

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique**

**Université Abderrahmane MIRA de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE**

## *Mémoire de Fin de Cycle*

**En vue de l'obtention du Diplôme d'ingénieur d'Etat  
En  
« Génie Biologique »**

### *Thème*

**Etude de la croissance et la production des  
cellulases par *Bjerkandera sp.* sur le son et la  
paille de blé**

*Présenté par :*

**M<sup>elle</sup> BENKERROU Fadia  
M<sup>elle</sup> HAMAILI Kassia**

**Membres de jury :**

**Présidente : M<sup>elle</sup> LAINCER F.  
Promotrice : M<sup>elle</sup> BELHAMICHE N.  
Examineur : Mr CHIKHOUNE A.**

*Promotion 2011/ 2012*

# Remerciements

*A l'issue de ce travail, nous tenons à remercier en premier lieu le bon Dieu de nous avoir aidés afin de réaliser ce modeste travail.*

*C'est avec joie que nous profitons de cette occasion pour remercier notre promotrice M<sup>elle</sup>. BELHAMICHE Nabila de nous avoir encadré, pour ses conseils, sa grande disponibilité, son sérieux dans le travail et sa patience lors de la rédaction de notre mémoire.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement les membres du jury, à savoir: M<sup>elle</sup>. LAINCER F. pour nous avoir consacré son temps en nous faisant l'honneur d'accepter de présider le jury ;*

*Mr. CHIKHOUNE A. pour nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.*

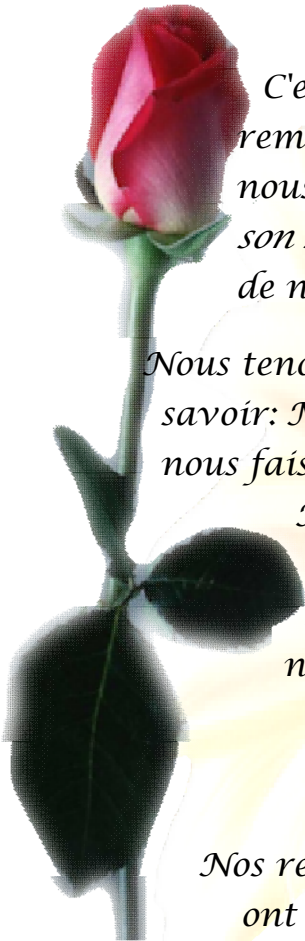
*Nous tenons à remercier vivement Mr. BENALLAOUA de nous avoir accueilli au sein de son laboratoire, sans oublier de remercier les ingénieurs du labo Nassima, Mounia et Samira*

*Nos remerciements vont plus particulièrement à nos familles qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années.*

*Une pensée pour tous nos amis qui nous ont soutenus au cours de ces années.*

*Enfin, nous remercions à travers ce travail tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire de fin de cycle.*

*Merci*



# Dédicaces

*Je tiens sincèrement à dédier ce modeste travail :*

*A mes très chers parents : Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.*

*Vous êtes mes exemples de la réussite pour votre soutien, vos sacrifices, vos encouragements, et amour ; Que Dieu vous protèges*

❧ *A ma grand mère Taous et à la mémoire de ma grande mère Eldjida que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.*

❧ *A mes frères et leurs femmes*

❧ *A ma sœur Wassila et sa famille*

❧ *A mes sœurs : Ghania et Salwa*

❧ *A nos chers petits : Milissa, Djidji et Rayane*

❧ *A mes tantes et leurs familles*

❧ *A ma chère binôme Kassia et sa famille*

❧ *A ma chère amie Adada et son mari Sofiane*

❧ *A mes chères amies : Nassima, Zakia, Kaïssa, Rosa, Nadjia, Souad, et Warda,*

❧ *A mes copines de chambre : Amel Nadira Wnissa*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*Fadia*



# Dédicaces

*A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, la plus belle à mes yeux, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montré affection et compréhension à mon égard, ma mère que j'aime.*

*A la mémoire de l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie, à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances et pour lequel je ne cesse de verser mes larmes, mon père que j'aime.  
Très cher père, j'aurais aimé que tu sois aujourd'hui un témoignage de ma reconnaissance pour ton sacrifice.*

*A tous mes frères, mes charmantes sœurs Zahwa et Djamila et leurs familles surtout nos petits Yanis, Lina et Nina qui m'ont donné joie, bonheur et amour.  
et toute ma famille dont le soutien et les encouragements m'ont été salutaires.*

*A celui que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma vie, à mon fidèle et meilleur ami : Sami et sa famille.*

*Mes dédicaces ne seront pas complètes sans citer mes amies: Aïda, Nassima, Cherifa, Luiza, Fikousse et mes copines de chambres Horia, Fazia, Dalila...*

*A ma binôme Fadja et toute sa famille.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*Kassia*



# Liste des abréviations

- B.S.A: Bovin Serum Albumin.
- CMC: Carboxyméthyl cellulose.
- APF: Activité papier filtre
- CMCase: Carboxyméthyl cellulose.
- D.N.S.: 3,5- dinitrosalicylique acid.
- D.P. : Degré de polymérisation.
- E.C. : Enzyme commission.
- UI : Unité internationale.
- MS : Matière sèche.
- DM : Dry matter

## Liste des figures

Figures	Titre	Pages
Figure 1	Structure de la cellulose	3
Figure 2	Arrangement cristallin des chaînes d'une microfibrille de cellulose	4
Figure 3	Structure supramoléculaire de la cellulose	5
Figure 4	Structure chimique de la carboxyméthylcellulose (CMC)	6
Figure 5	Schéma général de la dégradation de la cellulose	9
Figure 6	Les différentes observations de la souche <i>Bjerkandera sp</i>	24
Figure 7	Culture de <i>Bjerkandera sp</i> sur les substrats solides	25
Figure 8	Evolution de la matière sèche au cours de la fermentation	26
Figure 9	Evolution de pH du milieu au cours de la fermentation	27
Figure 10	Evolution de la concentration des protéines totales au cours de la fermentation	29
Figure 10	Evolution des activités CMCcase et APF au cours de la fermentation	30

## Liste des figures en annexes

Figures	Titre	Annexes
Figure 1	Courbe d'étalonnage de B.S.A	III
Figure 2	Courbe d'étalonnage de glucose (10g/l)	IV
Figure 3	Courbe d'étalonnage de glucose (2g/l)	IV

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Pages
Tableau I	Les principaux groupes de micro-organismes impliqués dans la fermentation solide	16
Tableau II	Composition biochimique de son de blé	18
Tableau III	Composition biochimique de la paille de blé	19

## Liste des tableaux en annexes

Tableau	Titre	Annexes
Tableau I	Inventaire des principales fibres disponibles a L'échelle mondiale	I
Tableau II	Principaux substituant des dérivés commerciaux de la cellulose	I
Tableau III	Matériel analytique utilisé	II

# *Sommaire*



# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"><b>Revue bibliographique</b></div>	
<b>I. La cellulose</b> .....	3
1. L'origine de la cellulose.....	3
2. La structure de cellulose.....	3
2.1. La structure moléculaire.....	3
2.2. La structure supramoléculaire.....	4
3. Les dérivés de la cellulose.....	5
3.1. Les esters de cellulose.....	5
3.2. Les éthers de cellulose.....	5
4. La sensibilité de la cellulose au traitement enzymatique.....	6
<b>II. Les cellulases</b> .....	7
1. La définition.....	7
2. Les sources des cellulases.....	7
3. La classification des cellulases.....	8
3.1. L'endo- $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4) glucanase (Endocellulase, EG).....	8
3.2. L'exo- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) glucanase (Cellobiohydrolase, CBH).....	8
3.3. La $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 4) glucosidase ou Cellobiase.....	8
4. Le Mécanisme d'action des cellulases.....	9
5. Les applications des cellulases.....	10
<b>III. Les micro-organismes cellulolytiques</b> .....	11
1. Les bactéries.....	11
2. Les champignons.....	12
2.1. Les levures.....	12
2.2. Les moisissures.....	12
<b>IV. La fermentation solide</b> .....	13
1. La définition.....	13
2. Les diverses étapes suivies en fermentations solides.....	13
2.1. La préparation du substrat carboné.....	14
2.2. L'inoculation et incubation du milieu de culture.....	14
2.3. L'extraction.....	14
3. Les paramètres affectant la fermentation solide.....	14
4. Les microorganismes utilisés en fermentation solide.....	15
5. Les avantages et les inconvénients de la fermentation solide.....	17
5.1 Les avantages de la fermentation solide.....	17
5.2. Les inconvénients des fermentations solides.....	17
6. Les exemples de résidus utilisés en fermentation solide.....	18
6.1. Le son de blé.....	18
6.2. La paille de blé.....	19

## Matériel & méthodes

I. Matériel.....	20
1. Matériel analytique.....	20
2. Matériel biologique.....	20
3. Les milieux de culture.....	20
II. Méthodes.....	20
1. L'étude morphologique.....	20
1.1. La macromorphologie.....	20
1.2. La micromorphologie.....	21
2. L'obtention des extraits enzymatiques bruts.....	21
2.1. La préparation des inocula.....	21
2.2. L'ensemencement des milieux.....	21
2.3. L'extraction.....	21
3. La détermination de la matière sèche (MS).....	21
4. La mesure du pH.....	22
5. L'étude des extraits enzymatiques.....	22
5.1. Le dosage des protéines totales.....	22
5.2. Le dosage des activités enzymatiques.....	22
5.2.1. L'activité papier filtre (APF).....	22
5.2.2. L'activité carboxyméthyl cellulase (CMCase).....	23

## Résultats & discussion

I. L'étude morphologique de <i>Bjerkandera sp</i> .....	24
1. La macromorphologie.....	24
2. La micromorphologie.....	24
II. La culture et la croissance de la souche.....	24
III. L'évolution de la matière sèche et de pH et de la au cours de la fermentation.....	26
1. La matière sèche .....	26
2. Le pH .....	26
IV. L'étude des extraits enzymatiques.....	28
1. L'évolution de la concentration des protéines au cours de la fermentation.....	28
2. L'activité papier filtre et CMCase de <i>Bjerkandera sp</i> .....	29
<b>Conclusion</b> .....	33
<b>Refferences bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

# *Introduction*

## Introduction

La biomasse lignocellulosique représente une des ressources renouvelables les plus abondantes sur terre (Ogier et *al.*, 1999), elle est constituée principalement de 40 à 60 % de cellulose, 15 à 30 % d'hémicellulose et 10 à 30 % de lignine. L'intérêt mondial croissant porté à la préservation de l'environnement des déchets solides induits par les différentes activités et transformations humaines, a suscité l'attention des industriels à trouver des moyens techniques pour réduire sinon valoriser ces déchets lignocellulosiques (Dekker et Lindner, 1979).

La cellulose est le matériel structural de base des parois cellulaires des végétaux. A ce titre, c'est la macromolécule la plus abondante et la plus largement synthétisée dans le monde végétal. Elle constitue une source d'énergie renouvelable pratiquement inépuisable et peu exploitée à ce jour. Cependant, l'hydrolyse de la cellulose représente une alternative nouvelle pour une plus grande utilisation rationnelle de la biomasse. Sa décomposition biologique en élément simple par les cellulases doit permettre l'amélioration à moyen terme des problèmes grave tel que : l'alimentation, l'énergie et la pollution de l'environnement (Roussous, 1987).

La biodégradation de la cellulose est essentiellement réalisée par des micro-organismes cellulolytique, particulièrement les champignons filamenteux qui participent de façon essentielle à notre environnement, ils jouent un rôle capital dans le recyclage des composés organiques et font également partie de nos habitudes alimentaires (Raimbault, 1981).

Les champignons qui produisent des cellulases sont généralement cultivés sur des substrats solides dans un environnement qui est similaire à leur environnement naturel. Le processus fermentation en milieu solide est l'un des procédés les plus impliqués en industrie vu les faibles coûts d'investissement et d'exploitation. Cela a fait une alternative intéressante pour la production de cellulases.

La bioconversion des déchets celluloses sous l'action des cellulases sont établies dans le but de les valoriser et les transformer en un mélange de sucre plus intéressants (Zermane, 2008). De plus la culture de blé est très abondante et actuellement, plus de 600 millions de tonnes de blé sont produites chaque année dans le monde. Cette grande production

induit la génération d'une énorme quantité de co-produits tel que le son et la paille de blé qui restent à mieux valoriser (Zeitoun , 2011).

L'objectif de ce travail est la production des cellulases fongiques principalement par une souche fongique *Bjerkandera sp*, isolée à partir de la litière forestière de Yakourène (Willaya de Tizi -Ouzou), par valorisation du son et de la paille de blé. A cet effet, nous avons tracer les objectifs suivants :

- ▶ Etude théorique de la biodégradation de cellulose.
- ▶ Suivi de certains paramètres des cultures de *Bjerkandera sp* tels que le pH, la matière sèche et la synthèse des protéines.
- ▶ Dosage des activités papier filtre (cellulases totales) et carboxymethyl cellulases de *Bjerkandera sp*.

