



Université Mohamed Khider de Biskra

Filière : Sciences biologiques

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences de la nature et de la vie

Référence / 2022

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :

MAIRIF Dounia

Le: Mercredi 29 juin 2022

Les enzymes fongiques filamenteux extrêmophiles impliquées dans la bioremédiation

Jury :

Titre	HALIMI Chahrazed	MAA	Univ Biskra	Président
Titre	DENDOUGA Wassila	MCA	Univ Biskra	Rapporteur
Titre	AGLI Abdenacer	Pr	Univ Biskra	Examineur

Année universitaire : 2021_2022

Remerciements

Merci au bon dieu le tout puissant de m'avoir aidés à réaliser ce modeste travail.

Mes vifs remerciements s'adressent à Mme. DENDOUGA Wassila d'avoir proposé ce thème et accepté de ma encadrer et m'avoir suivi et dirigé tout le long de ce travail. .

Je remercie les examinateurs qui auront à lire et à évaluer ce travail. Leurs remarques et critiques permettront d'améliorer ce travail.

Je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Avec l'aide de dieu, le tout puissant, ce travail est achevé je
dédicis

A ceux qui me sont les plus chère au monde, aux deux êtres
qui illuminé ma vie :

A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses
efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ni sacrifices, ni
privations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère
soucieuse de l'avenir de ses enfants.

A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et
encouragement, sa chaleur paternelle a été et sera toujours
pour moi d'un grand réconfort.

A mes chers frères et à mes chères sœurs

À mes amis

Table des matières

LISTE DE TABLEAUX.....	I
LISTE DE FIGURES.....	II
LISTE DES ABREVIATIONS.....	III
INTRODUCTION GENEALE.....	1

PREMIER PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

1.1. Généralité.....	3
1.2. Mode de vie.....	3
1.2.1. Les saprophytes.....	3
1.2.2. Les parasitismes.....	3
1.2.3. La symbiose mutualiste.....	3
1.3. Mode de reproduction.....	4
1.4. Phylogénie et classification des champignons.....	4
1.5. Champignons extrêmophiles.....	5
1.5.1. Champignons thermophiles.....	5
1.5.2. Champignons halophiles.....	5
1.5.3. Champignons acidophiles et alcalophiles.....	5

CHAPITRE 02 : BIOREMEDIATION

2.1. La bioremédiation.....	6
2.2. La mycoremédiation.....	7
2.3. Facteur influençant la mycoremédiation.....	7
2.3.1. Les facteurs biologiques.....	7
2.3.2. Les Facteurs environnementaux.....	7

CHAPITRE 03 : ENZYMES FONGIQUES IMPLIQUEES DANS LA BIOREMEDIATION

3.1. Les enzymes ligninolytiques produites par les champignons extrêmophiles.....	8
3.1.1. Oxydases.....	8
3.1.1.1. Phénol oxydase (laccase).....	8
3.1.2. Peroxydase.....	9

3.1.2.1. Lignine peroxydase.....	9
3.1.2.2. Magnésium peroxydase.....	9
3.1.2.3. Peroxydase versatile.....	9

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 04 : MATERIEL ET METHODES

4.1. Analyse du sol.....	12
4.2. Isolement des champignons filamenteux extrêmophiles.....	12
4.3. Identification des champignons filamenteux.....	13
4.3.1. Identification macro/microscopique.....	13
4.3.1. Identification moléculaire.....	14
4.5. Criblage fongique pour la détection des activités ligninolytiques.....	14
4.5.1. Test de décoloration des colorants.....	14
4.5.2. Test de l'acide gallique.....	14
4.5.3. Test au gaïacol.....	14
4.5. Production et purification des enzymes.....	15

CHAPITRE 05 : RESULTATS ET DISCUSSION

5.1. Analyses du sol.....	16
5.1.1. pH	16
5.1.2. L'humidité.....	16
5.1.3. Salinité (Conductivité électrique).....	17
5.1.4. Carbone organiques	17
5.2. Isolement des champignons filamenteux extrêmophiles.....	18
5.3. Identification des champignons.....	20
5.3.1. Identification préliminaire.....	20
5.3.2. Identification moléculaire	22
5.4. Détection des activités ligninolytiques.....	23
5.5. Production des enzymes.....	26
CONCLUSION.....	29
BIBLIOGRAPHIE.....	30
RESUME	

Liste des Tableaux

Tableau 1. les résultat d'analyses du sol (Meddich <i>et al.</i> , 2015).....	16
Tableau 2. La salinité de sol en fonction de leur conductivité électrique.	17
Tableau 3. Les résultats de test d'halotolérance.	18
Tableau 4. Croissance apicale (mm. <i>h</i> – 1) Des différentes espèces en fonction de la température d'incubation.	19
Tableau 5. La morphologie des colonies de différentes espèces isolées.....	21
Tableau 6. Résultats de l'indentification des espèces étudiés à l'aide de l'outil d'analyse BLAST du NCBI	22
Tableau 7. Tests de RBBR et de réaction à l'acide gallique de les champignons sélectionné pour la dégradation des HAPs.....	24

Liste des Figures

Figure 1. Multiplication végétative (à gauche) et cycle monogénétique haplophasique Mucor (à droite).....	4
Figure 2. Schéma explicative de la dégradation de la lignine par les champignons de la pourriture blanche	11
Figure 3. Schéma montre l'isolement des champignons par la méthode de suspension-dilution	13
Figure 4. Effet de la période d'incubation sur la production de lignine peroxydase et de manganèse peroxydase..	27
Figure 5. Effet de la période de l'incubation sur la production de laccase et de la biomasse.	27

Liste des abréviations

ADN: Acide Désoxyribonucléique

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

GPS : Les Grandes Plaines Salées

ITS : Internal Transcribed Spacer

Lac : Laccase

LiP : Lignine-peroxydase

MEA : Agar à l'extrait de malt

MnP : Manganèse-peroxydase

Mn²⁺ : ion de Magnésium

NaCl : Chlorure de sodium

PCR: Polymerase Chain Reaction

PDA: Potato dextrose agar

pH : potentiel d'hydrogène

PV : peroxydase-versatile

RBBR : Remazol Bleu Brillant R

Introduction générale

La qualité de la vie sur terre est inextricablement liée à la qualité globale de l'environnement et les sols sains sont essentiels pour soutenir un environnement qui offre un habitat pour la population humaine mondiale. En réalité, les sols contaminés sont de plus en plus fréquents ce qui représente l'un des principaux problèmes auxquels nous sommes confrontés aujourd'hui. La pollution de l'environnement est en augmentation en raison des activités humaines telles que l'explosion démographique, les pratiques agricoles l'urbanisation anarchique, la déforestation, l'industrialisation rapide et l'utilisation non judicieuse des réservoirs d'énergie et d'autres activités anthropiques. Parmi les polluants qui posent des problèmes environnementaux et de santé publique en raison de leurs toxicités sont : les engrais chimiques, les métaux lourds, les déchets nucléaires, les pesticides, les herbicides, les insecticides et les hydrocarbures. (Vidali., 2001 ; Sharma., 2020 ; Mayans *et al.*, 2021).

Aujourd'hui, les normes environnementales internationales accordent une attention croissante au traitement de ces effluents après leur déversement. Il existe différentes méthodes de traitement, comme les procédés physico-chimiques et biologiques, suscite un grand intérêt pour l'élimination de ces composés toxiques. Plusieurs méthodes physico-chimiques traditionnelles, telles que l'adsorption, l'oxydation photochimique, l'échange d'ions, les procédés d'oxydation avancée, l'ozonation, l'extraction, la précipitation, la floculation avec des agents chimiques..., ont été utilisées, avec plus ou moins de succès. Cependant, en raison des inconvénients de ces procédés, tels que leur coût élevé, la présence de grandes quantités de solvants chimiques et la formation de sous-produits toxiques et créent une secondaire pollution. Pour toutes ces raisons il est absolument nécessaire de trouver des alternatives écologiques et rentables pour protéger la santé humaine et la biodiversité, cette alternative est le traitement biologique : bio dépollution ou biorémediation, basées sur l'utilisation des microorganismes (bactéries, champignons, algues) et leur catalyse enzymatique. (Mtibba, 2019 ; Ben Ali, 2021).

Dans la bioremediation, les champignons sont les microorganismes les plus étudiés en raison de leur capacité à se propager dans le sol via leur mycélium, à produire des enzymes extracellulaires avec un large éventail de spécificités de substrat, à tolérer les polluants et à s'adapter à des environnements parfois extrêmes.

Les champignons jouent un rôle majeur en tant que décomposeurs et symbiotes dans tous les écosystèmes, y compris les sols et les habitats aquatiques, grâce à leur morphologie robuste et leur dévers capacité métabolique. Ils sont particulièrement adaptés à l'opération de la biorémédiation. (Deshmukh *et al.*, 2016).

Le présent travail est une synthèse des articles scientifiques pour l'objectif est d'étudier les potentialités des champignons filamenteux et leurs enzymes (les enzymes ligninolytiques). Dans ce travail on s'intéresse aux champignons filamenteux isolés à partir des milieux extrêmes et leurs enzymes impliquées dans la bioremédiation.

Première partie :
Synthèses bibliographique

Chapitre 01 :

Champignons filamenteux

Chapitre 1 : Les champignons filamenteux

1.1. Généralité

Le règne des mycètes, ou mycètes, est l'une des cinq règnes vivants. Il concerne les champignons, qui sont des organismes eucaryotes ubiquitaire très répandus dans la nature. Ils se distinguent par leur biodiversité importante et leur rôle critique dans un large éventail d'écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007 ; Powers-Fletcher *et al.*, 2016). Les organismes fongiques se distinguent par la présence d'une paroi de chitine, un polysaccharide très résistant composé de résidus de N-acétylglucosamine (Carlile *et al.*, 1994), de glucanes (polymères de molécules de D-glucose), et d'une membrane plasmique contenant de l'ergostérol.(Mtibba, 2019).

Les champignons peuvent être unicellulaires (levures) ou pluricellulaires filamenteux (mycélia) (Powers-Fletcher *et al.*, 2016), Ils sont hétérotrophes (dépourvus de chlorophylle, incapables de faire la photosynthèse), Les champignons possèdent un appareil végétatif ou un thalle simplifié qui ne porte pas de cellules différenciées L'appareil végétatif se compose d'élément de base appelé hyphe qui forme un réseau de filaments ramifiés ; le mycélium (Cavalier-Smith, 2004).

1.2. Mode de vie

Les champignons sont classés selon leur mode de vie en trois grandes catégories : les saprophytes, les parasites et les symbiontes.

1.2.1. Les saprophytes

Utilisent la matière organique morte ou en décomposition (bois, humus, fruits, cadavres) et contribuent ainsi au recyclage des composés organiques dans la forêt. Ils transforment la matière végétale morte en humus. (Lutzoni *et al.*, 2004).

1.2.2. Les parasitismes

Les champignons parasites vivent en dépendance d'autres organismes appelés hôtes. Ils profitent de leurs hôtes sans rien donner en retour car ces derniers leur permettent de se nourrir, de s'abriter et de se reproduire. (Nigg et Bernier, 2017 ; Lo Presti *et al.*, 2015).

1.2.3. La symbiose mutualiste

Les champignons symbiotiques ont développé une relation mutualiste, association avec un végétale autotrophe, chacun des deux organismes tire profit de cette association. La

symbiose permet de créer des êtres nouveaux, comme les lichens ou les mycorhizes. (Duponnois *et al.*, 2013 ; Marouf et Reynaud, 2007).

