



AVIS DE SOUTENANCE DE THESE

Le Doyen de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz –Fès – annonce que

*Mme(elle) : **SEDDOUK Ioubna***

Soutiendra : le 29/11/2020 à 10h

Lieu : CED – Amphi 2

Une thèse intitulée :

L'optimisation de la production d'enzymes chez les endophytes fongiques pour la dégradation de la biomasse végétale en vue de production du bioéthanol de seconde génération à haute température

FD : Ressources Naturelles environnement et développement durable (RNE2D)

Spécialité: Géosciences et Ressources Naturelles

Devant le jury composé comme suit :

<i>Pr. BEKKARI Hicham</i>	<i>Président</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès</i>
<i>Pr. JANATI IDRISSE Abdellatif</i>	<i>Encadrant</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès</i>
<i>Pr. JAMAI Latifa,</i>	<i>Co-Encadrant</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès</i>
<i>Pr. BOUCHELTA Aziz, Rapporteur</i>	<i>Rapporteur</i>	<i>Faculté des Sciences– Meknès</i>
<i>Pr. CHAHLAOUI Abdelkader</i>	<i>Rapporteur</i>	<i>Faculté des Sciences-Meknès</i>
<i>Pr. BAHOU Jamila,</i>	<i>Rapporteur</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès</i>
<i>Pr. BOUIA Abdelhak,</i>	<i>Membre</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès</i>
<i>Pr. LOUASTE Bouchra</i>	<i>Membre</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès</i>

Résumé :

Une demande accentuée des cellulases fongiques extracellulaires dans le secteur industriel en raison de leurs vastes potentiels et leurs grandes capacités d'hydrolyse. *Juniperus oxycedrus*, est un arbre médicinal, économiquement important, moins reconnu pour la diversité de ses endophytes fongiques et leur potentiel à produire des enzymes extracellulaires. 70 isolats endophytes fongiques isolées et purifiées d'après les tissus internes fraîches de *Juniperus oxycedrus* dans la région d'Ifrane-Maroc, et constituer une source potentielle d'enzymes cellulases, laccases et amylases d'intérêt industriel. La présente étude est le premier rapport sur l'isolement, l'identification et l'évaluation de la capacité de la souche mésophile *Preussia africana* JO-A à produire des enzymes cellulosiques dans la région d'Ifrane. Un criblage d'un facteur à un temps de plusieurs paramètres a été optimisé, afin de choisir les facteurs qui améliorent la production de cellulases chez *Preussia africana*. Les facteurs choisis ont été optimisés statistiquement en utilisant la méthodologie de surface de réponse (RMS). Les valeurs plus élevées des activités CMCase (2,042 IU.mL⁻¹) et FPase (0.809 IU.mL⁻¹) ont été obtenues à une quantité de glucose de 1.9 %, une température de 37°C, et un temps d'incubation qui varie entre 5 et 9 jours. L'optimisation statistique a augmenté la valeur moyenne de la production des activités enzymatiques avec un taux dépassant 100% par rapport à celle obtenue dans les conditions initiales non optimisées. Les cellulases produites ont présenté des activités catalytiques optimales à pH 5 et 50°C. Elles ont restées stables à des températures allant de 30 à 70°C et à un pH de 4 à 7, avec une demi-vie de 24 heures à la température optimale (50°C). L'enzyme laccase de l'endophyte ligninolytique JO-V2 a été reconnue par l'optimum d'activité à 30°C, pH 5 et une activité élevée conservée à 50°C. L'action de l'enzyme cellulase de *P.africana* JO-A a été évaluée par la dégradation d'un substrat cellulosique industrielle. Une hydrolyse significative a été prouvée avec un taux moyen de dégagement de sucres fermentables et une quantité d'éthanol de 10.74 g.L⁻¹ avec la souche *K.marxianus* à 37°C pendant 24h. *P.africana* JO-A est un producteur de cellulases thermostables de natures acidophiles, ce qui permet leur exploitation biotechnologique concentrée sur la production d'enzymes et la bioconversion de la biomasse lignocellulosique en produit à haute valeur ajoutée. La bioconversion en bioéthanol de deuxième génération a été adoptée avec le procédé hydrolyse et fermentation séparées (SHF). Des concentrations d'éthanol comprises entre 22.20 et 23.70 g.L⁻¹ ont été obtenues après la fermentation avec trois souches *S. cerevisiae*, *K.marxianus* et *C.tropicalis* à partir de substrat hydrolysé de la peau de figuier (prétraitement fongique et hydrolyse enzymatique). La bioconversion et la valorisation énergétique d'un bio-déchets alimentaire génèrent une nouvelle opportunité de développement dans les technologies des énergies renouvelables.