*Revue  
bibliographique*

## I. La cellulose

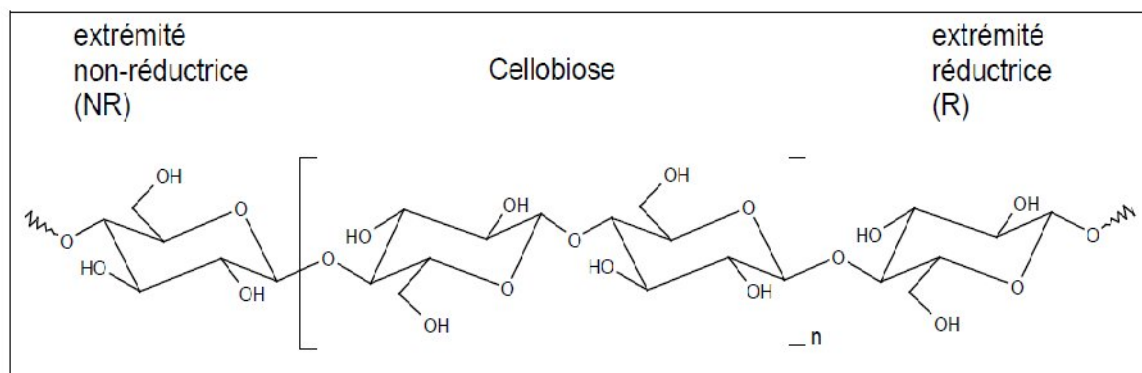
### 1. L'origine de la cellulose

La cellulose constitue la molécule organique renouvelable la plus abondante sur terre, elle représente plus de la moitié de la biomasse terrestre et constitue un réservoir de carbone sous forme organique. Selon Reguant et Rinaudo (1999), la cellulose est le polymère d'origine naturelle le plus abondant et aussi le plus intéressant technologiquement. Les fibres cellulosiques proviennent habituellement du bois, soit des feuillus soit des résineux (conifères) mais ce sont également des fibres de tiges et feuilles comme les pailles de céréales, les cannes ou les roseaux, des fibres prélibériennes comme le lin, le chanvre ou le kénaf, des fibres de feuilles comme l'abaca ou le sisal ou les fibres de graines comme le coton ou les noix de coco. Le tableau I (Annexe I) représente l'inventaire des principales fibres disponibles à l'échelle mondiale.

### 2. La structure de cellulose

#### 2.1. La structure moléculaire

La cellulose est un homo polysaccharide composé de longues chaînes de  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) -D glucose, basé sur la répétition d'unité de cellobiose (Fonty et Chaucheyras - Durand, 2007). Les unités de glucose sont en conformation chaise, la plus stable avec les groupes hydroxyle en position équatoriale. Les deux groupes OH qui se trouvent aux extrémités de la chaîne ont un comportement différent : le C-1 qui se trouve à l'une des extrémités est un groupe aldéhyde et a des propriétés réductrices tandis que le C-4 qui se trouve à l'autre extrémité de la chaîne est un groupement hydroxyle alcool et donc non-réducteur (Figure 1).



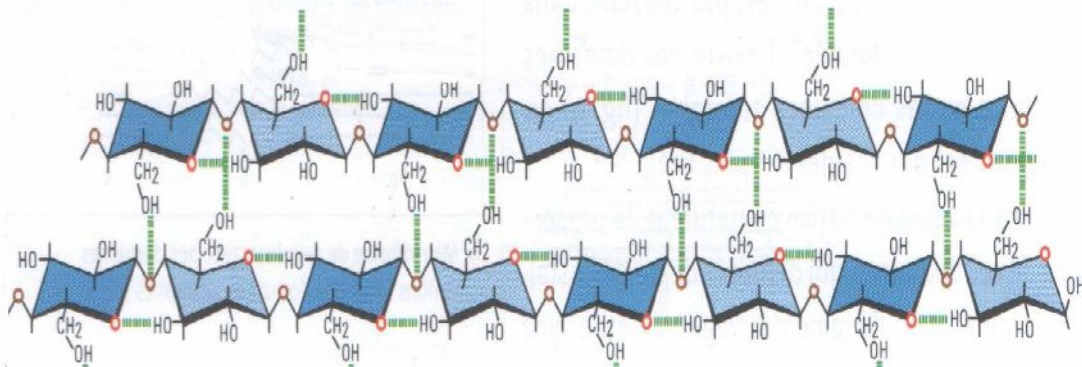
**Figure 1** : Structure de la cellulose (Mazza, 2009).

La grandeur de la chaîne moléculaire est habituellement caractérisée par le degré de polymérisation (DP). Celui-ci exprime le nombre de monomères présents dans la chaîne cellulosique (Reguant et Rinaudo, 1999).

## 2.2. La structure supramoléculaire

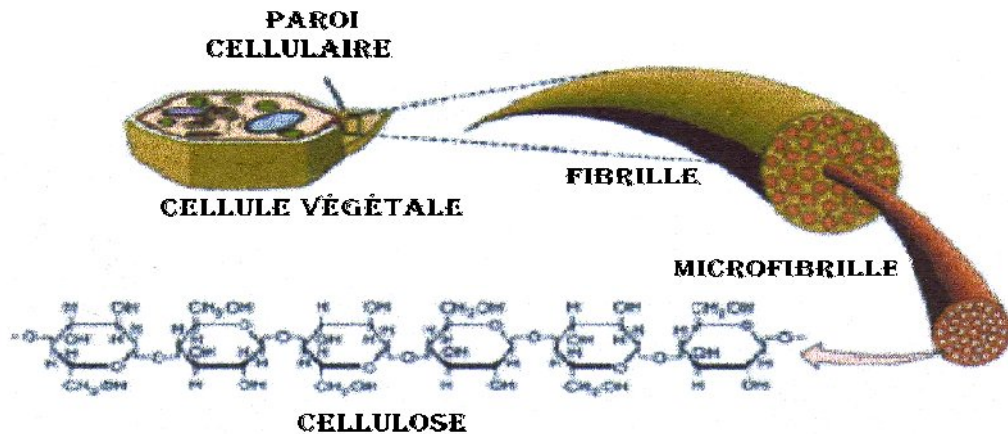
Les nombreux groupements hydroxyles sont responsables du comportement physico-chimique de la cellulose. Selon leur position dans l'unité glucose, ils sont capables de former des liaisons hydrogène intramoléculaires à l'intérieur d'une même chaîne de cellulose ou intermoléculaires entre deux chaînes différentes constituant ainsi des micro-domaines hautement organisés (figure 2).

Ces liaisons hydrogène sont responsables de la formation des microfibrilles dans lesquelles certaines régions sont hautement ordonnées (régions cristallines) et d'autres moins (régions amorphes). Les microfibrilles de cellulose sont imbriquées dans une matrice d'hémicelluloses et de lignine, le tout constituant la paroi cellulaire (figure 3) (Lekounougou, 2008).



**Figure 2 :** Arrangement cristallin des chaînes d'une microfibrille de cellulose (Res et *al.*, 2006).





**Figure 3:** Structure supramoléculaire de la cellulose (O'Dwyer, 2005).

### 3. Les dérivés de la cellulose

Parmi la grande variété des dérivés de la cellulose, on peut distinguer les deux groupes principaux en fonction du type de substituant : ce sont les dérivés esters et les dérivés éthers.

#### 3.1. Les esters de cellulose

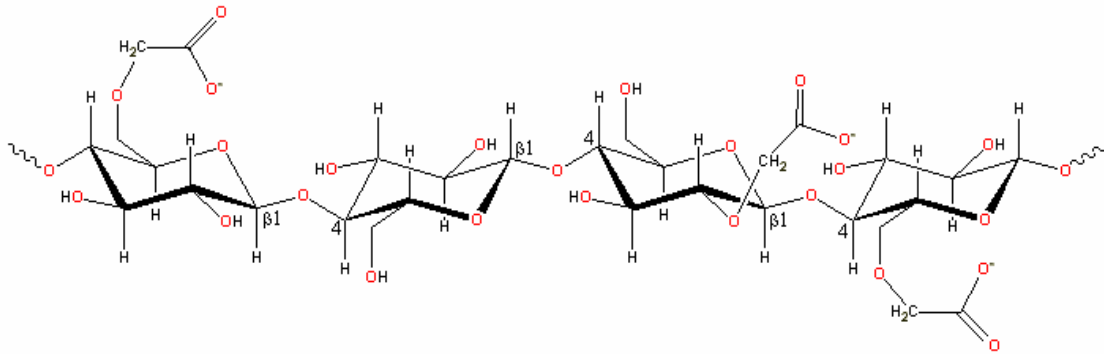
Les esters de cellulose sont formés par estérification des groupements hydroxyles libres de la cellulose au moyen d'un ou plusieurs acides (Reguant et Rinaudo, 1999).

#### 3.2. Les éthers de cellulose

Les éthers de cellulose sont obtenus par la substitution des groupements hydroxyles par des groupements éther. Ces composés, en fonction du type de substituant, peuvent être solubles dans l'eau ou les solvants organiques.

La carboxyméthyl cellulose (C.M.C.) est l'éther de cellulose dont la production est la plus importante. La réaction se produit entre l'alcali-cellulose et le chloroacétate de sodium ou l'acide chloroacétique. Selon Reguant et Rinaudo (1999), les principales propriétés de la CMC qui déterminent son utilisation ultérieure résident dans son caractère hydrophile, sa forte viscosité en solution aqueuse (épaississant), ses bonnes propriétés à

former des films, son excellent comportement comme colloïde et adhésif. La structure chimique de la CMC est illustrée dans la figure 4.



**Figure 4** : Structure chimique de la carboxyméthylcellulose (CMC) (Nishikawa et *al.*, 1998).

Les principaux types de dérivés commerciaux de la cellulose sont mentionnés dans le tableau II (Annexe I).

#### 4. La sensibilité de la cellulose au traitement enzymatique

La sensibilité de la cellulose à l'hydrolyse enzymatique dépend étroitement de l'état du substrat, notamment de trois caractéristiques qui conditionnent la vitesse et le rendement de l'hydrolyse (Barnoud, 1980) :

- ❖ L'incrustation par les polymères non cellulosiques tels que la lignine à laquelle la cellulose est généralement associée.
- ❖ Le degré de polymérisation qui varie selon les sources (10.000 unités glucosidiques pour une longueur de 5  $\mu\text{m}$  pour la cellulose de bois) (Mouranche et Costes, 1985).
- ❖ Le degré de cristallinité, qui est plus ou moins important selon l'origine des tissus végétaux et selon les plantes (20 % pour la paille, 35 à 50 % pour le bois et 80 % pour les fibres du coton).

Des prétraitements physiques comme le broyage à sec ou humide, l'action de la chaleur, l'augmentation de la pression (25 atm) et de la température (225 °C) suivie d'une décompression brutale, modifient l'état de la cellulose et varient sa sensibilité à l'hydrolyse enzymatique (Barnoud, 1980).

## II. Les cellulases

### 1. La définition

Selon Cuverllier (1993), les cellulases constituent des systèmes enzymatiques capables d'hydrolyser les macromolécules de cellulose en molécules de sucres suffisamment petites pour passer à travers les membranes cellulaires.

### 2. Les sources des cellulases

Les cellulases sont largement répandues dans la nature, elles sont recensées chez des organismes très divers : bactéries, champignons, plantes, protozoaires, vers, mollusques, insectes... etc. De ce fait, les cellulases peuvent avoir plusieurs origines : animale, végétale ou microbienne.

- **Source microbienne :** beaucoup de champignons et de bactéries dégradent la cellulose, mais juste quelques espèces telles que *Trichoderma viride*, *T.lignorum*, *T. koningii*, *Chrysosporium lignorum*, *C. pruinatum*, *Penicillium salani* sont capables de produire un taux élevé d'enzymes impliquées dans la dégradation de cellulose insoluble en sucres solubles (Mandels, 1975).
- **Source animale :** plusieurs espèces animales utilisent la cellulose comme source d'énergie, malgré leur incapacité à produire des cellulases endogènes. Ceci est dû, selon Smant *et al.*, (1998), à une vie symbiotique des communautés microbiennes qui peuplent le biotope digestif des ruminants. Il est estimé que les bactéries et les champignons présents dans le tube digestif des ruminants contribuent approximativement à 80% de l'activité de dégradation de cellulose (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).
- **Source végétale :** les cellulases jouent un rôle important dans la maturation des fruits où elles participent à la libération des arômes (Cordonnier *et al.*, 1986). Ces enzymes végétales sont généralement obtenues par extraction à partir des fruits tels que les grains de raisin, les amandes douces, de l'avocat *Persea americana*, des céréales tels que l'orge et le riz (Riccio *et al.*, 1999 ; Xu *et al.*, 2000).

L'extraction des cellulases à partir des plantes et des animaux est limitée par des paramètres difficiles à contrôler. En effet, les principaux avantages des enzymes de production par rapport aux enzymes d'extraction sont une production indépendante des

contraintes saisonnières et géographiques, une possibilité d'utilisation de matières premières bon marché, des rendements de production pouvant être augmentés de façon importante par l'amélioration des souches microbiennes et l'optimisation des conditions de production (Scriban, 1993).

### 3. La classification des cellulases

Malgré le caractère homogène de la cellulose, plusieurs familles d'enzymes regroupées sous le terme de cellulases, interviennent dans sa dégradation. D'après Yapi (2008), ces enzymes sont secrétées sous la forme d'un complexe cellulosique qui renferme trois principaux types d'activités enzymatiques que l'on différencie selon leur mode d'action et leur substrat préférentiel.

