., LOBRY J., BAJARD S., FLANDROIS J.**, 1995, “Convenient Model To Describe the Combined Effects of Temperature and pH on Microbial Growth”. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 610–616.
- 47. ROUSK J., BAATH E., BROOKES P., LAUBER C., LOZUPONE C., CAPORASO J., KNIGHT R., FIERER N.**, 2010, “Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil.” *ISME J*4: 1340–1351.
- 48. RATSIMBASON B., RAMANARIVOSOA T.**, Association Malagasy éducateurs adultes (Madagascar) « Transfert de la gestion des ressources naturelles renouvelables aux communautés locales : cas de la gélose dans la forêt de Tapia (*Uapaca bojeri*) Arivonimamo, Madagascar »

Références bibliographiques

- 49. TOKINDRAINY A.**, 2015 « Isolement et identification des levures du fruit du bibacier ou *Eriobotrya japonica* de la région de Vakinakaratra » [DEA]
- 50. VIGNAL Z.**, 1963, « Les phénomènes de météorologie dynamique et la disparition des formations forestières malgaches d'altitude ». Bois For. Trop., 89, 31-35.
- 51. WICKERHAM L., BURTON K.**, 1948, "Journal of Bacteriology". 56, p: 363.
- 52.** La levure d'origine naturelle CSFL article
- 53.** Brochure BIO SPRINGER: « Le monde des produits de levure»