1.3. Mode de reproduction

Les champignons se reproduisent principalement par l'utilisation de spores, qui sont des structures unicellulaires ou multicellulaires de formes et de tailles diverses capables de reproduire l'espèce fongique après germination. Les spores peuvent se former par voie asexuée soit dans des sporanges, soit à partir de cellules d'hyphes appelées; cellules conidiogènes, ou par voie sexuée suite à une fécondation assurée par des gamètes ou des spores formées à la suite d'une méiose (ascospores ou basidiospores). (Carlile et Watkinson, 1994 ; Jennings et Lysek, 1996 ; Ben Ali, 2019).

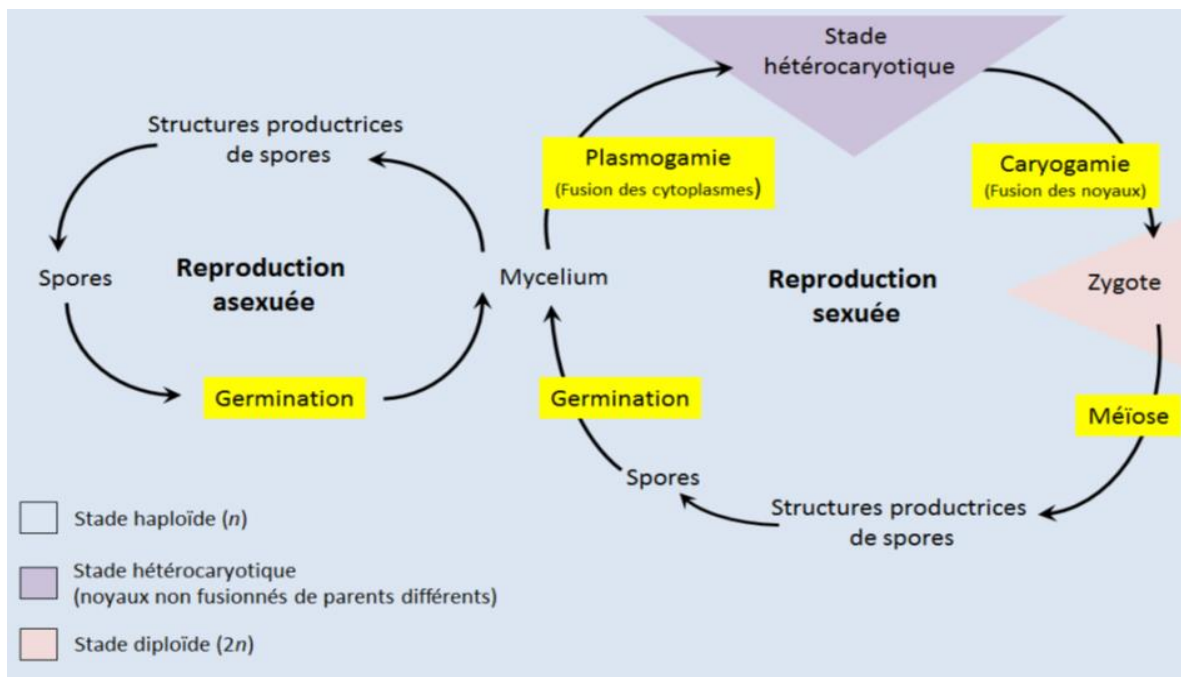


Figure 1. Multiplication végétative (à gauche) et cycle monogénétique haplophasique *Mucor* (à droite). (Ben Ali, 2021).

1.4. Phylogénie et classification des champignons

La classification traditionnelle des champignons filamenteux basée sur les critères phénotypiques (morphologiques et/ou biochimiques) et sur le mode de reproduction sexuée. Le règne fongique se décompose en 4 divisions: *Chytridiomycètes*, *Zygomycètes*, *Basidiomycètes* et *Ascomycètes*.

Ascomycetes : Champignons qui produisent des filaments ou des levures, et se reproduisent sexuellement avec des spores formées à l'intérieur d'un ascus. (McLaughlin *et al.*, 2009).

Basidiomycètes : Champignons qui produisent des filaments ou des levures, et se reproduisent sexuellement avec des spores formées à l'extérieur sur une baside. (McLaughlin *et al.*, 2009).

Zygomycota : espèces filamenteuses cœnocytaires qui n'ont pas de fructifications complexes. (McLaughlin *et al.*, 2009).

Chytridiomycètes : les champignons possédant des cellules flagellées à un moment ou à un autre du cycle de vie. (McLaughlin *et al.*, 2009).

1.5. Champignons extrêmophiles

Un organisme extrêmophile est un organisme qui peut vivre en dehors de la gamme "normale" d'au moins un facteur environnemental et se développent de manière optimale dans des conditions mortelles. (Kristjánsson et Hreggvidsson, 1995).

1.5.1. Champignons thermophiles

Thermophile est défini comme un organisme qui à ses conditions optimales de croissance à température limite située entre 55 et 60°C. (Kristjánsson et Hreggvidsson, 1995).

1.5.2. Champignons halophiles

Les halophiles sont un type de micro-organismes qui vivent dans des environnements fortement salés et qui dépendent de la salinité pour survivre dans de nombreux cas (DasSarma, 2001). Dans le cas d'une forte concentration de sels, les organismes doivent être en mesure de s'adapter physiologiquement à de telles altérations osmotiques. (Oarga, 2009).

1.5.3. Champignons acidophiles et alcalophiles

Les alcalophiles sont des micro-organismes qui se développent de façon optimale à des niveaux de pH supérieurs à 9. Les acidophiles sont définis comme des organismes capables de développer jusqu'à un pH de 1,0 et ayant une croissance active à un pH<4.0 (Horikoshi, 1999 ; Morozkina *et al.*, 2010).

Chapitre 02:

Bioremédiation

Chapitre 2: La bioremédiation

La biotechnologie se concentre sur le développement de " Clean up technologies" qui mettent l'accent sur la production maximale, la réduction de la production de déchets, le traitement et conversion des déchets en une forme utile. En outre, ces technologies propres se concentrent sur l'utilisation de méthodes biologiques pour l'assainissement des déchets. L'une de ces méthodes biologiques est la bioremédiation. (Kulshreshtha *et al.*, 2014 ; De la Cueva *et al.*, 2016).

2.1. Bioremédiation

Le terme de bioremédiation a été introduit pour décrire le processus d'utilisation d'agents biologiques (bactéries, champignons ou plantes) pour éliminer les déchets toxiques pour la santé humaine et l'environnement. (Vidali, 2001 ; Singh, 2014 ; De la Cueva *et al.*, 2016). Il existe trois classifications de la bioremédiation :

- Biotransformation - la transformation de molécules contaminants en molécules moins ou non dangereuses. (Leung, 2004)
- Biodégradation - la décomposition de substances organiques dans de plus petits molécules inorganiques.
- Minéralisation - est la complète biodégradation des matières organiques en constituants inorganiques tels que le CO₂ ou H₂O₄.

Ces trois classifications de la bioremédiation peuvent se produire soit in situ (sur le site de la contamination) ou ex situ (le contaminant est retiré du site de la contamination et traité ailleurs). (Mougin *et al.*, 1996 ;Leung, 2004 ; Azubuike *et al.*, 2016).

Les champignons jouent un rôle majeur dans la bioremédiation en raison de leur morphologie robuste et leur capacité métabolique diversifiée. Les champignons peuvent survivre dans une grande variété d'habitats complexe servant d'emplacement principal pour la colonisation fongique ainsi que les habitats d'eau douce et d'eau de mer. (Deshmukh, 2016).

Différentes approches et méthodes appliquées dans le processus d'assainissement microbien telles que la bioatténuation, la biostimulation, la bioaugmentation pour éliminer les polluants toxiques des terrains contaminés. (El Fantroussi et Agathos 2005 ; Saha *et al.*, 2021).

2.2. La mycoremédiation

La mycoremédiation est une forme de bioremédiation qui repose sur l'utilisation des champignons pour l'élimination des déchets de l'environnement. Les champignons possèdent des mécanismes enzymatiques pour la dégradation des déchets/polluants. Les champignons utilise différent méthodes pour la décontamination des sites polluée et stimulée l'environnement parmi ces méthodes est la biodégradation, la bioabsorption et la bioconversion. (Adenipekun *et al.*, 2014 ; Kulshreshtha *et al.*, 2014).

2.3. Facteur influençant la mycoremédiation

2.3.1. Les facteurs biologiques

Les facteurs biotiques affectent la dégradation des composés organiques est la compétition entre les microorganismes pour des sources de carbone limitées, des interactions antagonistes entre microorganismes. Le taux de dégradation des contaminants dépend souvent de la concentration du contaminant et de la quantité de "catalyseur" présent. (Goltapeh *et al.*, 2013 ; Abatenh *et al.*, 2017 ; Sharma,2020).

2.2.2. Les Facteurs environnementaux

La croissance et l'activité des micro-organismes sont affectées par le pH (impact sur l'activité métabolique microbienne), la température (accélérer ou ralentir Le processus de bioremédiation), l'humidité (Les microorganismes ont besoin d'une quantité d'eau suffisante pour accomplir leur croissance), L'ajout de nutriments ajuste l'équilibre essentiel des nutriments essentiels à la croissance et à la reproduction microbiennes, ainsi que ayant un impact sur la vitesse de biodégradation et l'efficacité, et la concentration d'oxygène (La dégradation biologique est s'effectue dans des conditions aérobies et anaérobies). (Abatenh *et al.*, 2017 ; Sharma, 2020).

Chapitre 03 :
Enzymes fongique
impliquées
dans la bioremédiation

Chapitre 3: Les enzymes fongiques impliquées dans la bioremédiation

De nombreuses études en sols ont démontré l'utilité et l'efficacité des champignons pour la bioremédiation (Haemmerli *et al.*, 1986; Eggen et Majcherczyk, 1998; Bogan *et al.*, 1999 ; Anastasi *et al.*, 2013). Les avantages principaux des champignons par rapport aux bactéries sont leur capacité à se propager dans les sols grâce à leur mycélium (Verdin *et al.*, 2004). Les champignons peuvent exploiter des conditions de vie marginales en grande partie parce qu'ils produisent des enzymes inhabituelles capables d'effectuer réactions chimiquement difficiles (Viswanath *et al.*, 2014 ; Shraddha, 2011). ces enzymes sont exploitées dans plusieurs domaines industriels et biotechnologiques tels que la décomposition des polluants (Demirjian *et al.*, 2001).

3.1. Les enzymes ligninolytiques produites par les champignons extrêmophiles

Les enzymes ligninolytiques sont applicables à l'hydrolyse des résidus agricoles lignocellulosiques, en particulier pour la dégradation de la lignine (figure.3), constituant complexe et récalcitrant (Nigam, 2013).

3.1.1. Oxydases

C'est le principal système enzymatique de dégradation du polymère ligneux par la sécrétion des enzymes collectivement appelées "ligninases". Les ligninases peuvent être classées soit comme phénol oxydases (laccase) ou comme hème peroxydases (lignine peroxydase (LiP), manganèse peroxydase (MnP) et peroxydase polyvalente (VP) (Dashtban *et al.*, 2010).