Mots clés : Endophytes mésophile, *Preussia africana* JO-A, *Juniperus oxycedrus*, Méthodologie de surface de réponse, Cellulases, Thermostables, Acidophiles, Endophyte JO-V2, Laccases, Peau de figuier, SHF, Ethanol

The optimization of enzyme production at fungal endophytes for the degradation of plant biomass for the production of second generation bioethanol at high temperature

Abstract :

Increased demand for extracellular fungal cellulases in the industrial sector due to their vast potential and high hydrolysis capacities. *Juniperus oxycedrus*, is a medicinal tree, economically important, less recognized for the diversity of its fungal endophytes and their potential to produce extracellular enzymes. 70 fungal endophyte isolates isolated and purified from fresh internal tissues of *Juniperus oxycedrus* in the Ifrane-Morocco region, and constitute a potential source of cellulase, laccase and amylase enzymes of industrial interest. The present study is the first report on the isolation, identification and evaluation of the ability of the mesophilic strain *Preussia africana* JO-A to produce cellulosic enzymes in the Ifrane region. A one-time factor screening of several parameters was optimized, in order to select factors that enhance cellulase production in *Preussia africana*. The selected factors were statistically optimized using response surface methodology (RSM). The higher values of CMC_{ase} (2.042 IU.mL⁻¹) and FP_{ase} (0.809 IU.mL⁻¹) activities were obtained at 1.9% glucose, 37°C, and incubation time ranging from 5 to 9 days. L'optimisation statistique a augmenté la valeur moyenne de la production d'activités enzymatiques avec un taux supérieur à 100% par rapport à celle obtenue dans les conditions initiales non optimisées. The cellulases produced exhibited optimal catalytic activities at pH 5 and 50°C. They remained stable at temperatures ranging from 30 to 70°C and pH 4 to 7, with a half-life of 24 hours at the optimal temperature (50°C). The laccase enzyme of the ligninolytic endophyte JO-V2 was recognized by the optimum activity at 30°C, pH 5 and a high activity kept one at 50°C. The action of the cellulase enzyme of *P.africana* JO-A was evaluated by the degradation of an industrial cellulosic substrate. A significant hydrolysis was proved with an average rate of fermentable sugars release and a quantity of ethanol of 10.74 g.L⁻¹ with the strain *K.marxianus* at 37°C during 24h. *P.africana* JO-A is a producer of thermostable cellulases of acidophilic nature, allows their biotechnological exploitation focused on the production of enzymes and the bioconversion of lignocellulosic biomass into high value added product. The bioconversion into second generation bioethanol has been adopted with the separate hydrolysis and fermentation (SHF) process. Ethanol concentrations between 22.20 and 23.70 g.L⁻¹ were obtained after fermentation with three strains *S. cerevisiae*, *K.marxianus* and *C.tropicalis* from hydrolyzed fig skin substrate (fungal pretreatment and enzymatic hydrolysis). The bioconversion and energy recovery of a food bio-waste generates a new development opportunity in renewable energy technologies.

Key Words : Mesophilic endophytes, *Preussia africana* JO-A, *Juniperus oxycedrus*, Surface response methodology, Cellulases, Thermostables, Acidophiles, Endophyte JO-V2, Laccases, Fig tree skin, SHF, Ethanol