**3.1. L'endo-  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) glucanase (Endocellulase, EG) :** coupe aléatoirement les liaisons  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) de la chaîne cellulosique au niveau des régions amorphes, en créant de nouvelles extrémités non réductrices qui serviront de sites réactifs pour les cellobiohydrolases. Les produits d'hydrolyse constituent un mélange de cellodextrines, de cellobiose et de glucose. Les endoglucanases sont généralement dosés par la réduction de la viscosité dans la solution de carboxyméthylcellulose (CMC) (Tahir Nadeem, 2009). Selon Scriban (1999), tous les microorganismes cellulolytiques possèdent au moins une endocellulase, parfois plusieurs à caractéristiques très différentes.

**3.2. L'exo-  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) glucanase (Cellobiohydrolase, CBH) :** libère le glucose et le cellobiose de l'extrémité non réductrice de la chaîne de cellulose. L'enzyme seul n'est actif ni sur la cellulose cristalline, ni sur la cellulose soluble, par contre, il attaque les celluloses partiellement dégradées. La cellobiohydrolase dégrade lentement la cellulose cristalline, par contre elle a une forte activité sur la cellulose amorphe (Cullen et Kersten, 1992).

**3.3. La  $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 4) glucosidase ou Cellobiase :** la cellobiase hydrolyse la liaison  $\beta$ -glucosidique du cellobiose et libère deux molécules de glucose. Selon sa spécificité, la cellobiase peut être active sur les  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) oligoglucosides, cependant, son activité diminue rapidement quand la longueur de la chaîne augmente (Lynd et al., 2002).

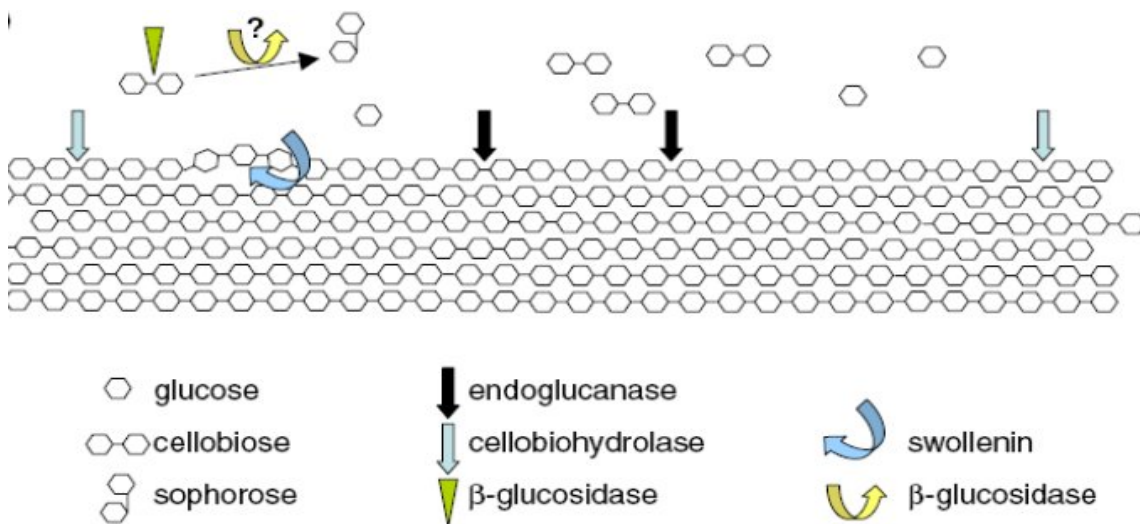
Par ailleurs, un nouveau type de protéine «la swollenin», a été découvert et isolé récemment à partir d'une souche de *Trichoderma reesei*, qui est impliquée dans la désorganisation des fibres cellulolytiques (ouverture du polymère). Cette protéine ne possède aucune activité hydrolytique, mais il a été suggéré qu'elle agissait en écartant les

structures compactées de la cellulose et facilite donc l'approche et la fixation des cellulases (Tourasse, 2005).

#### 4. Le Mécanisme d'action des cellulases

Sous le nom de cellulase, sont regroupées plusieurs enzymes dont seule l'action synergique peut aboutir à l'hydrolyse complète de la cellulose cristalline. L'hydrolyse complète de la cellulose en unités glucose nécessite l'action combinée de multiples enzymes qui prennent différentes spécificités.

Le mécanisme de la biodégradation de la cellulose, illustré dans la figure 5, montre la synergie des différentes enzymes. En premier lieu, les cellobiohydrolases (EC3.2.1.91) clivent des unités cellobiose (disaccharide) à partir de l'extrémité non réductrice de la chaîne polysaccharide. Les endoglucanases (EC 3.2.1.4) coupent à l'intérieur de la chaîne dans les régions amorphes de la cellulose microcristalline, augmentant ainsi le nombre de sites de coupures en fin de chaîne pour les cellobiohydrolases.



**Figure 5:** Schéma général de la dégradation de la cellulose (Alarcon-gutierrez, 2007)

Enfin, les  $\beta$ -glucosidases (EC 3.2.1.21) hydrolysent le cellobiose en glucose qui sera métabolisé par les champignons filamenteux (Tourasse, 2005). Ce processus fait intervenir d'autres protéines (les swollenins), pour affaiblir les liaisons hydrogène de la cellulose cristalline (Alarcon-gutierrez, 2007), et faciliter l'accès aux sites de liaison et d'hydrolyse (Tourasse, 2005).

### 5. Les applications des cellulases

L'intérêt que porte la biotechnologie aux cellulases s'explique par leurs vastes applications. En effet, leur utilisation permet la production de glucose, élément de base, d'où l'importance, écologique et industrielle, considérable des cellulases (Receveur *et al.*, 2002).

#### ❖ *Industrie alimentaire*

Les cellulases sont utilisées pour faciliter la filtration de diverses suspensions riches en fibres cellulosiques. Des traitements de différents produits pour améliorer leurs qualités, où les cellulases sont utilisées sous forme de mélange d'enzymes, le plus souvent en association avec les pectinases pour la digestion qui précède les extractions (protéines de soja, amidon de pomme de terre ou de maïs, jus de fruits, huiles végétales etc...). Elle améliore l'arôme des jus de fruits et du vin (Riccio *et al.*, 1999).

#### ❖ *Industrie des textiles et des détergents*

Les cellulases sont utilisées dans le traitement des toiles de coton, en particulier pour la préparation de « stone washed jeans », pour donner l'aspect aux vêtements en jean après lavage et améliorer l'apparence des tissus par élimination des tâches (Gusakov *et al.*, 2000).

#### ❖ *Papeterie*

Dans la fabrication des pâtes à papier, l'addition de cellulases, aux suspensions de pâtes en cours de lavage et surtout aux suspensions de pâtes de papier de recyclage, améliore significativement leur filtrabilité et conduit à des économies importantes de consommation d'eau (Scriban, 1993).

#### ❖ *Nutrition animale*

Utilisées comme additifs dans l'alimentation animale, les cellulases ajoutées aux aliments pour volailles ou porcins, améliorent leur digestibilité (Gusakov *et al.*, 2000).

#### ❖ *Domaine thérapeutique*

Certaines cellulases sont utilisées dans des formules médicamenteuses comme aides digestives. Ainsi, des cellulases de *Trichoderma viridae* sont utilisées en association avec

des  $\alpha$ -amylases fongiques, pour éviter les dyspepsies et fermentations intestinales (Odier et Rouau, 1985 ; Scriban, 1993).

### ❖ *Autres application*

Les cellulases sont également utilisées dans différents domaines :

- La bioconversion de la cellulase des déchets de papeterie en source fermentescible par des cellulases de *Trichoderma viridae* (Van Wyk et Mohulatsi, 2001).
- L'utilisation de cellulases de *Trichoderma reesei* pour l'hydrolyse enzymatique de la pulpe de betterave en sucres fermentescibles (glucose, xylose, etc...) utilisés dans d'autres fermentations et processus biochimiques (Tangnu *et al.*, 1981 ; Kubicek, 1993).
- La production de protéines d'organismes unicellulaires (POU) à partir de la paille qui constitue la majeure source de déchets celluloseux (Peitersen et Andersen, 1978).
- L'utilisation de levures combinées possédant un système cellulolytique pour la fermentation de matière celluloseuse en éthanol ; la levure *Saccharomyces cerevisiae* fermente 45 g de cellulose par litre pour produire 16.5 litres d'éthanol au bout de 50 heures, où le bioéthanol peut substituer les carburants classiques entre autres le pétrole (Fujita *et al.*, 2002).
- L'isolement de protéines végétales et la préparation de produits alimentaires (Raimbault, 1983).
- L'isolement de protoplastes végétales utilisées pour l'étude des virus végétaux destinés aux recherches métaboliques et génétiques (Evans et Bravo, 1983 ; Tewes *et al.*, 1984).

## III. Les micro-organismes cellulolytiques

### 1. Les bactéries

Les bactéries jouent un rôle essentiel dans le recyclage de la matière organique. Elles prolifèrent surtout dans les milieux riches en azote, à pH neutre ou légèrement alcalin à température variant + 20 et 40°C. Les bactéries produisent surtout des enzymes qui agissent sur les étapes finales de dépolymérisation de la cellulose (Sall, 2004).

La dégradation de la cellulose est principalement connue chez certaines espèces bactériennes du sol de type filamenteux qui sont les actinomycètes (Eubactéries ramifiées), ces bactéries jouent un rôle dans la dégradation de la matière organique naturelle tels que les biopolymères complexes comme la cellulose, la pectine et le xylane par la production d'enzymes extracellulaires qui sont d'une importance majeure dans l'industrie. Les actinomycètes, en particulier les espèces thermophiles et les Streptomycetes, secrètent des enzymes qui dégradent la cellulose. Ce sont principalement : *Streptomyces*, *Actinobispora*, *Actinoplane* (Jaradat et al., 2008 ; Zermane, 2008).

## 2. Les champignons

### 2.1. Les levures

Les levures peuvent être définies comme des champignons ascomycètes unicellulaires, qui se reproduisent par bourgeonnement ou fission (CAFA, 2002 ; Alarcon-Gutiérrez, 2007). Très peu de levures ont une activité cellulolytique telle que *Aureobasidium pullulans*. Par contre, un grand nombre de levures est capable d'utiliser le cellobiose telle que *Brettanomyces*, *Candida*, *Dekkera*, *Kluveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces* (Scriban, 1999).

### 2.2. Les moisissures

Les moisissures, sont des organismes eucaryotes, hétérotrophes, pour cela ils dégradent la matière organique complexe grâce à l'excrétion d'enzymes et d'acides puis ils en absorbent les composants digérés, tout ceci s'effectuant à travers la paroi perméable de leur appareil végétatif.

Les mycètes sont des agents bien connus pour la décomposition de la matière organique, en général, et des substrats cellulosiques en particulier. La décomposition microbienne de la cellulose se déroule aussi bien dans des conditions aérobies qu'anaérobies. Les espèces anaérobies telles que les Chytridomucètes sont connues pour leur capacité à dégrader la cellulose dans les appareils gastro-intestinaux des ruminants. Les champignons aérobies stricts ont un équipement enzymatique leur permettant d'hydrolyser les polysaccharides des parois cellulaires végétales (Carlile et al., 1997). De plus, La capacité à dégrader la cellulose en aérobiose est largement répandue chez les ascomycètes et les basidiomycètes (Lechien, 2009).



### ❖ Dégradation de la cellulose par les champignons de la pourriture blanche

Selon Belalia (2006), les pourritures blanches, constituées principalement des basidiomycètes, sont les seuls micro-organismes capables de dégrader efficacement les différents constituants du bois : cellulose, hémicelluloses et lignine. Ils jouent donc un rôle central dans le cycle global du carbone. Le bois attaqué devient clair avec apparition de zones fibreuses d'où leur autre appellation de pourritures fibreuses (Daniel, 1994).

Des analyses microscopiques ont montré que *Phanerochaete chrysosporium* dégrade la cellulose, les hémicelluloses et la lignine de manière simultanée, alors que *Ceriporiopsis subvermispora* ainsi que *Trametes versicolor* tendent à enlever la lignine avant les polysides (Enoki et al., 1988 ; Daniel, 1994). Néanmoins, aucun micro-organisme n'est capable d'utiliser la lignine comme seule source de carbone et d'énergie et il est donc généralement admis que la dégradation de la lignine est nécessaire aux micro-organismes pour pouvoir accéder à la cellulose et aux hémicelluloses (Cullen et Kersten, 2004).

## IV. La fermentation solide

### 1. La définition

La fermentation solide (fermentation de substrats solides, fermentation humide, culture solide), est généralement définie comme une croissance microbienne sur des particules solides humides en l'absence d'eau libre (Durand, 2003 ; Gervais et al, 2003 ; Rahardjo et al., 2006). De façon simplifiée, les microorganismes se développent dans un système à trois phases : une matrice solide, une phase liquide qui lui est liée et une phase gazeuse prise au piège dans les particules ou entre celles-ci (Rahardjo et al., 2006).

### 2. Les diverses étapes suivies en fermentations solides

Les différentes étapes suivies au cours d'une fermentation solide sont : la préparation du substrat ou du milieu de culture et la stérilisation facultative du milieu (généralement à 121 °C pendant 21 minutes) suivie par le refroidissement de celui-ci, l'inoculation du milieu de culture, l'incubation du milieu inoculé en maintenant dans la mesure du possible les conditions environnementales optimales.

### **2.1. La préparation du substrat carboné**

Les substrats carbonés utilisés en fermentation solide proviennent essentiellement des résidus agricoles et agroalimentaires. Ce sont les substrats lignocellulosiques (paille, son, bagasse, pulpe, etc.), les féculents (résidus de banane, de soja, les graines, etc.), les supports synthétiques (mousse de polyuréthane, résine polymérique, etc.).