3.1.1.1. Phénol oxydase (laccase)

Les laccases (EC1.10.3.2) sont des 'oxydases bleues multicuivres, qui catalysent l'oxydation monoélectronique d'un large spectre de substrats, par exemple, les ortho- et para-diphénols, les polyphénols, les aminophénols et les amines aromatiques ou aliphatiques, couplée à une réduction complète à quatre électrons d'O₂ en H₂O. en présence de certains substrats auxiliaires, la laccase peut également oxyder des substances non phénoliques (Cullen et Kersten, 2004 ; Dashtban *et al.*, 2010 ; Viswanath, 2014).

3.1.2. Peroxydase

Les peroxydases sont classées en lignine peroxydase (LiP), peroxydase de manganèse (MnP) et peroxydase versatile (VP). En fonction de leur source et de leur activité. Sont très appréciées pour les processus biotechnologiques tels que la bioremédiation. (Deshmukh, 2016).

3.1.2.1. Lignine peroxydase

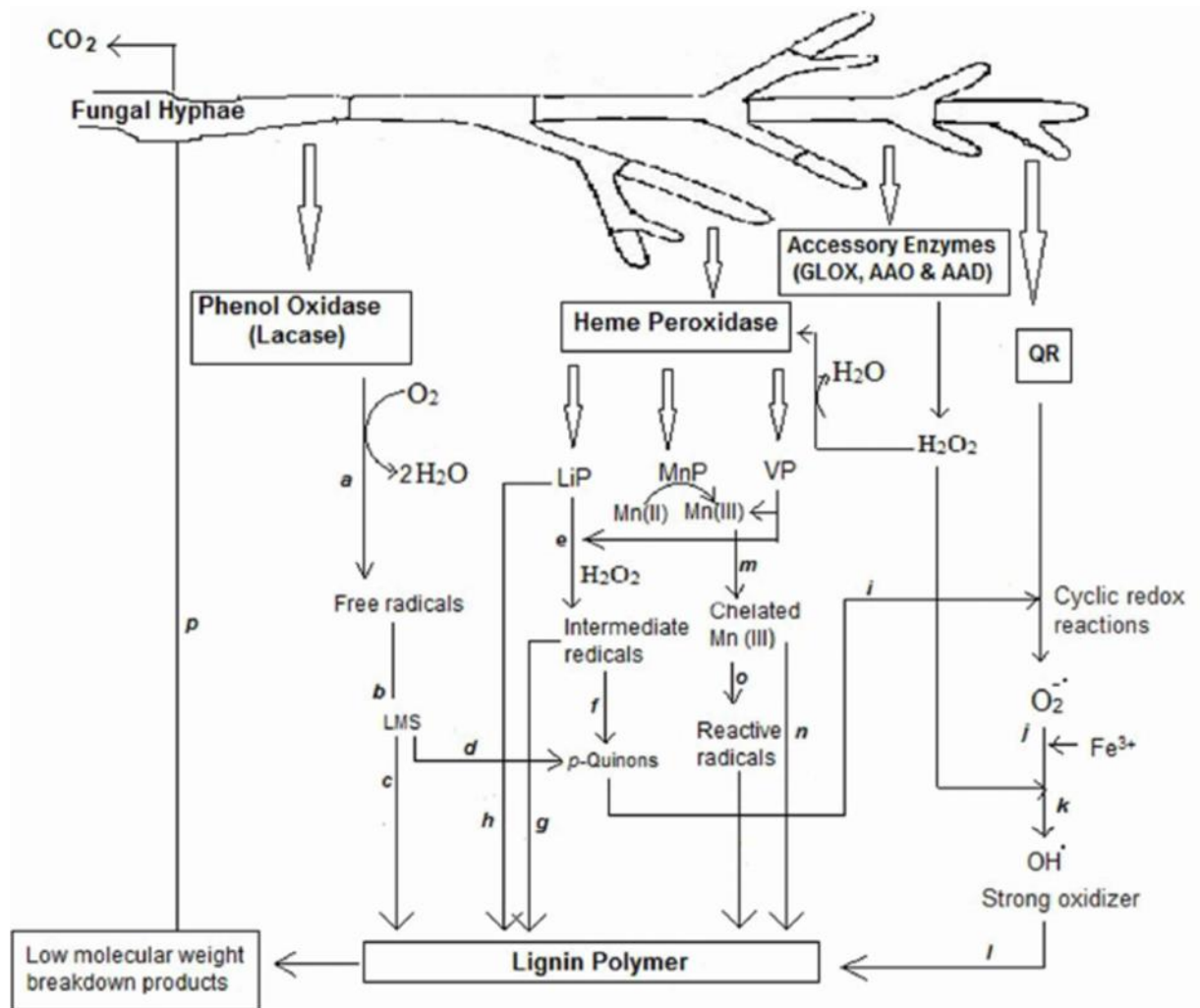
Les LiP (EC 1.11.1.14) Les peroxydases de la lignine sont protéines hémiques sécrétées principalement par le champignon de la pourriture blanche. Pendant métabolisme secondaire. En présence de cosubstrat H₂O₂ et d'un médiateur comme l'alcool veratrylique, les LiP dégradent la lignine et autres composés phénoliques. (Karigar et Rao, 2011).

3.1.2.2. Magnésium peroxydase

MnP (EC 1.11.1.13) est une enzyme hémique extracellulaire provenant d'un champignon basidiomycète dégradant la lignine, qui oxyde Mn²⁺ en oxydant Mn³⁺ dans une réaction à plusieurs réaction en plusieurs étapes. Le Mn²⁺ stimule la production de MnP et fonctionne comme un substrat pour la MnP. Le Mn³⁺, généré par la MnP, agit comme un médiateur pour l'oxydation de différents composés phénoliques. (Karigar et Rao, 2011).

3.1.2.3. Peroxydase versatile

La peroxydase versatile (VP) (EC 1.11.1.16) également connue sous le nom de peroxydase hybride (manganèse-lignine peroxydase), peroxydase VP sont des enzymes spécifiques à un large substrat, capables de d'oxyder des composés phénoliques et non phénoliques. (Deshmukh, 2016 ; Kumar et Chandra, 2020).



A présentation schématique du processus de biodégradation de la lignine chez les champignons de la pourriture blanche. (a) Oxydation du substrat par réduction du dioxygène en 2 molécules d'eau conduisant à la formation de radicaux libres. (b) Les radicaux libres agissent comme des substrats intermédiaires pour les enzymes (LMS). (c) Formation de médiateurs qui peuvent quitter le site enzymatique et subir des réactions non enzymatiques de polymérisation oxydative ou de dépolymérisation du polymère de lignine. (d) Les LMS participent à la ligninolyse. (e) Formation de radicaux intermédiaires, tels que les radicaux phénoxy et les cations de radicaux d'alcool vératrylique via une réaction de transfert d'électrons à plusieurs étapes. (f) Décomposition C α -C β donnant des p-quinones. (g) repolymérisation. (h) Oxydation directe de substrats aromatiques non-phénoliques par le LiP. (i) Activation de l'oxygène dans les réactions d'oxydoréduction cycliques impliquant le QR. (j) Réduction du fer ferrique (k) Réoxydation du fer ferrique réduit par réduction de H₂O₂ et libération du radical libre hydroxyle (OH \cdot). (l) OH \cdot initie l'attaque de la lignine. (m) Oxydation du Mn(II) en Mn(III) qui est ensuite chélaté par l'oxalate ou d'autres chélateurs. (n) Le complexe Mn(III) chélaté

agit comme un médiateur redox réactif de faible poids moléculaire et diffusible pour l'oxydation du substrat phénolique. (o) Formation de radicaux réactifs en présence d'un second médiateur (tels que les radicaux d'acide acétique, les radicaux peroxyde, les radicaux superoxyde et formate) pour l'oxydation du substrat non phénolique. (p) Enfin, les composés de faible poids moléculaire sont ensuite absorbés par les hyphes fongiques et convertis en CO₂. Abréviations : LMS - Laccase Mediate System ; LiP - Lignine Peroxidase ; MnP - Manganese Peroxidase ; VP - Versatile Peroxidase ; GLOX - Glyoxal Peroxidase ; AAO - Aryl Alcohol Oxidase ; AAD - Aryl Alcohol Dehydrogenase ; QR - Quinon Reductase ; OH[·] - Radical hydroxyle libre

Figure 2. Schéma explicative de la dégradation de la lignine par les champignons de la pourriture blanche (Paliwal *et al.*, 2012).

Deuxième partie :
Partie expérimentale

Chapitre 04 :

Matériel et Méthodes

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

Plusieurs études ont été menées pour étudier le rôle des champignons filamenteux dans la bioremédiation et la dégradation des composés organiques pour réduire la pollution des différents habitats écologiques. Le présent document représente une synthèse d'articles scientifiques, où on s'intéresse aux enzymes produites par les champignons filamenteux et qui sont impliquées dans la dégradation de la lignine, qui est considérée comme l'un des composants majeurs des déchets sur terre.

4.1. Analyse du sol

Les sols sont des environnements très complexes caractérisés par une énorme diversité d'organismes, en particulier des microorganismes, et des composés chimiques et par une structure physique complexe. (Guenet, 2011).

Les caractéristiques chimiques et physiques du sol sont particulièrement importantes pour comprendre la dans les systèmes de gestion intensive, Le carbone organique (C), l'azote total (N), le teneur de l'humidité et le pH du sol sont les principaux constituants mesurés dans le cadre d'une l'analyse conventionnelle des sols. (Cozzolino et Moron, 2003).

Le pH des échantillons de sol est mesuré à l'aide d'un pH-mètre, et l'humidité est déterminée en calculant la différence de poids entre l'échantillon de sol frais et l'échantillon de sol sec (méthode gravimétrique), la conductivité (salinité) est déterminée à l'aide d'un conductimètre sur un extrait aqueux au 1/5 du sol ou par un salinomètre. La matière organique et le carbone organique total sont déterminer par la méthode de titrage au dichromate, et l'azote total est déterminé par la méthode de digestion Kjeldahl. (Ali *et al.*, 2013 ; Meddich *et al.*, 2015).

4.2. Isolement des champignons filamenteux extrémophiles

Les champignons du sol ont été isolés par la méthode de dilution du sol (Davet et Rouxel, 2000) présentée dans la figure 4, où dans les conditions extrêmes les microorganismes se trouvent sous forme de spores. Les échantillons de sol ont été dilués en série avec l'eau distillée. La dilution a été inoculée sur des plaques de milieu Potato Dextrose Agar (PDA) additionné de 15% de NaCl et les plaques inoculées ont été incubées à 35°C pendant semaine. (Ali *et al.*, 2013).