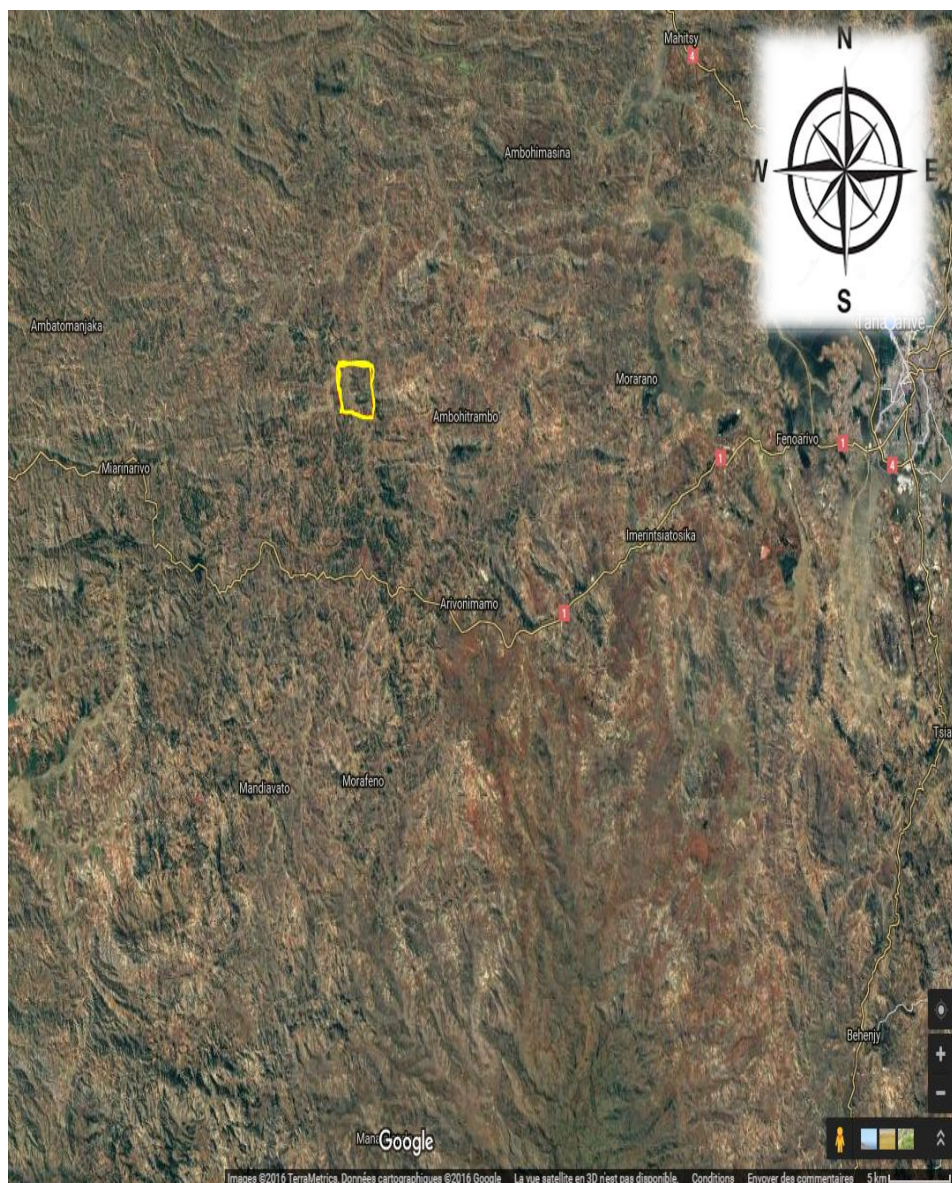
REFERENCES WEBOGRAPHIQUES

1. fdnieu.free.fr/cours/bts/A2/microbiologie/souche/pdf
2. www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/levure-de-biere.htm
3. www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale /levure-de-biere.htm
4. www.gazette.gc.ca.rp-pr/p1/2015/2015-05-23/html/notice-avis-fra.php
5. www.lip-sas.fr/nos produits/levures



ANNEXES

ANNEXE I : LOCALISATION DU SITE DE COLLECTE



(Source : Google map)

La zone de récolte est encadrée en jaune.

Coordonnées géographiques en DMS: 19°1' 60'' S

47°10'0'' E

Position UTM : QD29

Référence Joint Operation Graphic : SE38-16

Fuseau horaire : UTC/GMT +3

ANNEXE II: POSITION SYSTEMATIQUE DES SOUCHES IDENTIFIEES

Classification (Beij, 1898)

Règne : FUNGI

Division : ASCOMYCOTA

Classe : SACCHAROMYCETES

Ordre : SACCHAROMYCETALES

Famille : SACCHAROMYCETACEAE

Genre : *Saccharomyces*

Espèce : *uvarum, cereviseae*

Classification (Kurtzman & Wick, 1973)

Règne : FUNGI

Division : ASCOMYCOTA

Classe : SACCHAROMYCETES

Ordre : SACCHAROMYCETALES

Famille : SACCHAROMYCETACEAE

Genre : *Saccharomycopsis*

Espèce : *vini, malanga*

Classification (Kurtzman, 2003)

Règne : FUNGI

Division : Ascomycota

Classe : SACCHAROMYCETES

Ordre : SACCHAROMYCETALES

Famille : SACCHAROMYCETACEAE

Genre : *Nakaseomyces*

Espèce: *delphensis*

Règne: FUNGI

Division : BASIDIOMYCOTA

Classe : TREMELLOMYCETES

Ordre : TREMELLALES

Famille : TREMELLACEAE

Genre : *Cryptococcus*

Espèce : *laurentii*

Classification (F.C.Harrison, 1927)

Règne: FUNGI

Division: BASIDIOMYCOTA

Classe : UREDINIOMYCETES

Ordre: SPORIDIALES

Famille: INCERTÆSEDIS

Genus: *Rhodotorula*

Espèce : *minuta*

Classification de Lodder & Kreger-van Rij
(1984)

Règne: FUNGI

Division: ASCOMYCOTA

Classe: SACCHAROMYCETES

Ordre: SACCHAROMYCETALES

Famille: SACCHAROMYCETACEAE

Genre: *Debaryomyces*

Espèce: *hansenii*

Classification de Berkhout, 1923

Règne : FUNGI

Division : ASCOMYCOTA

Classe : SACCHAROMYCETES

Ordre : SACCHAROMYCETALES

Famille : SACCHAROMYCETACEAE

Genre : *Candida*

Espèce : *utilis*, *railenensis*, *albicans*,
mesenterica, *boidinii*, *zylanoïdes*

Classification de Behrend, 1890

Règne : FUNGI

Division : BASIDIOMYCOTA

Classe : TREMELLOMYCETES

Ordre : SACCHAROMYCETALES

Famille : TRICHOSPORONACEAE

Genre : *Trichosporon*

Espèce : *mucoïdes*

ANNEXE III : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE

❖ Les milieux d'enrichissement

Milieu gélose Sabouraud: utilisé lors de l'isolement, la purification et la conservation

- Composition pour 1000 ml :
Peptone.....10 g
Glucose massé.....20 g
Agar-agar..... 15 g
pH6,0
- Préparation : dissoudre 42g de gélose Sabouraud dans 1 l d'eau distillée puis porté à ébullition lentement jusqu'à complète dissolution. Autoclavage classique et conditionnement en boîtes ou en tubes.