La préparation du substrat carboné vise à lui faire subir divers traitements physiques, chimiques ou biologiques (enzymes) afin de favoriser une grande accessibilité des constituants aux microorganismes. Le traitement physique peut se faire soit mécaniquement (broyage, concassage, hachage, aplatissage), soit thermiquement (autoclavage), soit par irradiation ou par ultrasonication. Le traitement chimique se fait par la voie des alcalis, acides, oxydants, gaz et solvants (Assamoi et *al.*, 2009).

### **2.2. L'inoculation et incubation du milieu de culture**

L'inoculation du milieu de culture se fait le plus souvent à partir d'une suspension de spores. Celles-ci restent viables plus longtemps que du mycélium et sont moins sensibles aux conditions externes et se conservent plus facilement (Assamoi et *al.*, 2009). Par ailleurs, l'optimisation des conditions d'incubation est une étape très importante au cours de la fermentation, elle permet d'avoir une bonne croissance de la souche dans son substrat et un meilleur rendement des métabolites désirés.

### **2.3. L'extraction**

A la fin de la fermentation, la biomasse solide est traitée avec l'eau distillée et agitée soigneusement sur un agitateur mécanique. L'ensemble du contenu est filtrée à travers une mousseline et le résidu est traité à nouveau avec l'eau distillée de la même manière et filtré. Les filtrats sont regroupés et centrifugés, et le surnageant clair est utilisé comme source de métabolites (Kunamneni, 2005).

## **3. Les paramètres affectant la fermentation solide**

A l'échelle industrielle, les contrôles de la température de culture et de l'humidité du milieu sont très importants. La faible conductibilité thermique des substrats utilisés et leur faible teneur en eau réduisent le transfert de chaleur, qui lui-même dépend de la taille des particules de la couche solide. Une élévation de la température dans la masse fermentable due à un dégagement de chaleur métabolique peut aller jusqu'à atteindre 80° C, causant un

assèchement de la culture et une baisse de l'activité et de la disponibilité en nutriments (Bellon-Maurel et *al.*, 2003).

L'eau est impliquée dans la croissance cellulaire et les réactions métaboliques, les activités enzymatiques, les transports des éléments nutritifs, des métabolites extracellulaires et des gaz au cours de la fermentation solide (Bellon-Maurel et *al.*, 2003 ; Gervais et *al.*, 2003).

Les variations de la teneur en eau sont dues à l'évaporation causée par la chaleur métabolique, à l'hydrolyse du substrat et aux productions d'eau métabolique. La teneur en eau est habituellement déterminée par les mesures de la matière sèche.

Des variations de valeur du pH résultent d'une consommation en substrat (exemple de l'hydrolyse des protéines) et/ou des synthèses métaboliques (exemple des acides organiques). Les variations de pH sont des indicateurs des changements dans les activités métaboliques. En fermentation solide, il n'existe pas d'électrode pouvant enregistrer le pH des milieux solides à cause de l'absence d'eau libre mais peut être mesuré par une électrode à pH standard, après suspension de l'échantillon dans de l'eau distillée (Bellon-Maurel et *al.*, 2003).

L'aération des cultures solides joue quatre fonctions, à savoir le maintien des conditions d'aérobies, l'élimination du dioxyde de carbone, la régulation de la température de culture et la régulation de la teneur en eau (Raimbault, 1998). L'aération en fermentation solide est plus facile qu'en fermentation liquide à cause d'une part, de la diffusion rapide de l'oxygène dans le film humide entourant les particules de substrat, et d'autre part des grandes surfaces de contact entre la phase gazeuse, le substrat et les mycelia aériens.

#### **4. Les microorganismes utilisés en fermentation solide**

Les bactéries, les levures et les champignons peuvent se développer sur des substrats solides, et trouver une application dans les processus de la fermentation solide. Les champignons filamenteux sont les mieux adaptés pour ce type de culture (Doalle et *al.*, 1992). [Quelques exemples de micro-organismes impliqués dans la fermentation solide sont rapportés dans le tableau I].

**Tableau I.** Les principaux groupes de micro-organismes impliqués dans la fermentation solide (Duchiron et Copinet, 2011)

Microflore	Domaines d'application
<p><b>Bactéries</b>  <i>Bacillus sp.</i>    <i>Lactobacillus sp.</i>  <i>Pseudomonas sp.</i>  <i>Serratia sp.</i>  <i>Streptococcus sp.</i>  <i>Clostridium sp.</i>  <i>Brevibacterium sp.</i>  <i>Staphylococcus sp.</i></p>	<p>Compostage, natto, production d'enzyme (amylase)  Ensilage, produit alimentaire.  Compostage.  Compostage.  Compostage.  Ensilage, produit alimentaire.  Production de métabolites (acide L glutamique).  Production d'enzyme (inulinase).</p>
<p><b>Champignons</b>  • <b>Levures :</b>  <i>Endomycopsis burtonii</i>  <i>Saccharomyces cerevisiae</i>  <i>Schwanniomyces castelli</i>  <i>Kluyveromyces marxianus</i>    • <b>Champignons filamenteux :</b>  <i>Alternaria sp</i>  <i>Aspergillus sp</i>  <i>Fusarium sp</i>    <i>Monilia sp</i>  <i>Trichoderma sp</i>    <i>Beauveria sp., Metharizium sp</i>  <i>Amylomyces rouxii</i>  <i>Aspergillus oryzae</i>    <i>Rhizopus sp</i>  <i>Penicillium sp</i>    • <b>Champignons supérieurs:</b>    <i>Pleurotus oestrestus, sajor-caju</i>  <i>Lentinus edodes</i>  <i>Penicillium notatum, roquefortii</i></p>	<p>Alimentation.  Pain, éthanol.  Éthanol, production d'enzyme (amylase).  Production d'enzyme et composé aromatique.    Compostage.  Compostage, alimentation, procédés industriels.  Compostage, production de métabolites secondaires (acide gibbérellique).  Compostage.  Production d'enzymes, production de spores pour la lutte biologique.  Production de spores, bioinsecticide.  Alimentation.  Koji, aliment, production d'acide organique (acide citrique).  Production d'acide organique (acide lactique).  Production de métabolites secondaires (arôme) et fromage.    Champignon.  Champignon Shii-take.  Pénicilline, fromage.</p>

L'accroissement des hyphes s'effectue par les extrémités (ou apex) où s'effectuent l'essentiel des réactions de synthèse et dégradation du métabolisme dit « primaire », indispensable à la construction de la cellule du champignon. Il y a en permanence des échanges entre l'intérieur et l'extérieur, échanges qui diminuent lorsque l'on s'éloigne de

l'apex vers les zones plus âgées. Ainsi, la moisissure sécrète des exo-enzymes hydrolytiques qui restent concentrées autour des zones de sécrétion permettant une progression plus efficace du mycélium dans le substrat (Duchiron et Copinet, 2011).

### **5. Les avantages et les inconvénients de la fermentation solide**

#### **5.1 Les avantages de la fermentation solide**

Les avantages de la fermentation solide sont nombreux. Ceux-ci incluent la simplicité de cette technologie (applicable en milieu rural) et ne nécessitant pas d'équipement sophistiqué pour les contrôles permanents des paramètres environnementaux (facultatifs).

Le coût des équipements et des opérations est donc faible.

L'absence d'eau libre permet de réduire considérablement le volume des installations de fermentation et les contaminations bactériennes. Le peu d'eau disponible favorise la production de certains métabolites qui n'apparaissent pas ou peu en culture liquide.

De plus, les opérations de mélange étant facilement modulables, il n'y a pas de production de mousses lors des fermentations solides contrairement aux fermentations liquides. L'aération peut être assurée passivement et/ou sans agitation ou par agitation discontinue. En cas d'aération active ou forcée, une porosité bien étudiée facilite le passage de l'air qui entre facilement en contact avec les moisissures installées en surface des particules.

En revanche, les moisissures filamenteuses rendent souvent les milieux liquides fortement visqueux. Ce qui entraîne des problèmes à l'agitation et au transfert d'oxygène (Durand, 2003).

En cas de production d'aliments pour animaux, tout le produit est utilisé, sans rejet d'eau usée. Les frais de séchage éventuels sont réduits (Mathot, 1996).

#### **5.2. Les inconvénients de la fermentation solide**

Les microorganismes utilisés sont limités. En effet, seuls les microorganismes se développant bien aux basses humidités peuvent être employés.

Les problèmes de transfert d'oxygène et de chaleur rendent difficile l'augmentation d'échelle des procédés. En effet, la faible quantité d'eau ralentit les échanges de chaleur, pouvant créer des problèmes de surchauffe lorsque des masses importantes sont mises en fermentation. L'évaporation compense partiellement cet échauffement, mais en réduisant l'eau disponible. De plus l'évacuation des calories métaboliques peut donc poser un

problème qu'il s'agit de résoudre lors du passage de petits essais de laboratoire aux applications en vraie grandeur.

La nature solide et hétérogène des substrats utilisés complique le suivi direct des paramètres de fermentation. Par ailleurs, il est pratiquement difficile d'assurer une distribution parfaitement homogène de substances ajoutées au substrat et donc du milieu de culture. Ce qui rend le contrôle des paramètres de culture tels que le pH, l'humidité et la concentration des nutriments, assez aléatoire.

Les microorganismes étant inséparables du substrat, l'estimation de la biomasse est délicate.

Étant donné la forte concentration des métabolites obtenus, des produits inhibiteurs générés par les microorganismes peuvent s'accumuler en concentration élevée dans le milieu de culture (Bellon-Maurel et al. 2003).

### 6. Les exemples de résidus utilisés en fermentation solide

La valorisation des sous produits agricoles et agro-alimentaires par voie fermentaire constitue une approche biotechnologique très intéressante pour la production de cellulases vue leur richesse en cellulose. Parmi les substrats solides utilisés ; le son et la paille de blé ; la coque d'arachide, la sciure de bois...etc. En effet ces sous-produits constituent une source de choix de cellulose par excellence.

#### 6.1. Le son de blé

Le son de blé est un co-produit de la semoulerie issu des parties externes du grain, il est riche en fibres alimentaires, composé principalement de cellulose, protéines, vitamines, et sels minéraux (calcium, magnésium, phosphore). Cette composition varie en fonction de ses variabilités génétiques et éco-physiologiques ainsi qu'en fonction du mode de fractionnement et de mouture (Zeitoun, 2011). Sa composition est illustrée dans le tableau II.

**Tableau II** : Composition biochimique de son de blé (Hollmann et Lindhauer 2005).

Constituants	teneur en (% de matière sèche)
Hémicellulose	30
Cellulose	22
lignine	5

## 6.2. La paille de blé

Le terme « paille » est généralement utilisé pour désigner les tiges et les feuilles sèches, coproduits de la récolte du grain des céréales à paille. La paille de blé est historiquement la plus utilisée pour l'alimentation animale mais les récents usages incluent les cellulases du fait de la conversion de cellulose en glucose.

La composition biochimique de la paille de blé est très variable (tableau III) ceci est du , d'une part à la variabilité de la matière végétale qui est fonction de la nature du sol, du climat et du stade de maturité de la plante au moment de la récolte, et d'autre part , aux différentes méthodes d'analyse employées (Zeitoun, 2011) .

**Tableau III:** Composition biochimique de la paille de blé (Howard et *al.*, 2003).

<b>Constituants</b>	<b>teneur en (% de matière sèche)</b>
Cellulose	30
Hémicellulose	50
lignine	15

*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*



### I. Matériel

#### 1. Matériel analytique (Annexe II).

#### 2. Matériel biologique

Au cours de notre expérimentation, une souche fongique a été utilisée : *Bjerkandera sp*, souche locale, isolée et sélectionnée par Belhamiche et *al.* en 2011 et faisant partie de la collection des souches lignocellulolytiques du laboratoire de biochimie microbienne (Université A/Mira de Bejaïa, Algérie).

Le choix de cette souche repose essentiellement sur sa capacité à produire des cellulases. La souche est entretenue par un repiquage bimestriel sur milieu malt incliné et puis conservée à 4°C afin de garder sa viabilité.

#### 3. Les milieux de culture

Les substrats utilisés au cours de notre étude sont des sous-produits agricoles : la paille de blé, provenant d'une exploitation agricole de la région d'Akbou (Bejaia), et le son de blé issu de la semoulerie « les moulins de la Soummam » de Sidi Aïch (Bejaia).

La fermentation utilisée est de type solide. La paille est hachée puis broyée jusqu'à obtention des fragments de paille de moins de 6 mm de longueur, quant au son, il s'agit du son dit « fin » et est utilisé tel qu'il est. L'humidité initiale de chaque substrat a été déterminée (14 % pour le son de blé et 10% pour la paille) puis ajustée avec de l'eau distillée à 52% pour les deux substrats. Les milieux ainsi préparés ont été répartis dans des Erlenmeyers de 500 ml à col large à raison de 20 g et stérilisés à l'autoclave à 121 °C pendant 20 min (10 Erlens pour chaque substrat).

### II. Méthodes

#### 1. L'étude morphologique

##### 1.1. La macromorphologie

Dans le but de déterminer l'aspect, le développement et la couleur du mycélium de *Bjerkandera sp*, l'observation à l'œil nu a été réalisée après culture des de la souche pendant 05 jours à 30 °C sur milieu malt gélosé.

### 1.2. La micromorphologie

La souche a fait l'objet d'une observation microscopique (méthode de scotch). Cette étude a pour but l'observation de la structure et la fragmentation ou non du mycélium, ainsi que la présence ou non de spores.