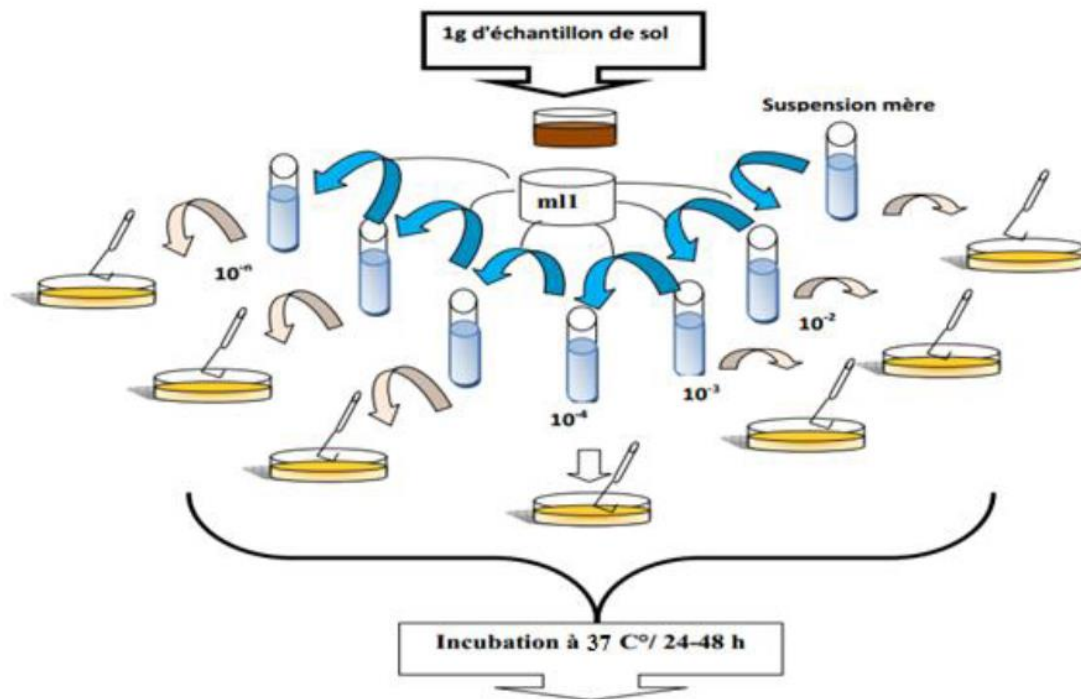


Figure 3. Schéma montre l'isolement des champignons par la méthode de suspension-dilution (Boukhatem et Djerourou, 2019).

4.3. Identification des champignons filamenteux

4.3.1. Identification macro et microscopique

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux (identification macroscopiques) et à la morphologie (identification microscopiques). (Botton *et al.*, 1999). Les observations macroscopiques et microscopiques des structures fongiques réalisées pour identifier la classe, l'ordre, le genre et l'espèce des souches isolées.

Les champignons isolés ont été identifiés jusqu'au niveau du genre et de l'espèce, sur la base de critères macro morphologiques (les colonies ont été examinées pour déterminer si leur croissance était lente ou rapide, leur topographie plate, en tas, pliée de manière régulière ou irrégulière), leur texture (levure, poudreuse, granuleuse,), la pigmentation de surface et la pigmentation inverse) et micro morphologique (hyphes, macro conidies, micro conidies, chlamydospores et autres structures fongiques particulières) en utilisant des milieux appropriés, des cultures sur lame et les clés d'identification les plus récentes. (Raja *et al.*, 2017).

4.3.1. Identification moléculaire

Selon le travail du Alsohaili et Bani-Hasan, (2018), l'extraction de l'ADN génomique des champignons a été réalisée à partir d'une culture PDA d'une semaine à l'aide du DNeasy Plant Mini Kit (fourni par QIAGEN). Des amorces (ITS1 et ITS4) ont été utilisées pour amplifier l'espaceur transcrit interne ribosomal (ITS). Les produits de la PCR ont été purifiés à l'aide du kit de purification rapide de la PCR QIA. Les séquences obtenues ont été comparées aux autres séquences apparentées en utilisant la recherche BLAST dans GenBank (NCBI).

4.4. Criblage fongique pour la détection des activités ligninolytiques

4.4.1. Test de décoloration des colorants

D'après Lee *et al.*, (2014) Une méthode de décoloration de colorant a été utilisée comme méthode de criblage pour déterminer si les champignon de pourriture blanche étaient capables de dégrader les HAP. Le Remazol brilliant bleu R est considérablement décolorée par les champignons dégradant la lignine. Pour utiliser cette méthode, les champignons ont été inoculés sur de la MEA (malt extrait agar) à 2% contenant 100 mg/L de RBBR et incubés à 27 °C. La boîte de Pétri a été observée quotidiennement afin de déterminer le temps nécessaire à la décoloration de la boîte entière.

4.4.2. Test de l'acide gallique

Dans le travail de Lee *et al.*, (2014) montre qu'il y a une forte corrélation a été constaté entre la capacité des basidiomycètes d'oxyder l'acide gallique en sa forme quinonique de couleur marron dans la gélose et la possession d'une capacité ligninolytiques. Pour caractériser les champignons, l'oxydation de l'acide gallique a été mesurée à plusieurs reprises. Les champignons ont été inoculés sur de la MEA à 1,5 % complétée par 5 g/L d'acide gallique et incubés à 27 °C.

4.4.3. Test au gaïacol

La MEA avec un supplément de 0,2 % (v/v) de gaïacol a également été utilisée comme agent de criblage de Lac et de peroxydases (Per). Dans les champignons, une méthode de criblage a été utilisée pour déterminer la production de Lac et de peroxydases (Per). L'oxydation du gaïacol en sa forme rouge-brun dans la gélose indique la présence d'une activité Lac et Per dans les champignons. Chaque champignon a été inoculé dans boites de Pétri avec un bouchon de 7 mm de diamètre dans le milieu ci-dessus, et les cultures ont été

incubées à température optimale pour la croissance pendant 20 jours. Les boîtes de Pétri de chaque cas ont été examinées visuellement tous les jours pour surveiller la production d'une couleur brun-rougeâtre due à l'oxydation du gaïacol. (Batista-García *et al.*, 2017).

4.5. Production et purification des enzymes

Selon le travail d'Arora et Gill (2005) La production des enzymes ligninolytiques a été étudiée en bouillon de sels minéraux (MSB) limité en azote. Dix millilitres de MSB ont été prélevés dans des flacons Erlenmeyer de 100 ml stérilisés par autoclavage à une pression de 15 lb pendant 20 minutes et inoculé avec deux disques de mycélium (8 mm de diamètre) prélevés à la périphérie d'une colonie fongique cultivée depuis 6-7 jours de croissance de la colonie fongique sur des plaques YGA. Les flacons ont été incubés à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ comme cultures stationnaires. Tous les 2 jours, des séries de flacons en triple exemplaire ont été traitées pour une période totale de 20 jours. Le contenu de chaque flacon a été filtré sur du papier filtre Whatman no. 1 et centrifugé à 10 000 tours/min pendant 20 minutes.

Chapitre 05 :

Résultats et discussion

Chapitre 5 : Résultats et discussion

5.1. Analyse des sols

Les résultats de Meddich *et al.*, (2015) sur l'analyses des paramètres physico-chimiques de sol sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1. les résultat d'analyses du sol (Meddich *et al.*, 2015).

Paramètres physicochimiques	Résultats
Humidité en %	10,79±0,7850
Matière organique en %	1,92±0,040
pH	7,93±0,055
Azote total %	0,15±0,007
Carbone organique totale en %	1,11±0,1135
Conductivité électrique en ms/cm	3,45±0,0655

5.1.1. pH

En général, le pH du sol se situe entre 5 et 9 (Atlas et Bartha, 1981 ; Sommers *et al.*, 1981). Selon Meddich *et al.*, (2017) le pH de sol est (7,93) , dans le travail de Cantrell *et al.*, (2006) le pH du sol variait de 7.3 à 8.2, dans le travail du Ismail *et al.*, (2017) les échantillons de sol prélevés autour des lacs présentaient des valeurs de pH allant de 7,83 à 8,12, et le pH du sol pour tous les échantillons était supérieur à 7 selon l'étude de Zaiad, (2010).

5.1.2. Humidité

Pour mesurer l'humidité la méthode gravimétrique est la meilleure technique, Selon Lee et Hwang (2002), l'humidité d'un sol est :

- Faible, quand le pourcentage d'humidité est entre 2.0% et 9.0%.
- Modérée, quand le pourcentage d'humidité est entre 9.1% et 13.0%.
- Elevée, quand le pourcentage d'humidité est entre 13.1% et 20.0%.

Selon le travail de Meddich *et al.*, (2017) le sol présente une faible humidité (<11%) , l'humidité selon le travail de Bronicka *et al.*, (2007) est entre 0.09 et 0.2 g/g, et La teneur en humidité des échantillons de sol était comprise entre 6,9 % et 5 % dans le lac Khadra dans le travail du Ismail *et al.*, (2017).

5.1.3. Salinité et la conductivité électrique

Le sol étudié dans le travail de Meddich *et al.*, (2017) est fortement salé selon le tableau 2. Et selon le travail de Bronicka *et al.*, (2007) La conductivité électrique est entre 0 et 0.1981, La salinité dans les étangs salés de l'Adriatique variait de 3 % à 30 % qui étudie par Butinar *et al.*, (2005) , La salinité est un facteur important pour déterminer que le milieu ou l'habitat est extrême pour faire l'isolement.

Tableau 2. La salinité de sol en fonction de leur conductivité électrique (Gueye, 2013).

Qualité du sol	Non salé	Légèrement Salé	Salé	Très salé	Extrêmement Salé
Extrait 1/5 (ms/cm)	<0.50	0.50-1.00	1.0-2.0	2.0-4.0	>4.0

5.1.4. Matière organique

Selon les résultats du Bronicka *et al.*, (2007) Le matière organique est 1.37% et dans le travail de Meddiche *et al.* , (2017) Le pourcentage en matière organique est de 1,92%, Les sols autour des lacs de Wadi-El-Natron avec un taux de matière organique (1,5 - 2,49 %) selon le travail du Ismail *et al.*, (2017).

Selon Meddich *et al.*, (2017) le pH de sol est avec un réaction alcaline, aussi le pH de sol étudiée par Ismail *et al.*, (2017) et Cantrell *et al.*, (2006) est légèrement alcalines ces régions exprime une concentration élevée d'ions de l'hydrogène. Dans les travaux réaliser par Zaiad, (2010) Le pH du sol pour tous les échantillons est alcalin. Sous des conditions alcalines, la solubilité des minéraux diminue au point de provoquer des carences en nutriments.

Selon Ismail *et al.*, (2017) La teneur en humidité des échantillons de sol est faible selon l'intervalle du Lee et Hwang (2002), aussi dans le travail du Meddich *et al.*, (2015) le sol est sujet à un déficit hydrique.

Selon Bronicka *et al.*, (2007) les conditions du sol étaient non salines en raison des orages réguliers qui ont pu entraîner des sels de la couche arable . Au contraire du Meddich *et al.*, (2015) qui est trouvée que Le sol de la palmeraie de Marrakech (Maroc) fortement salé à cause de le dessèchement des sols et les taux d'évaporation élevés dans cette région qui provoquent l'accumulation de sels à la surface du sol, aussi le sol de le travail du Butinar *et al.*, (2005) est salé soumis à l'évaporation.

Selon Ismail *et al.*, (2017). Les sols autour des lacs de Wadi-El-Natron ont été récemment assainis et dépendent de l'humus et de différents types d'engrais, ce qui peut expliquer leur teneur élevée en matière organique. Mais le matière organiques du sol étudié par Meddich *et al.*, (2015) est pauvre à cause de salinité et stress hydrique limitent l'assimilabilité des éléments nutritifs.

5.2. Isolement des champignons filamenteux extrêmophiles

Pour l'isolement des champignons filamenteux extrêmophiles la première étape consiste à choisir le site ou l'habitat du ces champignons filamenteux d'intérêt et pour isoler les champignons extrêmophiles les milieux extrêmes offrent cette possibilité.

Ali *et al.*, (2013) dans son travail tous les champignons isolés ont été capables de se développer sur 15 % NaCl, ce qui prouve qu'ils sont tous halotolérants. La concentration de NaCl a été déterminée à la base du test de salinité du sol.