Milieux PCA (Plate Count Agar)

- Composition en g/l :
Tryptone.....5
Extrait autolytique de levure.....2,5
Glucose.....1
Agar-agar bactériologique.....12
pH.....7+/- 0,2
- Préparation : mettre en suspension 20,5g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau

distillée. Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète.
Répartir en tubes ou en flacons. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

❖ Les milieux d'identifications:

Hajna-Kligler :

- Composition pour 1000 ml:

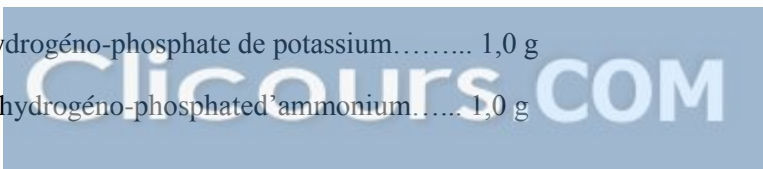
Peptone	15 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Peptone pepsique de viande5 g
Glucose.....	1 g
Lactose.....	10 g
Rouge de phénol.....	..25 mg
Chlorure de sodium.....	...5 g
Sulfate ferreux.....	0,2 g
Thiosulfate de sodium.....	0,3 g
Agar-agar.....	11 g
pH.....	7,5

- Préparation : 53.5 g par litre. Stérilisation classique et conditionnement en tubes avec une pente et un culot.

Citrate Simmons

- Composition pour 1000 ml:

Citrate de sodium.....	1,0 g
Bleu de bromothymol.....	0,08 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Sulfate de magnésium.....	0,2 g
Hydrogéo-phosphate de potassium.....	1,0 g
Dihydrogéo-phosphated'ammonium.....	1,0 g



Agar..... 15,0 g

pH = 7,1

- Préparation : 21 g par litre. Stérilisation classique par autoclavage. Conditionnement en tubes inclinés.

Lysine-fer

Composition pour 1000 ml:

Peptone de gélatine..... 5,0 g

Extrait de levures..... 3,0 g

L-lysine..... 10,0 g

Glucose..... 1,0 g

Citrate de fer III ammoniacal..... 0,5 g

Bromocrésol pourpre..... 20,0 mg

Thiosulfate de sodium..... 40,0 mg

Agar..... 13,5 g

pH6,7

- Préparation : 33 g par litre, stérilisation classique et conditionnement en tubes inclinés comme dans le cas du milieu de Hajna-Kligler.

Mannitol-Mobilité-Nitrate

Composition pour 1000 ml :

Hydrolysate tryptique de caséine:.....10,0 g

Mannitol:.....7,5 g

Rouge de phénol:.....0,4 mg

Nitrate de potassium:.....1,0 g

Agar:.....3,5 g

pH7,6

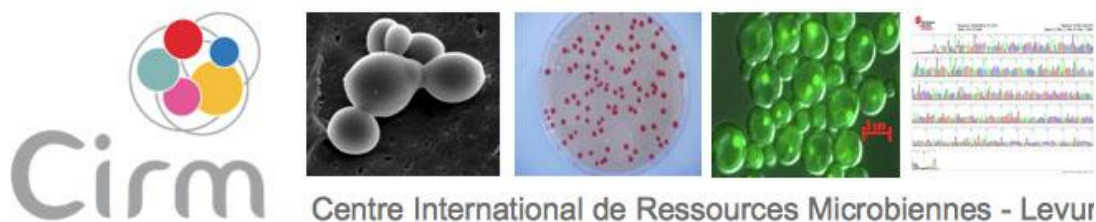
Préparation : 22 g par litre. Stérilisation classique et conditionnement en tubes.