## 2. L'obtention des extraits enzymatiques bruts

### 2.1. La préparation des inocula

Après ensemencement de la souche sur des boîtes de Pétri contenant le milieu malt gélosé et leur incubation à 30°C pendant 10 jours, le mycélium est récupérée à l'aide d'une solution stérile de tween 80 à 0,2% (v/v). La suspension obtenue est ensuite utilisée pour l'ensemencement des deux substrats Belhamiche et *al.* (2011)..

### 2.2. L'ensemencement des milieux

3 ml de l'inoculum mycélien (soit 8,30 mg/g de substrat) de *Bjerkandera sp* servent à inoculer les milieux de culture, à base du son et de la paille de blé. Les milieux solides ainsi ensemencés sont incubés à 30°C pendant 10 jours. L'incubation de la paille de blé a été prolongée jusqu'au 15 et 19<sup>ème</sup> jours. Chaque jour, un Erlen est prélevé en vue d'effectuer les différents dosages Belhamiche et *al.* (2011).

### 2.3. L'extraction

A la fin de l'incubation, 10 g du substrat fermenté sont mixées avec 200 ml d'eau distillée pendant 2 minutes et centrifugé à 5000 g, à 4°C pendant 30 minutes. Les surnageants ainsi obtenus constituent les extraits enzymatiques bruts, congelés dans des Eppendorfs à - 18°C pour les dosages ultérieurs Belhamiche et *al.* (2011).

## 3. La détermination de la matière sèche (MS)

Afin de suivre l'évolution de la matière sèche au cours de la fermentation, une prise de 0,5g de substrat fermenté est pesée dans des capsules préalablement séchées et tarées, elles sont par la suite placées dans une étuve maintenue à 105°C jusqu'au poids constant. Toutes les analyses sont effectuées en triplicat. Le pourcentage de la matière sèche (MS) est calculé selon l'expression suivante :

$$MS (\%) = [(PF - PS) / PF] * 100$$

Avec :

MS : Matière sèche

PF : Poids frais

PS : Poids sec

#### 4. La mesure du pH

La mesure de la variation du pH au cours de la fermentation est effectuée directement sur 5 g du substrat fermenté remis en suspension dans 100 ml d'eau distillée à l'aide d'un pH mètre.

#### 5. L'étude des extraits enzymatiques

##### 5.1. Le dosage des protéines totales

Les teneurs en protéines des extraits enzymatiques bruts ont été dosées selon la méthode de Lowry *et al.* (1951) (voir annexe III). Le principe de cette méthode est basé sur la coloration bleu développée par les protéines suite à une réaction entre le réactif de Folin-Ciocalteu et les acides aminés principalement la tyrosine et le tryptophane et un degré moins la cystéine histidine et cystine.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration protéique contenue dans les extraits. Cette concentration est déterminée par référence à une courbe étalon en utilisant l'albumine du sérum bovin (B.S.A. 200 µg/ml) établie avec des concentrations variables de 25 à 200 µg/ml. L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm (Annexe III, figure 2).

##### 5.2. Le dosage des activités enzymatiques

L'évaluation de l'activité des enzymes cellulolytiques, se fait en mettant en contact la solution enzymatique avec un substrat spécifique pendant un temps défini, et dans des conditions de température et de pH appropriées.

###### 5.2.1. L'activité papier filtre (APF)

L'activité papier filtre (APF ou activité totale) est déterminée selon la méthode de Ghose (1987). Dans un tube à essai, une bandelette du papier Whatman N° 1 de (1 cm x 3 cm soit 25 mg) est équilibrée avec 0,5 ml de la solution tampon citrate (50 mM ; pH 4,8) à 50°C pendant 10 minutes, puis 0,25 ml de l'extrait enzymatique brut sont additionnées.

Après incubation à 50°C pendant 60 minutes, la réaction est arrêtée en ajoutant le réactif du DNS. Le mélange réactionnel est ensuite porté à ébullition à 100°C pendant 5 minutes puis est refroidi dans un bain d'eau glacée. Le glucose libéré est dosé par la méthode de D.N.S. (Miller, 1959). Le principe de cette méthode est basé sur la coloration rouge développée suite une réduction de l'acide 3-amino-5-nitrosalicylique à chaud et en milieu alcalin (le D.N.S. joue le rôle d'oxydant et le glucose étant le réducteur).

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose contenant dans les extraits. Cette concentration est déterminée par référence à une courbe étalon en utilisant le glucose à 10 g/l établie avec des concentrations variables en glucose. L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm (Annexe IV, figure 2).

### **5.2.2. L'activité carboxyméthyl cellulase (CMCase)**

L'activité de CMCase est déterminée selon la méthode de Ghose (1987). Dans un tube à essai, 0,25 ml de la solution C.M.C. 2% sont équilibrés à 50°C pendant 10 minutes. 0,25 ml de l'extrait enzymatique brut sont additionnés à la solution de CMC. Après incubation à 50°C pendant 30 minutes, la réaction est arrêtée en ajoutant le DNS, puis le mélange réactionnel est porté à ébullition pendant 5 minutes à 100°C, puis refroidi dans un bain d'eau glacée. Le glucose libéré est dosé par la méthode de D.N.S. (Miller, 1959).

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose contenant dans les extraits. Cette concentration est déterminée par référence à une courbe étalon en utilisant le glucose à 2 g/l établit avec des concentrations variables en glucose. L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm (Annexe IV, figure 3).

Une unité internationale représente la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer à partir du substrat (papier filtre ou carboxyméthyl cellulose) une  $\mu\text{mol}$  de glucose par min dans les conditions de la réaction.

Les résultats sont exprimés en unité internationale par gramme de matière sèche (UI/g MS).

*Résultats*  
*et*  
*Discussion*

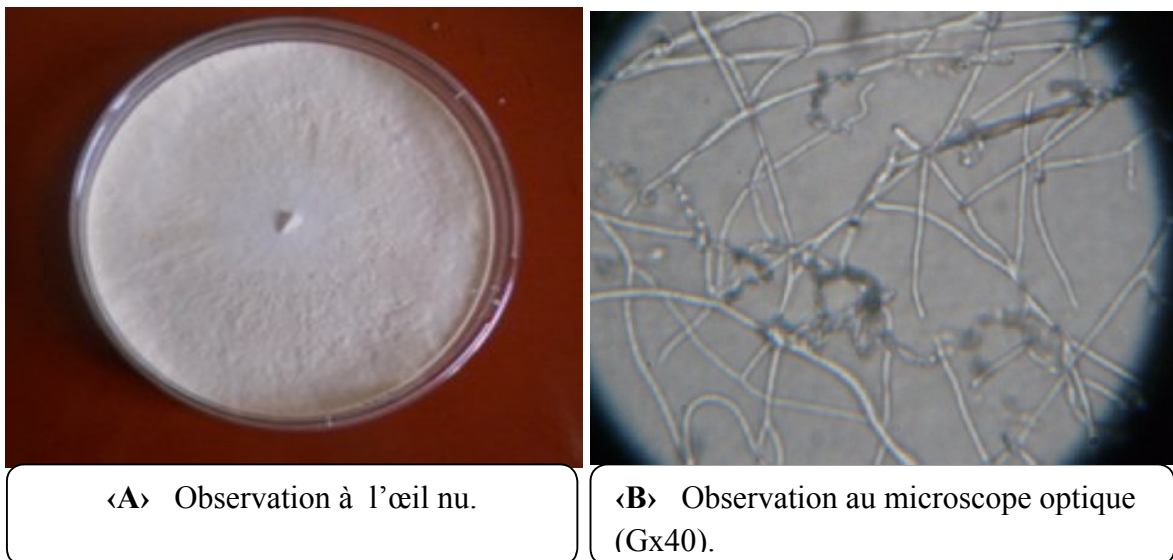
### I. L'étude morphologique de *Bjerkandera sp*

#### 1. La macromorphologie

Sur milieu malt, le mycélium de *Bjerkandera sp*, d'aspect de velours, blanc cotonneux, présente une croissance radiale, très rapide et envahit complètement le milieu de culture (Figure 6 <A>).

#### 2. La micromorphologie

L'observation microscopique a montré la présence des hyphes cloisonnés et ramifiées. La présence de spores n'a pas été constatée. De plus, la culture ne montre pas des boucles aux septa des hyphes (Figure 6 <B>).



**Figure 6 :** Les différentes observations de la souche *Bjerkandera sp*.

### II. La culture et la croissance de la souche

Les résultats de la fermentation de la souche fongique étudiée, réalisée sur les milieux solides à base de son et de la paille de blé, pendant 10 jours à 30°C, sont représentés dans la figure 7.

La croissance visible de *Bjerkandera sp* débute au bout de 24 h sur le son de blé, tandis qu'elle nécessite au moins 48 h sur la paille de blé. Contrairement au son de blé qui

reste plus ou moins humidifié, la paille de blé apparait sèche et déshydratée après la culture.



**Figure 7:** Culture de *Bjerkandera sp* sur les substrats solides

Cette observation, peut être expliquée par une différence du degré d'assimilation du son et de la paille de blé qui est reliée directement à la teneur en eau de ces substrats et leur composition (Tableau II, III). En effet, selon Leonowicz et *al.*, (1999) cité par Salhi-Mohand Oussaid (2004) , la croissance des champignons pendant la période d'incubation se fait au départ au dépend des fractions facilement assimilables (à faible masse moléculaire) présentes dans le substrat, il s'agit d'oligosaccharides et d'hétérosides présents naturellement dans le substrat ou libérés lors des différents traitements physiques (broyage et stérilisation) et sécrètent différentes enzymes extracellulaires.

Selon Takagi et Moriuchi (1994), la formation des différentes enzymes dans la culture solide sur le son de blé est affectée par l'humidité contenue dans le substrat. De plus, Raimbault (1981), a montré que la croissance des champignons est obligatoirement limitée par la disparition de l'eau disponible .

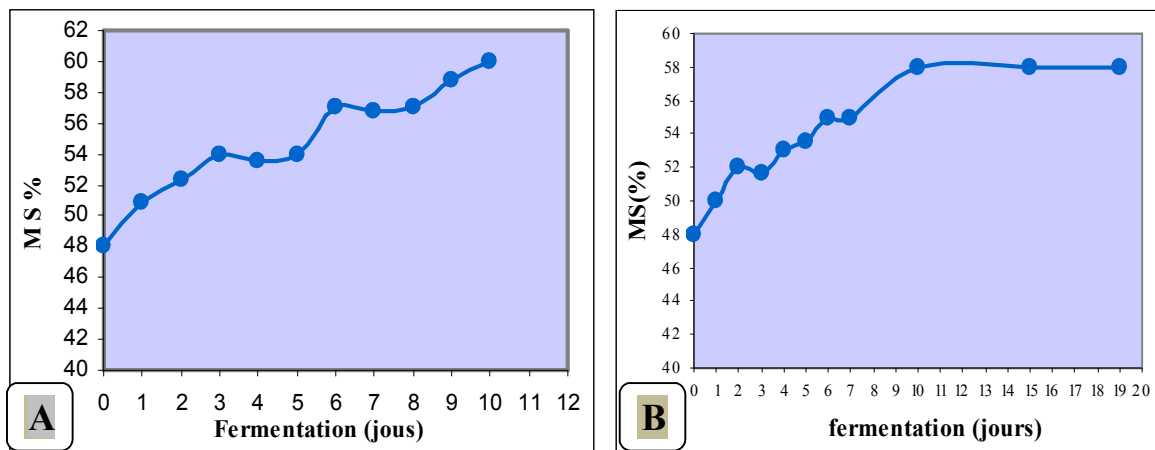
Par ailleurs, la taille des particules constitue un facteur critique dans la fermentation solide. En effet, selon Attrya et Ashour (2002), la surface de croissance des microorganismes est plus importante quand la porosité entre les particules est faible qu'avec des particules de grande porosité. Ces deux facteurs opposés (faible surface et forte porosité), influe probablement sur la croissance et la production des enzymes.

### III. L'évolution de la matière sèche et de pH au cours de la fermentation

#### 1. La matière sèche

La croissance des microorganismes sur un substrat solide est estimée par la détermination de la matière sèche (Raimbault, 1989). L'évolution de la matière sèche au cours de la culture de *Bjerkandera sp* sur le son et la paille de blé est rapportée par la figure 8.

Des résultats obtenus dans notre étude, il ressort que la matière sèche augmente au cours de la fermentation pour atteindre un maximum de 60% et de 58% sur le son et la paille de blé respectivement. Par ailleurs, un plateau est observé pour la paille de blé (phase stationnaire). Cette augmentation est liée à la croissance mycélienne. Des résultats similaires sont rapportés par Roussos et Hannibal (1984), en cultivant *Trichoderma harizianum* sur la bagasse, où le pourcentage de la MS atteint 61,8%. De plus, nos résultats sont proches de ceux obtenus par Belhamiche et *al.* en 2011 qui ont rapporté une augmentation de la matière sèche jusqu'à 59% le 5<sup>ème</sup> jour de la croissance de *Bjerkandera sp.* sur le son de blé.