Afin de déterminer les champignons halophiles, un test d'halotolérance est réaliser par Cantrell *et al.*, (2006) sur des champignons isolée le milieu de culture utilisé dans cette étude était de la MEA modifiée avec les concentrations de NaCl: 10, 15, 20 et 25 %. Les isolats ont été inoculés au centre des plaques et incubés à 27°C pendant 10 jours. Après cette période, le diamètre de la colonie a été mesuré les résultats présentée dans le tableau 3.

Tableau 3. Les résultats de test d'halotolérance. (Cantrell *et al.*, 2006).

Espèce	NaCl(%)	Taux de croissance (cm)	Sel Tolérance
<i>Penicillium sp. P. chrysogenum, Aspergillus caespitosus, A. candidus, A. carneus, A. nidulans, Nigrospora sphaerica and moniliaceous Sterile mycelium</i>	25%	>3 cm	hautement halotolérant

<i>Aspergillus sp. A. flavus, A. melleus, A. ochraceus, A. penicillioides, Cladosporium cladosporioides, Humicola sp., moniliaceous mycelia sterilia, Myrothecium roridum and P. citrinum</i>	25%	2–3cm	Modérément halotolérant
<i>A. flavipes, A. niger, C. oxysporum, C. sphaerospermum, Chaetomium globosum, Curvularia lunata, Dreschlera sp. and P. oxalicum. Periconia sp.,</i>	25%	<2 cm	Faible halotolérance

Dans cette étude, les chercheurs ont identifié des espèces de champignons présentes dans un environnement extrême considéré comme trop rude pour que les champignons prospèrent et les résultats confirment les rapports récents présentés par d'autres et remettent en question l'idée que de tels organismes ne pourraient pas survivre dans les conditions extrêmes présentes dans les salines solaires. (Cantrell *et al.*, 2006).

La capacité des champignons à se développer dans des milieux à forte concentration en sel est un outil important pour la bioremédiation, car elle permet de réduire les risques de contamination, puisque les effluents industriels contiennent fréquemment une concentration de solutés qui pourraient inhiber les enzymes et les micro-organismes sensibles à de faible. (Arakaki *et al.*, 2013).

D'après Lamrani *et al.*, (2006) La température d'incubation est 50°C pour l'isolement des champignons thermophiles et des thermotolérantes. Ce résultat est confirmé par la Caractérisation physiologique présenté dans le tableau 4.

Tableau 4. Croissance apicale ($\text{mm} \cdot \text{h}^{-1}$) Des différentes espèces en fonction de la température d'incubation. (Lamrani *et al.*, 2006)

Espèces	19°C	25°C	35°C	45°C	55°C	60°C
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,17	0,27	0,31	0,40	0	0
<i>Humicola grisea</i>	0	0	0,46	0,47	0,25	0,05
<i>Humicola lanuginosa</i>	0	0	0,25	0,42	0,34	0,21
<i>Malbranchea sulfurea</i>	0	0,01	0,27	0,35	0,07	0,03

<i>Myceliophthora thermophila</i>	0	0.37	0.67	0.68	0.37	0.03
<i>Poecilomyces variotii</i>	0	0.03	0.65	0.47	0.45	0
<i>Rhizopusmiehei</i>	0	0.41	0.77	0.89	0.45	0

Özdemir et Uzel, (2020) ont isolé dans leur travail 48 souches de champignons filamenteux du sol, des sédiments et d'un échantillon de compost. Les températures des sédiments et des sols étaient différentes entre 35-60 °C et le compost était à 70 °C au moment de l'échantillonnage. La révélation de la biodiversité de ces habitats extrêmes est importante car les micro-organismes de ces environnements ont un grand potentiel biotechnologique. La demande industrielle d'enzymes capables de supporter des conditions difficiles a fortement augmenté au cours des dernières décennies. Par conséquent, les enzymes thermostables qui ont été isolées principalement à partir de micro-organismes thermophiles, ont trouvé beaucoup d'applications commerciales en raison de leur stabilité (Coleri *et al.* 2009). Les champignons particulièrement tolérants à la chaleur champignons possèdent des enzymes aux propriétés uniques pour de nombreux processus industriels.

5.3. Identification des champignons filamenteux

Selon plusieurs références, l'identification des champignons filamenteux est basée sur l'aspect macroscopique et microscopique ainsi que moléculaire (Abdullah et Al Badre, 1990 ; Evans *et al.*, 2013 ; Al-Enazi *et al.*, 2017).

5.3.1. Identification préliminaire

Selon le travail de Raja *et al.*, (2017) Les champignons isolés ont été identifiés par des clés à l'aide de livres standards et la confirmation a été faite par le Dr Swaranjit Singh Cameotra, professeur, directeur adjoint de l'Institut de technologie microbienne, Chandigarh. 28 isolats ont été obtenus à partir des échantillons de sol. Parmi les 25 isolats, 13 ont été identifiés avec la clé standard et l'expert microbien présenté dans le tableau 5.

Tableau 5. La morphologie des colonies de différentes espèces isolées (Raja *et al.*, 2017).

Code	Nom de l'espèce	Taille	Couleur	Nature de l'Hyphes	Forme des conidies
LZ1	<i>Giagaspora margarita</i>	Petit	Marron	Circulaire	Globulaire
LZ3	<i>Coleotrichum graminicola</i>	Moyen	Coton blanc	Circulaire et régulière	En forme de faucille
LCOM1	<i>Aspergillus niger</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Rugueux, irrégulier
LC1	<i>Aspergillus niger</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Rugueux, irrégulier
LPHY1	<i>Aspergillus clavatus</i>	Large	Bleu vert	Non-septée	Irrégulier
LPHY2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Moyen	Vert bleu	Non-septée	Ovale
LPHY3	<i>Rhizopus stolonifer</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Conidies ovales
LH1	<i>Mucor sp.</i>	Moyen	Blanc	Large non cloisonné	Ellipsoïde
LH2	<i>Rhizopus oryzae</i>	Moyen	Marron	Non-septée	Globuleux
LH3	<i>Aspergillus niger</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier
LT1	<i>Cladophialophora sp.</i>	Petit	Noir brunâtre	Septée	Conidies ovales
LT2	<i>Arthridium phaeospermum</i>	Petit	Gris	Septée, hyaline	Ellipsoïde
LS1	<i>Mucor sp.</i>	Moyen	Blanc	Non-septique	Ellipsoïde
LS2	<i>Aspergillus clavatus</i>	Large	Vert	Non-septique	Globulaire
LSM1	<i>Aspergillus niger</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier
LSM	<i>Aspergillus variabilis</i>	Moyen	Marron	Non-septée	Ovale
LS	<i>Mucor sp.</i>	Moyen	blanc	Non-septée	Ellipsoïde
LS3	<i>Aspergillus clavatus</i>	Moyen	Vert	Non-septée	Irrégulier
LBE1	<i>Mucor sp</i>	Moyen	Blanc	Non-septée	Ellipsoïde

LB2	<i>Cunningamella bertholletiae</i>	Petit	Gris gazon	Non-septée	Ovale
LB3	<i>Aspergillus niger</i>	Large	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier
LC1	<i>Aspergillus niger</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier
LJD1	<i>Aspergillus niger</i>	Large	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier
LB1	<i>Aspergillus niger</i>	Large	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier
LB2	<i>Aspergillus sydowii</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Irrégulier
LBH1	<i>Mucor sp.</i>	Moyen	Blanc	Non-septée	Ellipsoïde
LBH1	<i>Aspergillus niger</i>	Large	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier
LFH1	<i>Aspergillus niger</i>	Moyen	Noir	Non-septée	Rugueux et irrégulier

5.3.2. Identification moléculaire

L'identification des champignons était principalement basée sur les caractéristiques macroscopiques et microscopiques, mais dans de nombreux cas suspects, des méthodes moléculaires (analyse de la séquence ITS de l'ADNr) ont été utilisées pour confirmer leur identification le Tableau 6 présente le résultat du travail d'Alshaili et Bani-Hasan, (2018).

Tableau 6. Résultats de l'identification des espèces étudiés à l'aide de l'outil d'analyse BLAST du NCBI (Alshaili et Bani-Hasan, 2018).

Isolat	Espèces identifiées	Pb	Analyse moléculaire des séquences ITS 1-4
BKSS1	<i>Aspergillus niger</i>	578	99%
BKSS2	<i>Alternaria alternata</i>	540	99%
BKSS3	<i>Rhizopus stolonifer</i>	731	97%

BKSS4	<i>Alternaria gaisen</i>	542	99%
BKSS5	<i>Penicillium citrinum</i>	487	97%
BKSS6	<i>Aspergillus tubingensis</i>	765	98%
BKSS8	<i>Fusarium oxysporum</i>	521	99%

Selon Al-Enazi et al., (2017) 21 isolats ont été obtenus à partir des analyses de différents échantillons de sol prélevés dans la région du gouvernorat d'Al-Qassim, KSA. Dix souches ont été isolées à partir de plaques de gélose incubées à 28 C pendant 7 jours. Les isolats fongiques ont été identifiés comme étant *Penicillium melinii*, *Petriella setifera*, *Aspergillus pseudo-niger*, *Alternaria chlamydospora*, *Pythium nayloroense*, *Phoma glomerata*, *Mucor ramosissimus*, *Mucor racemosus*, *Fusarium chlamydosporum* et *Rhizopus azygosporus*.

D'après le travail du Evans *et al.*, (2013) Les isolats fongiques ont été obtenus à partir des sols de la GPS (Les Grandes Plaines Salées) de l'Oklahoma par étalement direct et enrichissement dans un milieu contenant 10 % de NaCl. Des souches axéniques de 25 isolats ont été établies et caractérisées phénétiquement et phylogénétiquement. Tous les isolats ont été déterminés comme faisant partie du *saccharomyceta* des *Ascomycetes*.

Dans le travail de Raja *et al.*, (2017) parmi les isolats fongiques, la plupart des espèces appartenant aux genres *Aspergillus* et *Mucor* étaient dominant et dans le travail du Al-Enazi *et al.*, (2017) les isolat identifiée est dévers et le genre *Mucor* est dominant. Il est connu que le sol sert de réservoir pour de nombreux micro-organismes qui jouent un rôle majeur dans l'écosystème du sol.

Selon Evans *et al.*, (2013) Les conditions hypersalines de la GPS obligent les champignons à développer des mécanismes d'adaptation pour tolérer de fortes concentrations de sel. La plupart des champignons isolés des sols de la GPS présentaient une large tolérance à la salinité (euryhaline) et seules quelques-unes étaient halophiles (nécessitant des salinités élevées pour se développer).

5.4. Détection des activités ligninolytiques

Le criblage des champignons pour les enzymes ligninolytiques consiste généralement à le suivi de la décoloration de colorants tels que le colorant polymère/hétérocyclique Remazol bleu brillant R. La capacité d'un champignon à décolorer ce colorant coïncide avec

le début du métabolisme de la lignine et est considérée comme prédictive de sa capacité à dégrader des organo-polluants récalcitrants tels que les HAP. (Lee *et al.*, 2014).

Les résultats de l'étude de Lee *et al.*, (2014) dans l'évaluation de la dégradation à l'aide de la décoloration des colorants et de l'acide gallique est que tous les champignons testés ont été capables de décolorer le RBBR, mais le test de réaction à l'acide gallique 22,7 % des champignons ont une réaction positive indiquée par une couleur brune. Les résultats de ce travail est résumés dans le tableau 7.

Tableau 7. Tests de RBBR et de réaction à l'acide gallique de les champignons sélectionné pour la dégradation des HAPs (Lee *et al.*, 2014).