Auxanogramme du carbone

Glucose à étudier.....5 g
 Eau distillée160 ml

Annexe IV: RESULTATS D'IDENTIFICATION SUR CIRM-LEVURES

Les souches concordantes identifiées dans la base de données du CIRM-Levures



[Go to the CIRM-Levures web site](#)

2016-03-12

[Search the strain catalogue](#)

CLIB	1180
Species	<i>Nakaseomyces delphensis</i> (Van der Walt&Tscheuschner) Kurtzman 2003 (Synonyms) (Mycobank)
Genus	<i>Nakaseomyces</i>
Type	Yes
Other strain denominations	
Taxonomical history	
Other collections	NRRL Y-2379 ATCC 24205 CBS 2170

Molecular Identification	D1/D2 26S rRNA DNA sequence ACT1 exon2 DNA sequence
---------------------------------	--

Isolated by	van der Walt J.P.
Isolation country	South Africa
Isolation region	
Origin	Fruit
Substrate	sugary deposit on dried figs
Isolation year	1954
Deposited by	
Received from	C. Fairhead
Arrival date	2010

Laboratory strain

Constructed by	n/appl
-----------------------	--------

Genotype**Phenotype****Parents****Karyotype**

Sporulation	negative
--------------------	----------

Sporulation Medium	McClary
---------------------------	---------

Ploidy

Growth temperature	30+, 35+, 37+, 40-
---------------------------	--------------------

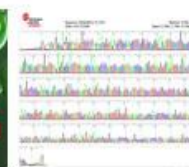
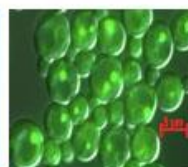
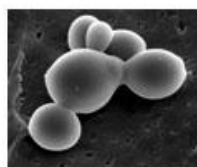
Conditions for growth (on solid media)	YPD, 28 °C
---	------------

Carbon source fermentation	cellobiose - ; D-glucosamine - ; D-galactose - ; D-glucose + ; maltose - ; melezitose - ; melibiose - ; saccharose -
-----------------------------------	--

		; trehalose - ; lactose - ; methyl-D-glucoside -
Carbon source assimilation		lactic acid - ; L-arabinose - ; cellobiose - ; ketogluconate - ; erythritol - ; D-gluconate - ; D-glucuronate - ; D-galactose - ; D-glucose + ; glycerol - ; myo_inositol - ; maltose - ; melezitose - ; melibiose - ; raffinose - ; L-rhamnose - ; D-ribose - ; saccharose - ; D-sorbitol - ; L-sorbose - ; trehalose - ; D-xylose - ; lactose - ; D-mannitol - ; methyl-D-glucoside -
Nitrogen source assimilation		cadaverine - ; nitrate - ; nitrite - ; ethylamine - ; L-lysine - ; creatine - ; creatinine -
Strip test		API ID32C

Urease	negative	Growth on 50% glucose	Positive
Growth on cycloheximide	0.01% negative	Growth on 10% NaCl	Positive

Back to your search **n/a:** not available **n/d:** not determined **n/appl:** not applicable




Centre International de Ressources Microbiennes - Levur

[Go to the CIRM-Levures web site](#)

2016-06-29

[Search the strain catalogue](#)

Order this strain

CLIB	588
	<i>Candida</i>
Species	<i>boidinii</i> Ram  rez 1953 (Synonyms Mycobank)
Genus	<i>Candida</i>
Type	No
Other strain denominations	TL176
Taxonomical history	
Other collections	

Molecular Identification	D1/D2 26S rRNA DNA sequence
---------------------------------	---

Isolated by	n/a
Isolation country	France
Isolation region	Normandie
Origin	dairy environment
Substrate	cowpat
Isolation year	
Deposited by	Laboratoire de Technologie Laitiere, INA-PG
Received from	
Arrival date	2000

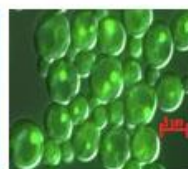
Laboratory strain	No
Constructed by	n/a
Genotype	
Phenotype	
Parents	
Karyotype	

Sporulation	
Sporulation Medium	
Ploidy	

Growth temperature	25+, 30+, 35+, 37+/-, 40-
Conditions for growth (on solid media)	YPD, 28 °C
Carbon source fermentation	cellobiose - ; D-galactose - ; D-glucose + ; maltose - ; melezitose - ; melibiose - ; raffinose - ; saccharose - ; trehalose - ; lactose -
Carbon source assimilation	lactic acid + ; L-arabinose - ; arbutine - ; cellobiose + ; ketogluconate - ; erythritol + ; D-gluconate - ; D-glucosamine + ; D-glucuronate - ; D-galactose +/- ; D-glucose + ; glycerol + ; myo_inositol - ; maltose + ; melezitose + ; melibiose - ; raffinose + ; L-rhamnose - ; D-ribose + ; saccharose - ; D-sorbitol + ; L-sorbose - ; trehalose - ; D-xylose + ; lactose - ; D-mannitol + ; methyl-D-glucoside - ; citric acid+
Nitrogen source assimilation	cadaverine + ; nitrate + ; nitrite + ; ethylamine + ; L-lysine + ; creatine - ; creatinine -
Strip test	API ID32C