**Figure 8** : Evolution de la matière sèche au cours de la fermentation.

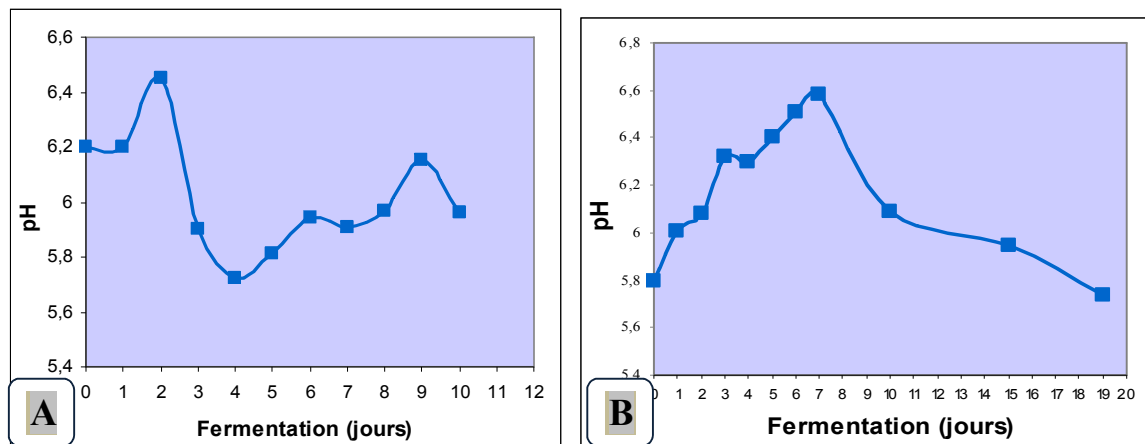
**A)** Son de blé , **B)** Paille de blé

#### 2. Le pH

L'évolution du pH du milieu durant la fermentation est en relation avec la croissance du micro-organisme et la production des enzymes extracellulaires, il semble donc important de mesurer ce paramètre afin de suivre indirectement la croissance et de



contrôler la production des cellulases en milieu solide. Les résultats obtenus sont illustrées par la figure 9.



**Figure 9** : Evolution de pH du milieu au cours de la fermentation.

**A)** son de blé, **B)** la paille de blé.

Sur le son de blé, la souche fongique *Bjerkandera sp* présente une légère augmentation de pH à 6,45 les deux premiers jours de la fermentation suivie par une diminution marquée jusqu'à atteindre 5,72 au 4<sup>ème</sup> jour, au-delà le pH augmente pour diminuer au 10<sup>ème</sup> jour. En revanche, sur la paille de blé une augmentation progressive de pH est a été constatée et atteint un maximum de 6,58 le 7<sup>ème</sup> de culture jour suivie par une diminution à 5,74 le 19<sup>ème</sup> jour.

Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Belhamiche et *al.* en 2011, qui ont noté une diminution de pH de 6,4 à 6,05 suivie d'une augmentation légère à 6,14 lors de la fermentation de *Bjerkandera sp* sur le son de blé.

Aussi ces résultats semblent confirmés par les travaux de Roussos et Raimbault (1982), qui ont distingué trois phases d'évolution du pH, lors de la culture de *T. harzianum* en milieu liquide : une légère augmentation de 5 à 6,1 suivie d'une diminution rapide, la troisième phase est caractérisée par une alcalinisation du milieu. Selon ces auteurs, l'augmentation du pH au début de fermentation est due à la germination des spores et au début de la croissance du mycélium tandis que la diminution rapide du pH est liée à la croissance active du mycélium.

Les travaux de Roussos (1987), ont montré, lors de la culture de *Trichoderma harizianum* sur le son de blé, une stabilisation de pH à 6,1 durant les premières heures, il diminue à 4,1 à la 50<sup>ème</sup> heure puis remonte à 4,5 à la 56<sup>ème</sup> heure de culture.

Ainsi Rossos et al., (1991) rapportent une chute de pH à partir de 6,2 à 4,2 puis remonte à 8,7 au cours de la culture de *T. harizianum* sur le mélange de son de blé et la bagasse.

Selon Raimbault (1998), la variation de pH du milieu dépend fortement de micro-organisme. En effet, le pH de milieu de culture d'*Aspergillus sp*, *Penicillium sp* et *Rhizopus sp* peut diminuer au dessous de 3,0, tandis que pour d'autres types de mycètes, tels que *Trichoderma sp* et *Sporotrichum sp*. le pH est plus stable entre 4 et 5.

Le pH d'une culture peut changer en réponse des activités métaboliques des micro-organismes. Selon Botton et al., (1990) ; Leclerc et al., (1995) cité par Bensmira (2006), la diminution de pH est due à la libération d'acides organiques tels que l'acide citrique, acétique qui acidifient progressivement le milieu, par contre son augmentation est liée à la dégradation des protéines et des acides aminés, qui libère de l'ammoniaque.

En outre, la nature du substrat a une forte influence sur la variation de pH, ceci est dû à l'effet tamponné des matériaux lignocellulosiques. La diminution du pH au cours de la culture en milieu solide est compensée par le pouvoir tampon élevé du substrat, il n'est donc pas nécessaire de réguler le pH au cours de ce procédé (Raimbault, 1998).

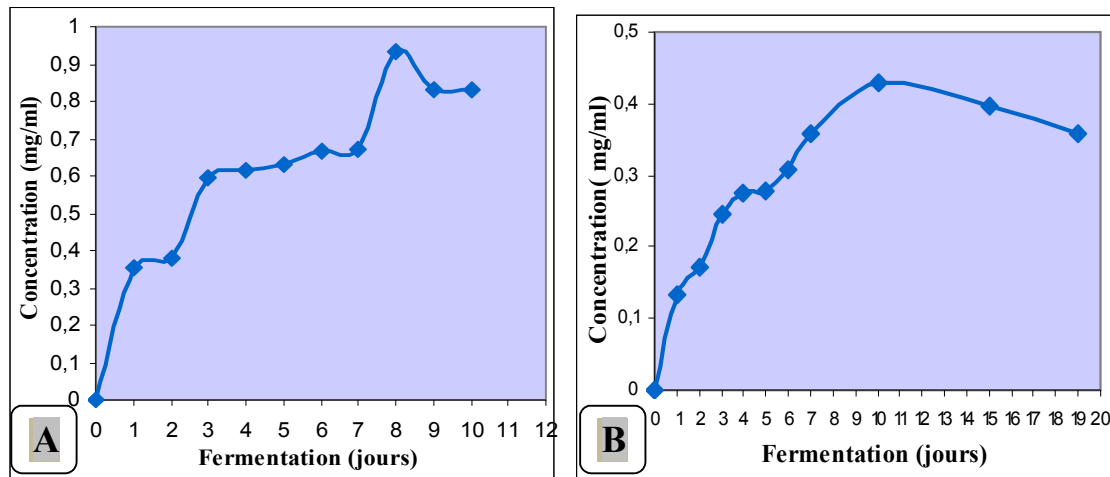
#### **IV. L'étude des extraits enzymatiques**

Le dosage des protéines totales dans les extraits enzymatiques au cours de la culture de *Bjerkandera sp* sur le son et la paille de blé est réalisé selon la méthode de Lowry et al. (1951), et la mesure de l'activité totale (papier filtre) et de la carboxyméthylcellulase (CMCase) est effectuée selon le protocole de Ghose (1987).

##### **1. L'évolution de la concentration des protéines au cours de la fermentation**

La cinétique de la synthèse des protéines par la souche fongique étudiée sur le son et la paille de blé est illustrée par la figure 10. La quantité de protéines synthétisées varie suivant le substrat. Une augmentation de la concentration des protéines est observée au cours de la fermentation pour les deux substrats traduisant la synthèse protéique. Sur le son de blé, la concentration maximale des protéines synthétisées est enregistrée le 8<sup>ème</sup> jour avec 0,93 mg/ml. Cependant, une concentration de 0,44 mg/ml a été enregistrée le 10<sup>ème</sup> jour sur la paille de blé. Une diminution de la synthèse en protéines est observée les

derniers jours de fermentation, ceci est peut être due, selon Kalisz et *al.*(1987), à l'action protéolytique des protéases libérées au cours de la lyse cellulaire. Les résultats obtenus sont faibles par rapport à ceux rapportés par Singh et *al.*, en 1998 ont obtenu avec *Aspergillus niger* 1,85 mg/ml sur l'épi de maïs.



**Figure 10** : Evolution de la concentration des protéines totales au cours de la fermentation  
**A)** son de blé, **B)** paille de blé

D'après les résultats de Salhi-Mohand Oussaid (2004), sur le milieu Mandels et Weber contenant 2% de grignon d'olive, la concentration en protéines extracellulaires dans le milieu augmente et atteint les valeurs maximales de 0,08 mg/ml et 0,74 mg/ml pour *Aspergillus niger* et *A. fumigatus* respectivement.

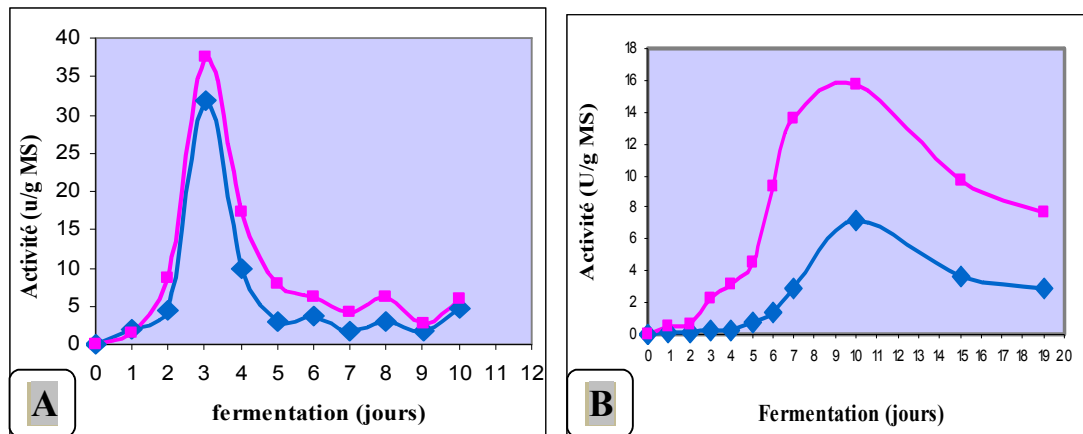
### 2. L'activité papier filtre et CMCase de *Bjerkandera sp*

La figure 11, rapportant les résultats du suivi de la production des cellulases par la souche fongique étudiée, montre que la synthèse des activités enzymatiques dosées évolue sensiblement de la même façon pour le même substrat (paille et son de blé). Sur le son de blé, la production des cellulases débute le 1<sup>er</sup> jour, elle s'accélère à partir du 2<sup>ème</sup> jour, pour atteindre le maximum au bout de 3 jour avec un taux de 37,51 UI/g de MS (soit 0,97 UI/ml) pour la CMCase et 31,74 UI/g de MS (0,62 UI/ml) pour l'APF, suivie par une diminution rapide.

En l'occurrence, pour la paille de blé, de faibles activités ont été constatées les premiers jours suivies par une augmentation rapide jusqu'à atteindre un taux maximum le 10<sup>ème</sup> jour 7,11 UI/g de MS (0,58 UI/ml) d'APF et 15,68 UI/g de MS (0,45 UI/ml) de CMCase. La

culture prolongée de *Bjerkandera sp* a montré une diminution des activités à partir du 10<sup>ème</sup> jour.

Ces activités sont différentes que celles rapportées par certains auteurs avec d'autres substrats lignocellulosiques. Chandra *et al.* en 2007 ont rapporté des activités d'*Aspergillus niger* le 3<sup>ème</sup> jour (CMCase : 3,24 UI/g de MS; 1,36 UI/g ; 1,09 UI/g ) et (APF : 2,9 UI/g ; 2,09 UI/g ; 1,62 UI/g) sur le son de blé, fourrage d'arachide et le son de riz respectivement.



**Figure 11** : Evolution des activités CMCCase et APF au cours de la fermentation.

APF (◆), CMCCase (■). (A) son de blé, (B) paille de blé.

Ainsi les travaux de Kalra 1984 dans une étude similaire, la culture de *Trichoderma harzianum* sur les pailles de blé et de riz ont indiqué des activités de 0,26 UI/ml de APF et 11,1 UI/ml de CMCCase) et de 0,07 UI/ml de APF et 2 UI/ml de CMCCase) respectivement. De plus, Madamwar (1992) a rapporté des valeurs de 6,1 UI/ml APF et 19,6 UI/ml CMCCase au 5<sup>ème</sup> jour de la fermentation pour une culture de *Trichoderma reesei*, en milieu solide à base de la bagasse. La même souche est cultivée sur le son de blé par Muniswaran *et al.* en 1994 a montré des activités APF et CMCCase de l'ordre de 20,7 UI/g de MS et de 61 UI/g.

Par ailleurs, de faibles activités CMCases ont été obtenues par Dinis en 2009, lors de la culture de quelques pourritures blanches (*Bjerkandera adusta*, *Ganoderma applanatum*, *Phlebia rufa*, *Trametes versicolor*) sur la paille de blé (0,006 UI/ml, 0,067 UI/ml, 0,028 UI/ml, 0,054 UI/ml) respectivement. Par ailleurs, Salhi Mohand Oussaid (2004), rapporte des activités de 1,8 ; 0,1 ; 0,9 et de 15,0 UI/ml pour les CMCases après culture des souches *A. niger*, *T. reesei*, *T. viride* et *A. fumigatus* respectivement, sur le grignon d'olive.