KUC ID	Espèces fongiques	RBBR	acide gallique réaction
KUC8836	<i>Peniophorai</i>	B	DB
KUC9140	<i>Peniophora cinerea</i>	E	YB
KUC8073	<i>Phanerochaete sordida</i>	B	BR
KUC9130	<i>Trichaptum abietinum</i>	B	N
KUC8201	<i>Mycoaciella bispora</i>	C	YE
KUC9161	<i>Phlebia tremellosa</i>	B	BR
KUC8040	<i>Phanerochaete calotricha</i>	A	DB
KUC8003	<i>Phanerochaete calotricha</i>	A	DB
KUC9033	<i>Phlebia brevispora</i>	B	DB
KUC9045	<i>Phlebia brevispora</i>	A	DB
KUC8323	<i>Phanerochaete sp.</i>	A	DB

- (A) Durée de la décoloration de l'eau de vaisselle complète ; A, 5 jours ; B, 6 à 10 jours ; C, 11 à 15 jours ; D, 16 à 20 jours ; et E plus de 21 jours.
- (B) Les colonnes de réaction de l'acide gallique indiquent : DB, brun foncé ; BR, brun ; YB, brun jaunâtre ; et YE, forme quinonique jaune ou brune.

Selon Daassi *et al.*, (2015) L'activité ligninolytique des 31 champignons producteurs de laccase a été confirmée par leur capacité à oxyder le colorant industriel commerciaux (RBBR).

Au cours du criblage des champignons sur le gaïacol fait par Batista-García *et al.*, (2017), seulement 3 (25%) des souches de basidiomycètes (*P. dryinus*, *T. hirsuta* et *P.*

ostreatus) ont généré la forme colorée brun rougeâtre dans l'agar, ce qui indique l'oxydation du gaïacol.

Dans le travail de Daassi *et al.*, (2015) 51 souches testées, 31 ont présenté une activité significative d'oxydation du gaïacol exprimée au cours de la première semaine d'incubation. La plupart des basidiomycètes étaient capables de produire de la laccase et parmi eux les représentants des genres *Trametes*, *Phanerochaete*, *Ganoderma*, *Bjerkandera*, et *Porostereum* ont été classés comme les meilleurs producteurs.

Les champignons basidiomycètes de la pourriture blanche sont les organismes de dégradation de la lignine les plus efficaces dans la nature.

L'objectif de cette étude (Lee *et al.*, 2014) était de développer une procédure pour sélectionner des isolats fongiques souhaitables qui présentent une excellente dégradation des HAP pour des applications biotechnologiques. Dans l'essai de décoloration du colorant RBBR en milieu solide, 107 isolats fongiques ont décoloré le plat complet en dix jours, appartenant aux groupes A et B. Les taux de croissance des isolats fongiques ont été significativement corrélés avec le nombre de jours nécessaires à la décoloration complète. De nombreuses études ont sélectionné des isolats fongiques souhaitables pour leur capacité à décolorer le RBBR. En effet, alors que les isolats du groupe A décolorent le RBBR plus rapidement que les autres groupes en raison de leur taux de croissance, ils n'ont pas montré de signes de décoloration. de croissance, ils n'ont pas montré une plus grande tolérance que les champignons des autres groupes. Cela signifie que la capacité des isolats à décolorer le RBBR n'est pas une caractéristique très utile pour sélectionner les champignons désirables pour la dégradation des HAP. Le test de l'acide gallique dans la même référence a été réalisé pour confirmer que les champignons produisent et sécrètent les trois enzymes ligninolytiques, LiP, MnP, et laccase. Les résultats de la réaction à l'acide gallique n'ont pas toujours correspondu aux résultats d'un test de décoloration RBBR, pourtant tous sauf six isolats montrant une réaction positive à l'acide gallique de couleur brun foncé ont rapidement décoloré le RBBR en dix jours. Et parmi les isolats fongiques testés 77,3 % ne présentaient pas de couleur brune positive dans le test de réaction à l'acide gallique. Ce résultat permet de conclure que les réactions positives au RBBR et à l'acide gallique ne sont pas nécessairement corrélées.

Le test de réaction à l'acide gallique pourrait être une meilleure méthode pour sélectionner les champignons pour la dégradation des xénobiotiques Le test de l'acide

gallique doit être effectué en priorité par rapport aux autres tests pour la procédure de biorémédiation.

Selon Batista-García *et al.*, (2017) Le gaïacol est un produit naturel phénolique qui a été isolé pour la première fois de l'oxydation de la lignine, il est couramment utilisé dans les régimes de criblage pour l'identification des champignons ayant une activité phénol oxydase, car lors de l'oxydation, il devient brun jaunâtre ou brun rougeâtre et dans les résultats réalisés par la même référence lors de criblage des champignons seulement 25% des souches oxydées le gaïacol.

Selon les résultats de Les recherches de Xu, (2015) ont suggéré que le gaïacol était oxydé par les champignons de pourriture blanche bien avant que les colorants ne soient décolorés, ce qui démontre qu'il est plus efficace d'utiliser le gaïacol comme indicateur pour le criblage des champignons ligninolytiques de la pourriture blanche.

Lee *et al.*, (2014) et Batista-García *et al.*, (2017) par son études sur le criblage des champignons filamenteux indiquent que ces champignons filamenteux sont capable de produire et libère des enzymes extracellulaires qui ont la capacité de dégradé des xénobiotiques et molécules phénoliques et non phénoliques.

5.5. Production et purification des enzymes

Dans le travail de Arora et Gill, (2014) le *Phlebia floridensis* a produit les trois enzymes, laccase, lignine peroxydase et manganèse peroxydase. Le taux de production était maximal pour peroxydase de manganèse, qui a donné un maximum sur le quatrième jour, a diminué par la suite et a complètement cessé le 10e jour. La production de lignine peroxydase a commencé à un rythme uniforme mais a augmenté brusquement au jour 8 et a atteint un pic au jour 14 ces résultats présentés dans la figure.4.

La production de laccase s'est déroulée à un rythme progressif atteignant un niveau maximal le huitième jour, a diminué par la suite et a présenté un second pic le jour 20. La production maximale de la biomasse production de biomasse a eu lieu le jour 8 ces résultats présentés dans la figure.5.

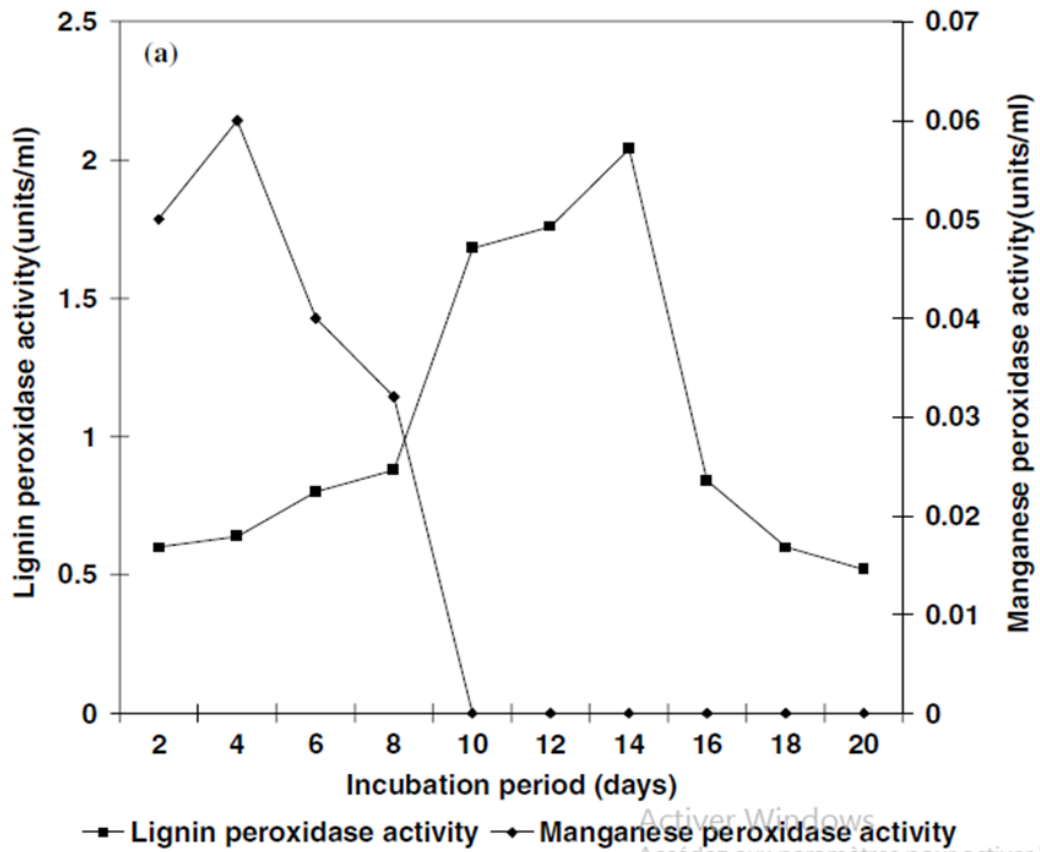


Figure 4. Effet de la période d'incubation sur la production de lignine peroxydase et de manganèse peroxydase. (Arora et Gill, 2014).

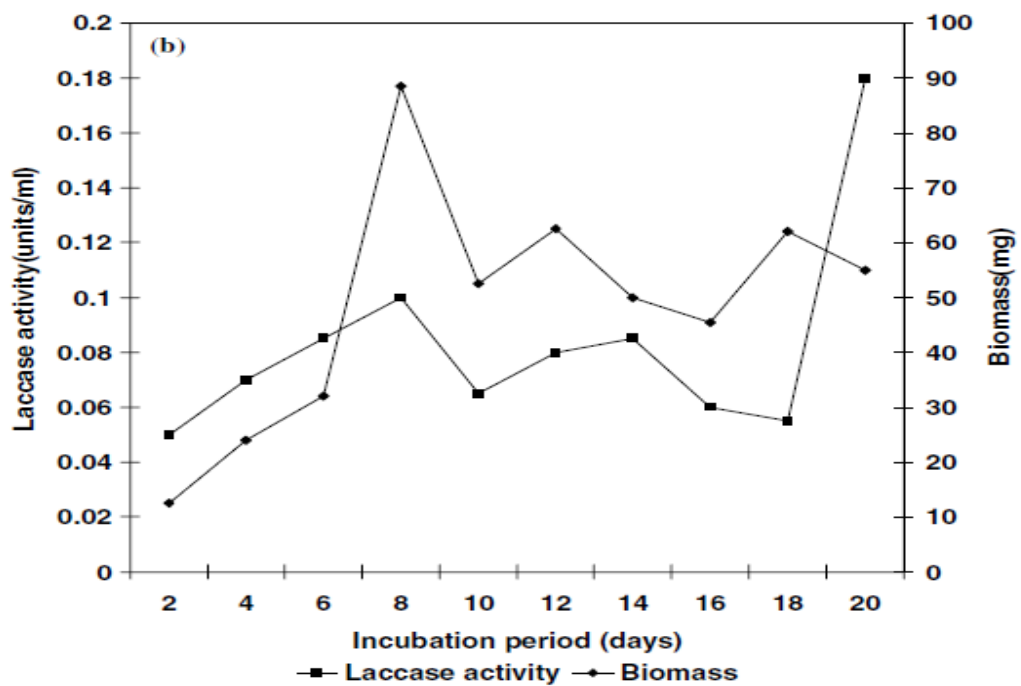


Figure 5. Effet de la période de l'incubation sur la production de laccase et de la biomasse (Arora et Gill, 2014).