Urease	negative	Growth on 50% glucose	negative
Growth on cycloheximide	0.01% negative	Growth on 10% NaCl	

Back to your search **n/a:** not available **n/d:** not determined **n/appl:** not applicable



Centre International de Ressources Microbiennes - Levur

[Go to the CIRM-Levures web site](#)

2016-06-29

[Search the strain catalogue](#)

Order this strain

CLIB	1537
Species	<i>Candida albicans</i> (C.P. Robin) Berkhout 1923 (Synonyms) (Mycobank)
Genus	<i>Candida</i>
Type	No
Other strain denominations	
Taxonomical history	
Other collections	CBS 6431

Molecular Identification

Isolated by	n/appl
Isolation country	
Isolation region	
Origin	Human
Substrate	man with bronchomycosis
Isolation year	
Deposited by	
Received from	Fukuhara H.
Arrival date	2013

Laboratory strain

Constructed by	n/appl
Genotype	
Phenotype	
Parents	
Karyotype	

Sporulation	negative
Sporulation Medium	McClary
Ploidy	

Growth temperature	25+, 30+, 35+, 37+, 40+
Conditions for growth (on solid media)	YPD, 28 °C

Carbon source fermentation	cellobiose - ; D-galactose + ; D-
-----------------------------------	-----------------------------------

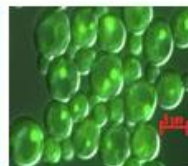
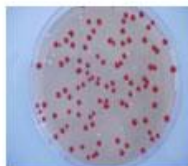
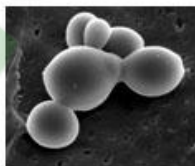
	galactose d ; D-glucose + ; maltose + ; melezitose - ; melibiose - ; raffinose - ; saccharose - ; trehalose+ ; trehalose d ; lactose -
Carbon source assimilation	lactic acid + ; L-arabinose - ; cellobiose - ; ketogluconate + ; erythritol - ; D-gluconate + ; D- glucosamine + ; D-glucuronate - ; D- galactose + ; D-glucose + ; glycerol - ; myo_inositol - ; maltose + ; melezitose - ; melibiose - ; raffinose - ; L-rhamnose - ; D-ribose - ; saccharose + ; D-sorbitol + ; L- sorbitose - ; trehalose + ; D-xylose + ; lactose - ; D-mannitol +
Nitrogen source assimilation	cadaverine + ; nitrate +/- ; nitrite +/- ; ethylamine + ; L-lysine + ; creatine +/-
Strip test	API ID32C

Urease	negative	Growth on 50% glucose	Positive
Growth on cycloheximide	0.01% negative	Growth on 10% NaCl	Positive

Back to your search **n/a**: not available **n/d**: not determined **n/appl**: not applicable



Cirm



Centre International de Ressources Microbiennes - Levur

[Go to the CIRM-Levures web site](#)

2016-06-29

[Search the strain catalogue](#)

Order this strain

Species	<i>Debaryomyces hansenii</i> (Zopf) Lodder&Kreger 1952 (Synonyms)	(Synonyms) Mycobank)
Genus	<i>Debaryomyces</i>	
Type	No	
Other strain denominations		
Taxonomical history		
Other collections	CBS 1962 NI 7436	

Molecular Identification

Isolated by	n/a
Isolation country	Japan
Isolation region	n/a
Origin	n/a
Substrate	n/a
Isolation year	
Deposited by	
Received from	CBS
Arrival date	1994

Laboratory strain	No
Constructed by	n/a
Genotype	
Phenotype	
Parents	
Karyotype	

Sporulation

Sporulation Medium

Ploidy

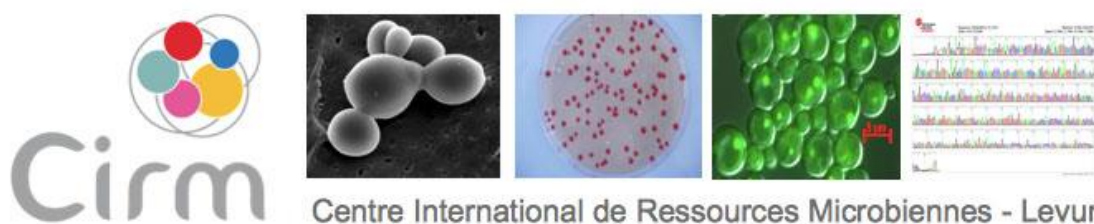
Growth temperature	25+, 30+, 35+, 37+, 40-
Conditions for growth (on solid media)	YPD, 28 °C