Ainsi Triverdi et Kao (1979) rapportent des activités allant de 0,75 à 1,2 UI/ml pour les CMCases de *Aspergillus fumigatus* après culture de 12 jours en présence d'autres sources de lignocellulose (paille de blé, paille de riz, bagasse et canne à sucre). De plus, Quiroz (2009), en étudiant les cultures de pourritures blanches sur la paille de blé (*Bjerkandera adusta* et *Pycnoporus sanguineus*) ont montré des activités CMCases de 0,96 UI/g de MS et de 0,65 UI/g respectivement.

Une production élevée de cellulases (APF CMCCase) a été enregistrée sur le son de blé par rapport à la paille de blé comme substrat. Cette différence est peut être due à la différence des éléments constitutifs de base des deux substrats (Tableau II, III). Selon Campbell et Sederoff (1996) cité par Salhi Mohand Oussaid (2004), la composition varie selon l'espèce végétale considérée, l'âge de la plante et la nature des tissus végétaux. Lors de la formation de ces tissus, c'est à dire lors de la polymérisation, les réactions secondaires entraînent la liaison entre la lignine et les hémicelluloses, ces matrices associatives entourent les fibres de cellulose pour former une barrière physique qui protégerait la cellulose de l'attaque enzymatique.

Selon Smith et *al.* (1996) cité par Chandra et *al.*, (2007), la production importante de cellulases sur le son de blé est due à sa composition, sa texture relâchée dans les conditions humides et sa grande surface de croissance. De plus, Vidaud et *al.*, (1982) ont rapporté que l'accessibilité des cellulases à la cellulose dépend des propriétés de surface des fibres, des liaisons entre les fibres, des liaisons entre les divers constituants, de la taille des particules, tandis que sa dégradation est liée à son degré de cristallinité. En effet, selon les travaux de Gal (1997) ainsi que ceux de Matthews et *al.* (2006) cités par Alarcon – Gutiérrez (2007), l'une des principales limitations de l'activité des cellulases est l'insolubilité de la structure cristalline de la cellulose qui constitue un obstacle pour la fixation des différentes cellulases sur leur substrats respectifs. Ainsi, la première étape de la dégradation de cellulose vise à fragiliser sa structure cristalline pour la rendre amorphe et permettre ainsi l'attaque des différentes cellulases. A noter néanmoins, que la proportion de cristallinité des microfibrilles est très variable chez les végétaux. Par contre, il existe dans les microfibrilles de cellulose, des zones naturellement amorphes qui constituent des substrats directement disponibles pour l'attaque séquentielle des différentes cellulases.

Les activités élevées de CMCCase dans les substrats fermentés se traduit par la sécrétion d'endoglucanases qui libèrent le nombre maximum d'emplacements accessibles dans la chaîne de cellulose aux étapes initiales. Cependant, la diminution de l'activité

cellulasique après le seuil maximum peut être due à la production des métabolites résultant du métabolisme microbien. En effet, selon Santos (2011), la faible production de cellulases résulte principalement des phénomènes d'inhibition exercés par le produit (glucose, cellobiose) sans compter l'épuisement nutritif, empêchant ainsi la croissance des mycètes et la production des enzymes.

# *Conclusion*

### Conclusion

L'objectif principal visé dans notre travail consiste en l'étude pratique de la croissance et de la production des cellulases, par fermentation sur substrats solides à base de son et la paille de blé, à partir d'une souche locale *Bjerkandera sp.*

Certains paramètres de la fermentation de la souche fongique étudiée ont été suivis, tels que la croissance (matière sèche), le pH du milieu de culture, la synthèse protéique ainsi que la production des cellulases.

La cinétique de croissance de *Bjerkandera sp.* a montré un maximum de biomasse de l'ordre de 60% et de 58% sur le son de blé et la paille de blé respectivement.

La variation du pH du milieu au cours de la fermentation indique une légère augmentation les premiers jours, suivie par une diminution atteint une valeur de 5,72 le 4<sup>ème</sup> jour sur le son de blé et 5,74 sur la paille de blé le 19<sup>ème</sup> jour.

Par ailleurs, la production de protéines atteint un maximum de 0,93mg/ml sur le son de blé, tandis que sur la paille de blé est estimée de 0,44 mg/ml. Cependant, une diminution au-delà des optima a été enregistrée.

L'étude de la synthèse des cellulases, durant la fermentation a montré une activité papier filtre de 31,74 UI/g et CMC<sub>case</sub> de 37,51 UI/g sur le son de blé. Cependant, des activités inférieurs ont été obtenues sur la paille de blé de l'ordre de 7,11 UI/g et de 15,68 UI/g pour l'activité totale et CMC<sub>case</sub> respectivement.

A travers ces résultats, nous remarquons donc l'intérêt de poursuivre les investigations des champignons à usage industriel pour la production de métabolites, particulièrement les cellulases tout en valorisant les déchets agro-industriels.

Au terme de cette étude, nous constatons la possibilité d'obtenir des cellulases à partir de *Bjerkandera sp.* sur le son de blé et la paille de blé. Cependant, ces résultats restent partiels et préliminaires et d'autres travaux s'imposent car les approches sont globales. Aussi, il serait intéressant d'approfondir cette étude par :



- 👉 L'optimisation de la production des cellulases ; il s'agit de chercher les conditions optimales de croissance et de production telles que la taille de l'inoculum, température de croissance, pH initial du milieu...etc.
- 👉 Le dosage de l'activité  $\beta$ -glucosidase ;
- 👉 La recherche de la production des enzymes dégradant la lignine (laccases) ;
- 👉 L'ajout des sels minéraux pour enrichir le milieu de culture et par conséquent la production des cellulases ;
- 👉 La réalisation d'une co-culture entre les champignons cellulolytiques, ceci peut entraîner une augmentation de protéines et également une amélioration de la dégradation de la cellulose. De plus, ce type de culture peut réduire ou éviter le prétraitement physique ou chimique généralement préconisé avant la culture de champignons sur les substrats cellulosiques ;
- 👉 Tester d'autres déchets utilisés tels que la sciure, la bagasse et le grignon d'olive.

*Références  
bibliographiques*

## références bibliographiques

### A

**Alarcon-Gutiérrez E. (2007).** Influence de facteurs abiotiques sur la régulation des paramètres microbiens impliqués dans la dégradation de la matière organique d'une litière forestière méditerranéenne. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Environnement, Université Paul Césanne, Marseille, 226 p.

**Assamoi A, Destain J, Thonart P. (2009).** Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- $\beta$ -1,4-xylanases de moisissures : le cas de *Penicillium canescens*. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. Vol 13 No 2, pp : 281-294.

**Attria S.H et Ashour S.M. (2002).** Biodegradation of agro-industrial orange waste under solid state fermentation and natural environmental conditions. Egyptian Journal of biology. No 4, pp : 23-30.

### B

**Barnoud F. (1980).** La cellulose dans « les polymères végétaux ». Ed : par Monties, publication Gauthier-Villars. Paris. pp : 66-68.

**Belalia.R. (2006).** Synthèse d'un biocide par modification chimique de chitosane préservation du bois préservation des aliments. Thèse de Doctorat Sciences de bois. Université Bordeaux, Bordeaux, 121p.

**Belhamiche N., Duchiron F. et Benallaoua S.** Screening of fungal strains producing cellulases by solid fermentation. *Proceeding of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7). 4 – 7 October 2011, Arcachon, France*, Edited by Jean-Michel Savoie, Marie-Foulongne Oriol, Michèle Largeteau et Gérard Barosso. INRA UR1264, Mycology and food safety, Bordeaux, France: Vol 2. pp 163-167.

**Bellon-Maurel V., Orliac O. & Christen P., (2003).** Sensors and measurements in solid-state fermentation: a review. *Process Biochem.*, No 38, pp : 881-896.

**Bensmira S. (2006).** Isolement et caractérisation de souches fongiques de milieux extrêmes (Sol et Sebkhha de la région de Biskra) productrices de cellulase thermostable à intérêt industriel. Mémoire de Magistère En Biochimie –Microbiologie Appliquées. Université Mentouri-Constantine, 77 p.

### C

- CAFA (Centre Académique de formation de l'administration). (2002).** Sciences appliquées à l'hygiène Lyon. France. 34p.
- Chandra M.S, Viswanath B, Reddy B.R. (2007).** Cellulolytic enzymes on lignocellulosic substrates in solid state fermentation by *Aspergillus niger*. Indian J. Microbiol No 47, pp : 323–328
- Carlile M. J., Watkinson S. C. (1997).** The fungi, Academic Press, New York, N.Y. pp: 269-275.
- Cordonnier R.E., Bayonone C.L., Baumes R.L. (1986).** Données récentes sur les précurseurs d'arômes du raisin, perspectives de leurs exploitations en vinification. Rev. Fr. Oenol. No 102. pp :29-41.
- Cullen D et Kersten P. (1992).** 4 Fungal enzymes for lignocellulose degradation. In: Kinghorn, JR et Turner G. Applied molecular genetics of filamentous fungi. Chapman et Hall. New York, pp. 100-131.
- Cullen D. and Kersten P.J. (2004).** Enzymology and molecular biology of lignin degradation. Biochem. Mol. Biol. No 13: pp : 249-263.
- Cuverllier G.F. (1993).** production des enzymes.in Scriban R. , Biotechnologie .4<sup>ème</sup> Edition : Lavoisier. 904p.

### D

- Daniel G, Volc J. and Kubatova E. (1994).** Pyranose oxidase, a major source of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> during wood degradation by *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* and *Oudemansiella mucida*. Applied and Environmental Microbiology, No 60, pp : 2524-2532.
- Dekker R.F. et Linder H. (1979).** Bio utilization of lignocellulosic waste materials. A review South African journal of science No 75, pp : 65-71.
- Dinis B. (2009).** Modification of wheat straw lignin by solid state fermentation with white-rot fungi. University of Trás-os-Montes and Alto Douro. 53p.
- Doelle, H.W., Mitchell, D.A. and Rolz, C.E. (1992).** Solid substrate cultivation. Edition: Elsevier Applied Science. New York. 466 p.
- Duchiron F, et Copinet. E. (2011).** Fermentation en milieu solide (FMS). BIO 620. pp 1-13.
- Durand A. (2003).** Bioreactor designs for solid-state fermentation. Biochem. Eng. J., No 13, pp 113-125.

### *E*

**Enoki A., Tanaka H., Fuse G. (1988).** Degradation of lignin-related compounds, pure cellulose, and wood components by whit-rot and brown-rot fungi. *Microbiol.* No 60, pp: 2524-2532.

**Evans D.A., Bravo J.E. (1983).** Plant protoplast isolation and culture. *Int.Rev.Cyt.Supl.* No 16, pp 33-53.

### *F*

**Fonty G. et Chaucheyras-Durand F. (2007).** Les écosystèmes digestifs. Edition : technique Documentation, Paris, 331p.

**Fujita Y., Takashashi S., Ueda M., Tanaka A., Okada H., Morikawa Y., Kawaguchi T., Arai M., Fukuda H., Kondo A. (2002).** Direct and efficient production of ethanol from cellulosic material with a yeast strain displaying cellulolytic enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 68 No10, pp : 5136-5141.

### *G*

**Gervais P. & Molin P. (2003).** The role of water in solid-state fermentation. *Biochem. Eng. J.*, No 13, pp 85-101.

**Ghose T.K. (1987).** Measurement of cellulose activities .*Pure and Appl.Chem*, vol.59, No.2, pp: 257-268.

**Gusakov A.V., Sinitsyn A.P., Markov A.V., Skomarovsky A.A., Sinitsyna O.A., Berlin A.G., Ankudimova N.V. (2000).** Indigo-binding domain in cellulase molecule. *Biocatalysis Fundamentals and applications.* pp: 340-348

### *H*

**Hollmann, J., and Lindhauer, M. G. (2005).** "Pilot-scale isolation of glucurono-arabinoxylans from wheat bran." *Carbohydrate Polymers*, Vol 59 No 2, pp : 225-230.

**Howard R.L., Abotsi E., Jansen van Rensburg E.L., Howard S. (2003)** Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology.* Vol. 2 No12, pp. 602-619.

### J

**Jaradat J., Dawaagrah A., Ababnah Q., Saadoun I., (2008).** Influence of culture conditions on cellulose production by *Streptomyces sp.* Jordan journal of biological sciences. Vol 1. No.4. pp : 141- 146.

### K

**Kalisz H.M, D. A. Wood D. and D. Moore. D. (1987).** Production, regulation and release of extracellular proteinase activity in basidiomycete fung. Trans. Br. mycol. Soc.Vol 88, No 2, pp 221-227.

**Kalra M.K; Sidhu M.S, Sandhu D.K, and Sandhu R.S. (1984).** Production and regulation of cellulases in *Trichoderma harizianum*. Appl Microbiol Biotechnol, No 20, pp: 427-429.

**Kubicek C.P., Messner R., Gruber F., Mach R.L. Kubicek Pranz E.M.(1993).** The *Trichoderma* cellulase regulatory puzzle: from the interior life of a secretory fungus. Enzyme Micro. Technol. No 15. pp: 90-99.

**Kunamneni A.,Kugen P.,and Suren S.(2005).** Amylase production in solid state fermentation by the thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus*. Journal of Bioscience and Bioengineering, pp: 100,168-171.

### L

**Lechien V. (2009).** Etude des propriétés physicochimiques de celluloses fossiles non biodégradables. Thèse de doctorat.Université de liège, Europe, 132 p.

**Lekounougou S. (2008).** Evaluation et Compréhension des Mécanismes fongique impliqués dans la dégradation du bois. Sciences du Bois. Université Henri Poincaré, France, 147p.