L'étude des enzymes ligninolytiques d'un large éventail de champignons de la pourriture blanche suscite un intérêt croissant, non seulement du point de vue de la biologie comparative mais aussi dans l'espoir de trouver de meilleurs producteurs d'enzymes pour diverses applications biotechnologiques. Arora et Gill, (2014) ont été démontrés que *P. floridensis* est capable de produire les trois principales enzymes ligninolytiques, Des études temporelles sur le profil de production de ces enzymes ont révélé que des activités enzymatiques spécifiques élevées sont associées à *P. floridensis*, ce qui prouve son intérêt pour la purification à grande échelle de ces protéines.

Dans le travail du Batista-García *et al.*, (2017) Lac ainsi que les activités LiP et MnP ont été testées dans les douze souches fongiques cultivées. La production de Lac à des niveaux variés a été observée chez tous les champignons étudiés, tandis que la production de la peroxydase est moyenne. Selon Batista-García *et al.*, (2017) et Arora et Gill, (2014) Les champignons de la pourriture blanche et les basidiomycètes sont le plus efficace pour produire les enzymes ligninolytiques.

Conclusion

Conclusion

Dans le cadre de la préparation de cette mémoire qui est une synthèse des articles scientifiques, avec l'objectif de montrer la capacité des enzymes ligninolytiques fongique dans la bioremédiation.

La dégradation d'une large gamme de polluants par des micro-organismes est l'une des voies étudiées pour le développement et l'amélioration des procédés à long terme. Les champignons sont bien connus pour leur capacité à produire une large gamme d'enzymes extracellulaires, ainsi qu'à s'adapter à des environnements parfois difficiles. Ils ont attiré l'attention des chercheurs en biotechnologie et de l'industrie en raison de leur capacité à dégrader ou à oxyder les micropolluants présents dans l'environnement, grâce à l'action d'enzymes extracellulaires. Dans ce contexte, le développement de nouvelles activités enzymatiques adaptées aux conditions extrêmes est devenu critique pour le succès de nouveaux procédés de bioremédiation des polluants.

La sécrétion de ligninases augmente significativement en présence de lignine selon les études sur les champignons filamenteux dégradent la lignine. En effet, en présence de lignine, les champignons filamenteux sécrètent certaines enzymes dans leur environnement pour la dégradation de ce composé comme source de carbone et d'énergie ces enzymes est laccase et les peroxydases.

Depuis la découverte de ces enzymes dans les champignons de la pourriture blanche, l'utilisation des laccases et les peroxydases pour des applications biotechnologiques a suscité un fort intérêt.

Bibliographie

Bibliographie

1. Abatenh E, Gizaw B, Tsegaye Z, Wassie M (2017) The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review. *Open J Environ Biol* 2(1): pp. 038-046.
2. Abdullah, S. K. et Al-Bader, S. M. (1990). On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of Iraqi soils. *Sydowia*, vol 42, pp. 1-7.
3. Adenipekun C.O., Ipeaiyeda A.R., Egbewale S.O. (2014). Mycoremediation of spent and fresh cutting fluids polluted soil with a white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*(Jacq)Fr.Kumm.. *Nigerian journal of Mycology* vol 6:pp. 144-159.
4. Al-Enazi, N. M., Awaad, A. S., Al-Othman, M. R., Al-Anazi, N. K., Alqasoumi, S. I. (2017). Isolation, identification and anti-candidal activity of filamentous fungi from Saudi Arabia soil. *Saudi pharmaceutical journal: SPJ: the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 26(2): pp. 253–257.
5. Ali I., Kanhayuwa L., Rachdawong S., Rakshit S. K. (2013). Identification, phylogenetic analysis and characterization of obligate halophilic fungi isolated from a man-made solar saltern in Phetchaburi province, Thailand. *Annals of Microbiology* 63(3):pp. 887-895.
6. Alsohaili, S.A., et Bani-Hasan, B.M.(2018). Morphological and Molecular Identification of Fungi Isolated from Different Environmental Sources in the Northern Eastern Desert of Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 11(3): pp. 329 – 337.
7. Anastasi, A., Tigini, V., Varese, G.C. (2013). The Bioremediation Potential of Different Ecophysiological Groups of Fungi. In: Goltapeh, E., Danesh, Y., Varma, A. (eds) *Fungi as Bioremediators. Soil Biology*, vol 32. Springer, Berlin, Heidelberg.
8. Arakaki, R. L., Monteiro, D. A., Boscolo, M., Dasilva, R., Gomes, E. (2013). Halotolerance, ligninase production and herbicide degradation ability of basidiomycetes strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4), 1207-1214.
9. Arora, D.S., Gill, P.K. (2005). Production of Ligninolytic Enzymes by *Phlebia Floridensis*. *World J Microbiol Biotechnol* vol 21:pp. 1021–1028.
10. Atlas, R. M. & Bartha, R. (1981). *Microbial Ecology, Fundamentals and Applications*. Reading, MA: Addison-Wesley, 560 pp.

11. Azubuike, C. C., Chikere, C. B., Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World journal of microbiology & biotechnology* 32(11): 180 p.
12. Batista-García R. A., Kumar V. V., Ariste A., Tovar-Herrera O. E., Savary O., Peidro-Guzmán H., Cabana H. (2017). Simple screening protocol for identification of potential mycoremediation tools for the elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons and phenols from hyperalkalophile industrial effluents. *Journal of Environmental Management* vol 198:pp.1-11.
13. BEN ALI Wessal . (2021). Criblage de la diversité fongique marine visant à identifier de nouvelles oxydases pour les biotechnologies et le développement durable. Thèse du doctorat. Ecole doctorale Science de la vie et de la santé – Aix Marseille. Ecole doctorale de Sciences Fondamentale – Sfax. pp. 194.
14. Bogan B.W., Lamar R.T., Burgos W.D. et Tien M. (1999). Extent of humification of anthracene, fluoranthene and benzo (a) pyrene by *Phanerochaete chrysosporium* during growth in PAH-contaminated soils. *Lett. in Appl. Microbiol* vol 28:pp. 250-254.
15. Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. and Veau P.(1999). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. pp. 12-426.
16. Boukhatem K., Djerourou D. (2019). Isolement des bactéries telluriques à potentiel de la biodégradation des hydrocarbures. Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 94p.
17. Bronicka, M., Raman, A., Hodgkins, D., Nicol, H. (2007). Abundance and diversity of fungi in a saline soil in central-west New South Wales, Australia. *Sydowia*, 59(1), pp.7-24.
18. Butinar, L., Santos, S., Spencer-Martins, I., Oren, A., Gunde-Cimerman, N. (2005). Yeast diversity in hypersaline habitats. *FEMS microbiology letters*, 244(2) : pp. 229–234.
19. Caliskan Ozdemir, Sennur & Uzel, Atac. (2020). Bioprospecting of hot springs and compost in West Anatolia regarding phytase producing thermophilic fungi..

20. Cantrell, S. A., Casillas-Martinez, L., & Molina, M. (2006). Characterization of fungi from hypersaline environments of solar salterns using morphological and molecular techniques. *Mycological research*, 110(8), pp. 962-970.
21. Carlile, M.J., Watkinson, S.C., Gow, N.A. (1994). *The Fungi. Trends in Microbiology*, 2(12), pp. 500.
22. Cavalier-Smith, T., (2004). Only six kingdoms of life. *P Roy Soc B-Biol Sci* 271, pp 1251–1262.
23. Coleri A., Cokmus C., Ozcan B., Akkoc N., Akcelik M. (2009). Isolations of α -glucosidase-producing thermophilic bacilli from hot springs of Turkey. *Microbiology* vol 78: pp.56–66.
24. Cozzolino, D., et Moren, A. (2003). The potential of near-infrared reflectance spectroscopy to analyse soil chemical and physical characteristics. *The Journal of Agricultural Science* 140(1): pp.65-71.
25. Cullen, D. Kersten, P.J. (2004). *Enzymology and Molecular Biology of Lignin Degradation, The Mycota III Biochemistry and Molecular Biology*, 2nd Edition R. Brambl and G.A. Marzluf (Eds.).Springer-Verlag Berlin-Heidelberg.
26. Daâssi, D., Zouari-Mechichi, H., Belbahri, L., Barriuso, J., Martínez, M. J., Nasri, M., Mechichi, T. (2016). Phylogenetic and metabolic diversity of Tunisian forest wood-degrading fungi: a wealth of novelties and opportunities for biotechnology. *3 Biotech*, 6(1): pp.1-16.
27. Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T. A., Qin, W. (2010). Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International journal of biochemistry and molecular biology* 1(1):pp. 36–50.
28. DasSarma, S. (2001). Halophiles. *Encyclopedia of Life Sciences*. pp. 1-9.
29. Davet P., Rouxel F. (2000). *Detection and isolation of soil fungi*. Editions Quae : 188pp.
30. De la Cueva, S.C., Rodríguez, C.H., Cruz, N.O.S., Contreras, J.A.R., Miranda, J.L. (2016). Changes in Bacterial Populations During Bioremediation of Soil Contaminated with Petroleum Hydrocarbons. *Water Air Soil Pollut* vol 227: 91pp.

31. Demirjian, D. C., Morís-Varas, F., & Cassidy, C. S. (2001). Enzymes from extremophiles. *Current opinion in chemical biology* 5(2):pp. 144–151.
32. Deshmukh, R., Khardenavis, A. A., & Purohit, H. J. (2016). Diverse Metabolic Capacities of Fungi for Bioremediation. *Indian journal of microbiology* 56(3):pp. 247–264.
33. Duponnois, R., Ramanankierana, H., Hafidi, M., Baohanta, R., Baudoin, É., Thioulouse, J., Sanguin, H., Bâ, A., Galiana, A., Bally, R., Lebrun, M., Prin, Y. (2013). Des ressources végétales endémiques pour optimiser durablement les opérations de réhabilitation du couvert forestier en milieu méditerranéen et tropical : exemple des plantes facilitatrices vectrices de propagation des champignons *mycorhiziens*. *Comptes Rendus Biologies*, 336(5-6), pp. 265-272.
34. Eggen.T., Majcherczyk.A. (1998). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*, *International Biodeterioration & Biodegradation* 41(2): pp. 111-117.
35. El Fantroussi S., Agathos S.N. (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation?, *Current Opinion in Microbiology* 8 (3): pp. 268-275.
36. Evans, S., Hansen, R. W., Schneegurt, M. A. (2013). Isolation and Characterization of Halotolerant Soil Fungi from the Great Salt Plains of Oklahoma. *Cryptogamie. Mycologie*, 34(4): pp. 329–341.
37. Goltapeh E. M., Danesh Y. R., Varma A. (2013). Fungi as Bioremediators. *Soil Biology*, Springer Berlin Heidelberg vol 32: pp.1-482.
38. Guenet, B. Leloup, J. Hartmann, C. Barot, S. Abbadie,L .(2011). A new protocol for an artificial soil to analyse soil microbiological processes. *Applied Soil Ecology* vol 48:pp. 243–246.
39. Gueye I. (2013). Application de la télédétection aérospatiale pour l'évolution de la dégradation des ressources naturelles : cas des sols de la région de Kaolack située dans le bassin arachidier du Sénégal. Université Cheikh Anta DIOP de Dakar.
40. Haemmerl.S.D., Leisola. M.S.A., Sangla. D., Fiechter. A. (1986).Oxidation of benzo(a)pyrene by extracellular ligninases of *Phanerochaete chrysosporium*. *Veratryl alcohol and stability of ligninase.*, *Journal of Biological Chemistry* 261(15): 261pp.