Carbon source fermentation	cellobiose - ; D-galactose + ; D-glucose + ; maltose - ; melezitose - ; melibiose - ; raffinose - ; saccharose + ; lactose -
Carbon source assimilation	lactic acid - ; L-arabinose + ; arbutine + ; cellobiose - ; ketogluconate + ; erythritol + ; D-gluconate + ; D-glucosamine - ; D-

	glucuronate+ ; D-galactose + ; D-glucose + ; glycerol + ; myo_inositol - ; maltose + ; melezitose + ; melibiose - ; raffinose + ; L-rhamnose + ; D-ribose - ; saccharose + ; D-sorbitol + ; L-sorbose + ; trehalose + ; D-xylose + ; lactose - ; D-mannitol + ; methyl-D-glucoside + ; citric acid +
Nitrogen source assimilation	cadaverine + ; nitrate + ; ethylamine + ; L-lysine + ; creatine + ; creatinine +
Strip test	API ID32C

Urease	negative	Growth on 50% glucose	+/-
Growth on cycloheximide	0.01% negative	Growth on 10% NaCl	Positive

Back to your search **n/a:** not available **n/d:** not determined **n/appl:** not applicable



[Go to the CIRM-Levures web site](#)

2016-06-29

[Search the strain catalogue](#)

Order this strain

CLIB	94
Species	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Meyen ex (Synonyms) Hansen 1883 (Mycobank) (Synonyms)
Genus	<i>Saccharomyces</i>
Type	No
Other strain denominations	L 579-4B
Taxonomical history	

Clicours.COM

Other collections

Molecular Identification	D1/D2 26S rRNA DNA sequence
---------------------------------	---

Isolated by	Naumov G.
Isolation country	France
Isolation region	Pays de la Loire
Origin	Oenology
Substrate	n/a
Isolation year	
Deposited by	Cunier C.
Received from	
Arrival date	1992

Laboratory strain	Yes
Constructed by	Naumov G.
Genotype	
Phenotype	
Parents	L 579
Karyotype	

Sporulation	positive
Sporulation Medium	McClary
Ploidy	Diploid

Growth temperature	25+, 30+, 35+, 37+, 40-
Conditions for growth (on solid media)	YPD, 28 °C

Carbon source fermentation	cellobiose - ; D-galactose + ; D-glucose + ; maltose + ; melezitose - ; melibiose + ; raffinose + ; saccharose + ; trehalose - ; lactose -
-----------------------------------	--

Carbon source assimilation	lactic acid + ; L-arabinose - ; cellobiose - ; ketogluconate - ; erythritol - ; D-gluconate - ; D-glucosamine - ; D-glucuronate - ; D-galactose+ ; D-glucose + ; glycerol - ; myo_inositol - ; maltose + ; melezitose - ; melibiose + ; raffinose + ; L-rhamnose - ; D-ribose - ; saccharose+ ; D-sorbitol - ; L-sorbose - ; trehalose - ; D-xylose - ; lactose - ; D-mannitol - ; methyl-D-glucoside - ; citric acid -
-----------------------------------	---

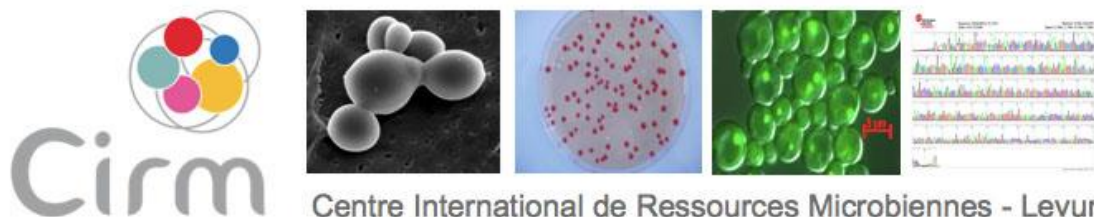
Nitrogen source assimilation	nitrate - ; nitrite - ; ethylamine +/- ; L-
-------------------------------------	---

lysine -
API ID32C

Strip test

Urease	negative	Growth on 50% glucose	Positive
Growth on cycloheximide	0.01% negative	Growth on 10% NaCl	

Back to your search **n/a:** not available **n/d:** not determined **n/appl:** not applicable



[Go to the CIRM-Levures web site](#)

2016-06-29

[Search the strain catalogue](#)

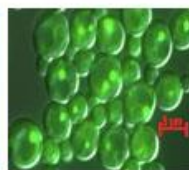
Order this strain

CLIB	7
Species	<i>Saccharomycopsis vini</i> (Kreger-van Rij) Van (Synonyms der Walt & Scott 1971 Mycobank) (Synonyms)
Genus	<i>Saccharomycopsis</i>
Type	No
Other strain denominations	
Taxonomical history	<i>Endomycopsis vini</i> type
Other collections	CBS 4110 ATCC 34382 IFO 1748

Molecular Identification [D1/D2 26S rRNA DNA sequence](#)

Isolated by	n/a
Isolation country	Chile
Isolation region	n/a
Origin	Oenology

Substrate	grape must	
Isolation year		
Deposited by		
Received from	CBS	
Arrival date	1992	
Laboratory strain	No	
Constructed by	n/a	
Genotype		
Phenotype		
Parents		
Karyotype		
Sporulation		
Sporulation Medium		
Ploidy		
Growth temperature	28+, 35-, 37-, 42-	
Conditions for growth (on solid media)	YPD, 28 °C	
Carbon source fermentation	D-galactose - ; D-glucose - ; maltose - ; raffinose - ; saccharose - ; lactose -	
Carbon source assimilation	lactic acid - ; L-arabinose - ; arbutine - ; cellobiose - ; ketogluconate d ; erythritol - ; D-gluconate - ; D-glucosamine - ; D-glucuronate - ; D-galactose - ; D-glucose + ; glycerol + ; myo_inositol - ; maltose + ; melezitose - ; melibiose - ; raffinose + ; L-rhamnose - ; D-ribose - ; saccharose + ; D-sorbitol + ; L-sorbose + ; trehalose - ; D-xylose - ; lactose - ; D-mannitol + ; methyl-D-glucoside - ; ethanol +	
Nitrogen source assimilation	cadaverine - ; nitrate - ; nitrite - ; ethylamine - ; L-lysine - ; creatine - ; creatinine -	
Strip test	API ID32C	
Urease	negative	Growth on 50% glucose Negative
Growth on cycloheximide	0.01% positive	Growth on 10% NaCl Positive



Centre International de Ressources Microbiennes - Levur

[Go to the CIRM-Levures web site](#)

2016-06-29

[Search the strain catalogue](#)

Order this strain

CLIB	199
Species	<i>Candida zeylanoides</i> (Castellani) (Synonyms) Langeron & Guerra 1938 (Synonyms) Mycobank
Genus	<i>Candida</i>
Type	Yes
Other strain denominations	
Taxonomical history	<i>Monilia zeylanoides</i> neotype
Other collections	CBS 619 ATCC 7351 DBVPG 6163 IGC 2601 JCM 1627 VKM Y-2324 NRRL Y61774 NRRL Y-6360 BCRC 21743

Molecular Identification [D1/D2 26S rRNA DNA sequence](#)

Isolated by	n/a
Isolation country	n/a
Isolation region	n/a
Origin	human
Substrate	case of blastomycotic macrogloss
Isolation year	
Deposited by	
Received from	CBS
Arrival date	1994