41. Horikoshi K. 1999. Alkaliphiles: Some applications of their products for biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* ; vol. 63, pp. 735-750.
42. Ismail, M.A., Mohamed A. Ramadan., Al-Bedak O.A., Moubasher, A.H. (2017). EXTREMOPHILIC FUNGI AND CHEMICAL ANALYSIS OF HYPERSALINE, ALKALINE LAKES OF WADI-EL-NATRUN, EGYPT. *International Journal of Technical Research & Science*. Vol 345. pp.2454-2024.
43. Jennings, D.H., Lysek, G. (1996). *Fungal biology: understanding the fungal lifestyle*. (Bios Scientific publishers Eds).
44. Karigar, C. S., et Rao, S. S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. *Enzyme research*. Vol 2011:11pp.
45. Kristjansson. J. K. et Hreggvidsson. G.O. (1995). This Ecology and habitats of extremophiles. *World Journal of Microbiology 6 Biotechnology*. Vol II. 1995. pp. 1-9.
46. Kulshreshtha, S., Mathur, N. & Bhatnagar, P. (2014). Mushroom as a product and their role in mycoremediation 4(29).
47. Kumar, A. Chandra, R. (2020). Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment, *Heliyon*, Vol 6.
48. Lamrani K., Ismaili-Alaoui M., Cheheb M., Kammas N., Iraqi-Houssaini L., Hassouni H., Sevastianos R. (2006). Distribution écologique des champignons filamenteux thermophiles isolés à partir des principales Maâsra du Maroc. *Biotechnologies et qualité des produits de l'olivier dans le bassin méditerranéen* pp.293-306.
49. Lee H., Jang Y., Choi Y.-S., Kim M.-J., Lee J., Lee H., Kim J.-J. (2014). Biotechnological procedures to select white rot fungi for the degradation of PAHs. *Journal of Microbiological Methods* 97:pp.56-62.
50. Lee J. Y., Hwang B. K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can. J. Microbiol.* 48:pp. 407-417.
51. Leung M. (2004). Bioremediation: techniques for cleaning up a mess, *Journal of Biotechnology*, vol 2: pp. 18-22.
52. Lo Presti, L., Lanver, D., Schweizer, G., Tanaka, S., Liang, L., Tollot, M., Zuccaro, A., Reissmann, S., Kahmann, R. (2015). Fungal Effectors and Plant Susceptibility. *Annual Review of Plant Biology*, 66(1), pp.513–545.

-
53. Lutzoni, F., Kauff, F., Cox, C.J., McLaughlin, D., Celio, G., Dentinger, B., Grube, M. (2004). Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *American journal of botany*, 91(10), pp.1446-1480.
54. Marouf A. et Reynaud J. (2007). *La botanique de A à Z*. Edition : Paris. 342 pp.
55. Mayans B, Camacho-Arévalo R, García-Delgado C, Alcántara C, Nägele N, Antón-Herrero R, Escolástico C, Eymar E. (2021). Mycoremediation of Soils Polluted with Trichloroethylene: First Evidence of *Pleurotus Genus* Effectiveness. *Applied Sciences*. 11(4): 1354pp.
56. McLaughlin, D. J., Hibbett, D. S., Lutzoni, F., Spatafora, J. W., Vilgalys, R. (2009). The search for the fungal tree of life. *Trends in microbiology*, 17(11), pp. 488–497.
57. Meddich, A., Hafidi, M., Ait El Mokhtar, M., Boumezzough, A. (2015). Characterization of physicochemical parameters and mycorrhizal potential of salt soils of North-east date palm grove of Marrakesh/ Caractérisation des paramètres physicochimiques et des potentialités mycorrhizogènes des sols salés de la palmeraie Nord-est de Marrakech. *Journal of Materials and Environmental Science*. 6 (9):pp. 2469-2475.
58. Morozkina E.V., Slutskaia E.S., Fedorova T.V., Tugay T.I., Golubeva L.I. and Koroleva O.V. (2010). Extremophilic microorganisms: Biochemical adaptation andbiotechnological application. *Applied Biochemistry and Microbiology*. Vol .46; pp. 1-14.
59. Mougin C., Chaplain V., Rama-Mercier R., Sohier L., Sigoillot J. C., Asther M. (1996). Utilisation de champignons filamenteux pour la dépollution de sols pollués par des polluants organiques. *Déchets, sciences et techniques* vol 4:pp.20-22.
60. Mtibba R. (2019). Isolement et étude de souches fongiques thermotolérantes productrices de laccases à partir de sols des régions arides du sud Tunisien : Essais d'application en bioremédiation. Thèse du doctorat. L'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax. pp. 176.
61. Mueller, G.M., Schmit, J.P. (2007). Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. *Biodivers Conserv* 16, pp.1–5.
62. Nigam P. S. (2013). Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules* 3(3):pp. 597–611.

-
63. Nigg, M., Bernier, L. (2017). Large-scale genomic analyses of in vitro yeast-mycelium dimorphism in human, insect and plant pathogenic fungi: From ESTs to RNAseq experiments. *Fungal biology reviews*, 31(3), pp.131-142.
64. Oarga, A. (2009). Life in extreme environments. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 9(1), pp.1-10.
65. Paliwal (2012). *Microbial Ligninolysis: Avenue for Natural Ecosystem Management*. - Scientific Figure on ResearchGate.
66. Powers-Fletcher, M. V., Kendall, B. A., Griffin, A. T., Hanson, K. E. (2016). Filamentous fungi. *Microbiology Spectrum*, 4(3), pp. 4-3.
67. Raja, M., G. Praveena and John William, S. (2017). Isolation and Identification of Fungi from Soil in Loyola College Campus, Chennai, India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 6(2): pp.1789-1795.
68. Saha L., Tiwari J., Bauddh K., Ma Y. (2021). Recent Developments in Microbe–Plant-Based Bioremediation for Tackling Heavy Metal-Polluted Soils. *Frontiers in Microbiology* vol 12: pp. 1664-302.
69. Sharma, I. (2020). Bioremediation Techniques for Polluted Environment: Concept, Advantages, Limitations, and Prospects, in M. A. Murillo-Tovar, H. Saldarriaga-Noreña, A. Saeid (eds.), *Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances*, IntechOpen, London. 10.5772/intechopen.90453.
70. Shraddha, R.S., Sehgal, S., Kamthania, M. and Kumar, A. (2011) Laccase: Microbial Sources, Production, Purification, and Potential Biotechnological Applications. *Enzyme Research* vol 2011: 11pp.
71. Singh R., Singh P., Sharma R. (2014). Microorganism as a tool of bioremediation technology for cleaning environment: A review. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences* 4(1): pp. 1-6.
72. Sommers, L. E., Gilmore, C. M., Wildung, R. E. & Beck, S. M. (1981). The effect of water potential on decomposition processes in soils. In *Water Potential Relations in Soil Microbiology*, SSSA Special Publication No. 9, Madison, WI: Soil Science Society of America. pp. 97-117.

73. Verdin, Anthony & Lounès-Hadj Sahraoui, Anissa & Durand, Roger. (2004). Degradation of benzo[a]pyrene by mitosporic fungi and extracellular oxidative enzymes. *International Biodeterioration & Biodegradation* vol 53:pp. 65-70.
74. Vidali, M. (2001). Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry* 73(7):pp. 1163-1172.
75. Viswanath B., Rajesh B., Janardhan A., Kumar A. P., Narasimha G. (2014). "Fungal Laccases and Their Applications in Bioremediation", *Enzyme Research*, vol. 2014:21pp.
76. Xu, C., Singh, D., Dorgan, K. M., Zhang, X., & Chen, S. (2015). Screening of ligninolytic fungi for biological pretreatment of lignocellulosic biomass. *Canadian journal of microbiology*, 61(10), pp. 745–752.
77. Zaiad G. M. (2010). Physico-Chemical Analysis of Soils in Al-Khums city, Libya. *Journal of Applied Sciences Research* 6(8):pp. 1040-1044.

الملخص

إن تحويل وإزالة السمية من الملوثات العضوية المقاومة بواسطة فطريات التربة هو هدف للعديد من الأعمال العلمية؛ هذه الفطريات عوامل فعالة في العلاج الحيوي بسبب إنزيماتها. وفي هذا السياق، تعد هذه الدراسة تحليلاً لأبحاث علمية عن تحلل الليغنين بواسطة أنزيمات الفطريات الخيطية التي تعيش في ظروف قصوى، حيث تم عزل هذه سلالات الفطرية من مناطق التربة القاحلة و التعرف عليها بمعايير مجهرية وبالتحديد الجزيئي لتسلسلاتها. ولاكتشاف الليجنينات أستخدم الباحثون اختبار تغير اللون RBBR واختبار حمض الغاليك واختبار جواياكول. تنتج نتائج تحديد العناصر المعزولة تحديد أنواع عديدة من الفطريات . وتشير نتائج الاختبارات الإنزيمية الأكسدة الإنزيمية للجنين ، وتؤكد هذا الأكسدة أن الفطريات الخيطية قادرة على تحليل و تفكيك الليجنين بواسطة أنزيمات الليجنناز التي هي اللاكاز والبروكسيداز.

الكلمات المفتاحية: فطريات خيطية، معالجة حيوية، إنزيمات الليغنينوليت، تربة، ليجنين

Résumé

La transformation et la détoxification des polluants organiques récalcitrants par les champignons du sol font l'objectif de plusieurs travaux scientifiques, ces champignons est des agents puissant dans la bioremédiation à cause de leur enzymes. Dans ce contexte, cette étude qui est une analyse des recherches scientifiques sur la dégradation de lignine par les enzymes des champignons filamenteux extrêmophiles ces travaux ont été isolés des souches fongiques à partir des régions de sols arides et identifiées par les critères macroscopiques, microscopiques et par l'identification moléculaire des séquences ITS. Pour la détection des ligninases les chercheurs utilisés le test de décoloration RBBR, le teste de l'acide gallique et le gäiacol. Les résultats de l'identification des isolats permettent de déterminer plusieurs souches des champignons. Les résultats des tests enzymatiques réaliser indique l'oxydation enzymatique de la lignine cet oxydation confirme que les champignons filamenteux capables de dégradés la lignine par les enzymes ligninases qui sont laccase et les peroxydases.

Mots clés : champignons filamenteux, bioremédiation, enzymes ligninolytiques, le sol, lignine.

Abstract

The transformation and detoxification of recalcitrant organic pollutants by soil fungi are the objective of several scientific works; these fungi are potent agents in bioremediation due to their enzymes. In this context, this study which is an analysis of scientific researches on lignin degradation by enzymes of extremophilic filamentous fungi these works have been isolated fungal strains from arid soil regions and identified by macroscopic, microscopic criteria and by molecular identification of ITS sequences. For the detection of ligninases the researchers used the RBBR staining test, the gallic acid test and the guaiacol test. The results of the identification of the isolates allow determining several species of fungi. The results of the enzymatic tests carried out indicate the enzymatic oxidation of lignin, this oxidation confirms that the filamentous fungi capable of degrading lignin by the ligninase enzymes which are laccase and peroxidases.

Keywords: filamentous fungi, bioremediation, ligninolytic enzymes, soil, lignin