Laboratory strain	No
Constructed by	n/a
Genotype	
Phenotype	
Parents	
Karyotype	
<hr/>	
Sporulation	
Sporulation Medium	
Ploidy	
<hr/>	
Growth temperature	25+, 30+, 35+, 37+, 40-
Conditions for growth (on solid media)	YPD, 28 °C
<hr/>	
Carbon source fermentation	cellobiose - ; D-galactose - ; D-glucose - ; maltose - ; melibiose - ; raffinose - ; saccharose - ; trehalose - ; lactose -
Carbon source assimilation	lactic acid - ; L-arabinose - ; arbutine - ; cellobiose - ; ketogluconate + ; erythritol - ; D-gluconate - ; D-glucosamine - ; D-glucuronate - ; D-galactose - ; D-glucose + ; glycerol + ; myo_inositol - ; maltose - ; melezitose - ; melibiose - ; raffinose - ; L-rhamnose - ; D-ribose - ; saccharose - ; D-sorbitol + ; L-sorbose - ; trehalose + ; D-xylose - ; lactose - ; D-mannitol + ; methyl-D-glucoside -
Nitrogen source assimilation	cadaverine + ; nitrate - ; nitrite - ; ethylamine + ; L-lysine + ; creatine - ; creatinine -
Strip test	API ID32C
<hr/>	
Urease	negative
Growth on cycloheximide	0.01% negative
Growth on glucose	50% Positive
Growth on NaCl	10% Negative
<hr/>	

Back to your search **n/a**: not available **n/d**: not determined **n/appl**: not applicable

Name and First name: HARINIVO MiranaNatacha

Email: hamina.hmn@gmail.com

Title: “Isolation and identification of the yeasts of Tapia’s fruit or *Uapaca bojeri*: an endemic fruit of Madagascar, harvested in region of Arivonimamo”

ABSTRACT

Isolation and identification of yeasts from an endemic fruit of Madagascar, the Tapia fruit, harvested in the area of Arivonimamo, are the focus of this work.

After the study of cultural characters, morphological, physiological and biochemical, 39 pure yeast strains were isolated. Their treatment by the method of Galerie API 20 C AUX and the report of results in CIRM-Yeasts databases, helped to identify and classify them in 8 genera and 15 different species of yeast: 4 strains of *Candida railenensis*, 2 strains of *Candida albicans*, 4 strains of *Nakaseomyces delphensis*, 6 strains of *Debaryomyces hansenii*, 2 strains of *Saccharomyces uvarum*, 1 strain of *Saccharomyces cerevisiae*, 2 strains of *Cryptococcus laurentii*, 2 strains of *Candida mesenterica*, 1 strain of *Saccharomycopsis malanga*, 1 strain of *Saccharomycopsis vini*, 4 strains of *Rhodotorula minuta*, 1 strain of *Candida zeylanoides*, 4 strains of *Trichosporon mucoides*, 3 strains of *Candida utilis* and 2 strains of *Candida boidinii*.

These results show that the fruit of our study is a favorable environment for yeast growth.

Key words: Yeast, isolation, identification, Tapia, endemic fruit, Madagascar.

Advisors: Doctor RANDRIANIERENANA Ando Lalaniaina
Professor RAHERIMANDIMBY Marson

Nom et Prénoms: HARINIVO Mirana Natacha

Email : hamina.hmn@gmail.com

Titre: « Isolement et Identification des levures du fruit de Tapia ou *Uapaca bojeri*, un fruit endémique de Madagascar, récolté dans la région d'Arivonimamo ».

RESUME

L'isolement et l'identification des levures d'un fruit endémique de Madagascar, le fruit de Tapia, récolté dans la région d'Arivonimamo, constituent l'objectif de ce travail.

Après l'étude des caractères cultureux, morphologiques, physiologiques et biochimiques, 39 souches pures de levure ont été isolées. Leur traitement par la méthode de la Galerie API 20 C AUX ainsi que le report des résultats dans les bases de données du CIRM-levures, ont permis de les identifier et de les classer dans 8 genres et 15 espèces de levure différents : 4 souches de *Candida railenensis*, 2 souches de *Candida albicans*, 4 souches de *Nakaseomyces delphensis*, 6 souches de *Debaryomyces hansenii*, 2 souches de *Saccharomyces uvarum*, 1 souche de *Saccharomyces cerevisiae*, 2 souches de *Cryptococcus laurentii*, 2 souches de *Candida mesenterica*, 1 souche de *Saccharomycopsis malanga*, 1 souche de *Saccharomycopsis vini*, 4 souches de *Rhodotorula minuta*, 1 souche de *Candida zeylanoides*, 4 souches de *Trichosporon mucoïdes*, 3 souches de *Candida utilis* et 2 souches de *Candida boidinii*.

Ces résultats montrent que le fruit de notre étude est un milieu favorable au développement des levures.

Mots clés: levures, isolement, identification, Tapia, fruit endémique, Madagascar

Encadreurs: Docteur RANDRIANIERENANA Ando Lalaniaina

Professeur RAHERIMANDIMBY Marson