**Lowry O.H ; Rosebrough N.J ; Farr A.L et Randall, R.J.(1951).** Protein measurement with Folin phenol reagent. J.biol.Chem. pp : 193, 265-275.

**Lynd L. R., Weimer P. J., Van Zyl W.H., and Pretorius I. S. (2002).** Microbial CelluloseUtilization: Fundamentals and Biotechnology. Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol 66 No 3, pp: 506-577.

### M

**Madamwar D and Patel S. (1992).** formation of cellulases by coculturing of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger* on cellulosic waste. Word journal of Micribiology and Biotechnology. No 8, pp : 183-186.

**Mandels . M 1975.** Microbial sources of cellulase. Biotechnolol and bioeng. Symp.No.5, pp : 81-105.

**Mathot P. (1996).** Modélisation d'un réacteur simplifié pour la fermentation solide de produits et sous-produits agricoles. Valorisation de l'aliment fermenté par le porc. Thèse de Doctorat, Université des Sciences agronomiques de Gembloux, (Belgique).192p.

**Mazza, M., (2009).** Modification chimique de la cellulose en milieu liquide ionique et CO<sub>2</sub> supercritique. Thèse de doctorat Sciences des agroressources, Toulouse, 171p.

**Miller G.L. (1959).** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Biotechnol. Symp Vol.5, pp : 193-219.

**Mouranche A., Costes C. (1985).** Hydrolases et dépolymérase enzymes d'intérêt industriel. Edition : Gauthier- Villars.418p

**Muniswaran P ; Charyulu N. (1994).** Solid substrate fermentation of coconut coir pith for cellulase production. Enzyme Microb Technol, No 16, pp : 436–440.

### N

**Nishikawa K., Yekta A., Pham H.H., and Winnik M.A. (1998).** Fluorescence studies of hydrophobically modified hydroxyethylcellulose (HMHEC) and pyrenelabeled HMHEC. Langmuir, No 14, pp : 7119-7129.

### O

**Odier E., Rouau X. (1985).** Les cellulases et les enzymes de dépolymérisation de la lignine. Edition : Gauthier-Villard. Paris, pp : 198-237.

**O'DWYER.J P. (2005).** Developing a fundamental understanding of biomass structural features responsible for enzymatic digestibility .Doctor of philosophy. Texas A&M University, 313 p.

**Ogier J.-C, Ballerini D, Leygue J.-P. Riga. L Pourquoié.J. (L1999).** Pourquoié J Production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique. *Oil & Gas Science and Technology - Revue de l'IFP*, Vol 54, No 1, pp : 67-94

### *P*

**Peiterson N., Anderson B. (1978).** Fermentation of barley straw by *Trichoderma viride*: Recovery and nutritive value of the fermentation product. *Aiche. Symposium. Series.* Vol 74 No 172. pp:100-104.

### *Q*

**Quiroz-Castañeda R.E, Balcázar-López E, Dantán-González E, Martínez A, Folch-Mallol J, Martínez Anaya C.(2009).** Characterization of cellulolytic activities of *Bjerkandera adusta* and *Pycnoporus sanguineus* on solid wheat straw medium. *Electronic Journal of Biotechnology.* Vol.12 No.4, pp : 1-8.

### *R*

**Rahardjo Y.S.P., Tramper J., Rinzema A. (2006).** Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: a review and perspectives. *Biotechnol. Adv.,* Vol 24 No 2, pp 161-179.

**Raimbault M. (1983).** Fermentation en milieu solide, croissance de champignons filamenteux sur substrat amylicé. Paris, pp:1-42.

**Raimbault M. (1981).** Fermentation en milieu solide : croissance de champignons filamenteux sur substrat amylicé. Edition : l'office de la recherche scientifique et technique Outre –mer. Paris. 290 p.

**Raimbault M. (1998).** General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electron. J. Biotechnol., Laboratoire de Biotechnologie Microbienne Tropical.* EJB Electronic Journal of Biotechnology Vol 1 No 3, pp 1-15.

**Reguant J, et Rinaudo M (1999).** Etude bibliographique sur les matériaux issus de la biomasse végétale. CRS ; pp 1-164

**Res D. Vian B. et Bajon C. 2006.** Le monde des fibres. (Eds), Belin, Paris, pp. 17-26.

**Receveur V., Czjek M., Schulein M., Panine P., Henrissat B. (2002).** Dimension, shape, and conformational flexibility of two domain fungal cellulases in solution probed by small angle X-ray scattering. *The journal of Biological Chemistry.* Vol 277, No 43. pp: 40887-40892.

**Riccio P., Rossano R., Vinella M., Domizio P., Zito F., Sansevrino F., D'elis A., Rosi I. (1999).** Extraction and immobilisation in one step of two  $\beta$ -glucosidases released from



## Références bibliographiques

---

yeast strain of *Debaryomyces hansenii*. *Enzyme and Microbiol Technology*. No 24, pp : 123-129.

**Roussos S (1987)** croissance de *Trichoderma harzianum* par fermentation en milieu solide, physiologie, sporulation et production de cellulases. Etudes et thèse Doctotat Sciences Naturelles, Instotut français de recherche scientifique pour le développement en coopération, Paris, 193p.

**Roussos et Hanniball. (1984)**. Valorisation biotechnologique de la bagasse par la production (au niveau pilote) d'enzymes de champignons filamentaux cellulolytique. Institut Français de recherche scientifique pour le développement en cooperation.France, 56p.

**Roussos S et Raimbault M. (1982)**. Hydrolyse de la cellulose par les moisissures production de cellulases de *Trichoderma harizianum* par fermentation au milieu Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur). pp : 465-474.

**Roussos S, Raimbault M, G. Viniegra Ganzalez G , Saucedo Castaneda G and Lonsane B.K. (1991)**. Scale-up of cellulases production by *Trichoderma harizianum* on a mixture of sugar cane bagasse and wheat bran in solid state fermentation system. MICOL. NEOTROP. APL. No 4, pp : 83-98.

### S

**Salhi mohand oussaid O. (2004)**. Valorisation des sous produits et déchets lignocellulosiques par la culture de microorganismes cellulolytiques. Thèse Doctorat. Institut National Agronomique El- Harrach (Alger).138p.

**Sall S-N. (2004)**. L'importance des relations résidus végétaux- communautés microbiennes sur les processus de décomposition dans un sol ferrugineux tropical (Sénégal): effet de la disponibilité de l'azote. Thèse de Doctorat. Université Paris XII Val De Maane.108p.

**Santos T.C. CavalcantiI Renata SI, BonomoI Nivio C.F, Marcelo FrancoI B.S. (2011)**. Optimization of productions of cellulolytic enzymes by *Aspergillus niger* using residue of mango a substrate. *Ciência Rural*, Santa Maria. Vol.41, No.12, pp : 2210-2216.

**Scriban R., (1993)**. *Biotechnologie*. 4eme édition. Tech. et Doc. Lavoisier. Paris. pp. 396-356.

**Scriban R. (1999)**. *Biotechnologie* :5ème édition. Technique et documentation Edition : Lavoisier, pp :149-157.

## Références bibliographiques

---

**Singh A; Abidi A.B; Darmwal N.S and Agrawal A.K. (1989).** Production of protein and cellulase by *Aspergillus niger* in solid state culture. Mircen journal. No 5, pp : 451-456.

**Smant G., Stokkermans JP.W.G., Yan Y., De Boer J.M., Baum T.J., Wang X., Hussey R.S., Gommers F.J., Henrissat B., Davis E.L., Helder J., Schots A., Bakker J.(1998).** Endogenous cellulases in animals: Isolation of  $\beta$ -1,4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes. Biochemestery. Vol 95, No 9. pp: 4906-4911.

### T

**Tahir Nadem M. (2009).** Production, purification, and characterization of carboxymethyl cellulase for food application. Doctor of Philosophy. National Institute of Food science and technology. University of agriculture, Faisalabad, 189 p.

**Tangu S.K., Blanche H.W., Wilke C.R.(1981).** Enhanced production of cellulase, hemicellulase and beta- glucosidase by *Trichoderma reesei* Rut c-30. Biotechnol. Bioeng. No 23. pp 1849-1873.

**Takagi M.et Moriuchi H.(1994).** Rhizopus niveus In: Houi Y. et Khachatourian G food biotechnology. VCH Publisher, Inc, pp.535-548.

**Tewes A., Glund K., Walther R., Reinbothe H.(1984).** High yeild isolation and rapid recovery of protoplasts from suspension cultures of tomato (*lycopersicon esculentum*). Z.Pflanzenphysiol. No 113. pp :141-150.

**Tourrassé O. (2005).** Construction et utilisation d'une banque d'ADN génomique pour la recherche de gènes d'intérêt industriel chez *Penicillium funiculosum* par analyse trans-cryptomique différentielle. de Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénierie. Université de Toulouse, 198p.

**Triverdi L.S and Rao K.K. (1979).** Production of cellulolytic enzymes by *Aspergillus fumigatus*. Experimental Biol ; No 17, pp 671-674.

### V

**Van Wyk G.P.H., Mogale A.M., Seseng T.A.(2001).** Bioconversion of waste paper to sugars by cellulase from *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *Penicillium funiculosum*. The journal of Solid Waste Technology and Management. Vol 27, No 2, pp : 1-5.

## Références bibliographiques

---

**Vidaud C., Roussos S ; Rimbault M et Deschamps F. (1982).** Effet de divers prétraitements sur l'accessibilité de la cellulose de la paille de blé aux cellulases de *Trichoderma harizianum*. No 46, pp 17-23.

### X

**Xu B., Hellman U., Ersson B., Janson J.C. (2000).** Purification, characterisation and aminoacid sequence analysis of a thermostable, low molecular mass endo- $\beta$ -1,4-glucanase from blue mussel, *Mytilus edulis*. Euro. J. Biochem.No 26, pp:4970-4977.

### Y

**Yapi A. (2008).** Caractérisation biochimique et applications potentielles des glucosidases et de l' $\alpha$ -galactosidase du suc digestif de la larve de *rhynchophorus palmarum* (curculionidae). Doctorat. Université Adjam Abidjan, 135p.

### Z

**Zeitoun R. (2011)** procédés de fractionnement de la matière végétale application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé. Thèse Doctorat en science des agro-ressources, institut National polytechnique de l'université de Toulouse, 273p.

**Zermane F. (2008).** Etude des caractéristiques culturelles des actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse. Thèse Magistère en Microbiologie appliquée. Université Mentouri, Constantine. 126p.

# *Annexes*

## Annexe 1

**Tableau I :** Inventaire des principales fibres disponibles à l'échelle mondiale (Reguant et Rinaudo, 1999).

Source de fibres	Milliers tonnes fibres sèches *
Bois	1 750 000
Pailles (Blé, riz, orge, avoine, seigle, lin)	1 145 000
Tiges (maïs, sorgho, coton)	970 000
Bagasse de canne à sucre	7 5 000
Roseaux	30 000
Bambou	30 000
Fibres de Coton	15 000
Tiges (jute, kénaf, chanvre)	8 000
Papyrus	5 000
Péribériennes (jute, kénaf, chanvre)	2 900
Linters de coton	1 000
Alfa	500
Feuilles (sisal, abaca, henequen)	480
Sabai (herbe à éléphant)	200

\* disponibilité par an

**Tableau II :** Principaux substituant des dérivés commerciaux de la cellulose (Reguant et Rinaudo, 1999).

produit	Groupement fonctionnel
Nitrate de cellulose	-NO <sub>2</sub>
Acétate de cellulose	-C(O)CH <sub>3</sub>
Xanthate (intermédiaire)	-O-CSSNa
Carboxyméthylcellulose	-CH <sub>2</sub> COONa
Méthylcellulose	-CH <sub>3</sub>
Hydroxyéthylcellulose	-[CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O] <sub>x</sub> H (x=1,2,3,...)
Hydroxypropylcellulose	-[CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )O] <sub>x</sub> H(x=1,2,...)
Ethylcellulose	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

## Annexe II

**Tableau III** : Matériel analytique utilisé.

Matériel	Marque
Microscope optique	ZEISS
Plaque agitatrice chauffante	VELP
Vortex	VELP
Balance analytique	OHOUS
centrifugeuse	SIGMA
Spectrophotomètre UV-visible	UV mini
pH mètre	HANNA
Micro pipette	Biocontrol
Etuve	Memmert
Bain marie	Memmert
Mixeur	Moulinex
Four Pasteur	Heraeus

### ✚ Milieu Malt gélosé

Extrait de Malt : 30 g

Agar : 15 g

pH 5

Eau distillée : 1000 ml

Autoclaver 20 minutes à 120° C.

### ✚ Réactif de DNS

➤ Réactif à l'acide 3, 5-D.N .S :

DNS : 5 g

NaOH : 8 g

Tartrate de sodium- potassium : 150 g

} Ajuster à 500 ml de l'eau distillée.

### ✚ Tampon citrate (0,05 M ; pH 4,8)

Acide citrique : 10,5 g

Eau distillée : 1000 ml

NaOH : (50-60 g)

## Annexe III

### Dosage des protéines (méthode de Lowry et *al*, 1951)

#### Réactif utilisés

Solution de B.S.A. à 200 µg/ml

Solution (A) : 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ;

Solution (B) : 0,5% CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O in 1% tartrate de sodium-potassium ;

Solution (C) : 50 ml (A) + 2 ml (B) ( à préparer au moment de la manipulation) ;

Solution (D) : NaOH (1N) ;

Solution (E) : réactif de Folin-Ciocalteus dilué 1/2 ;

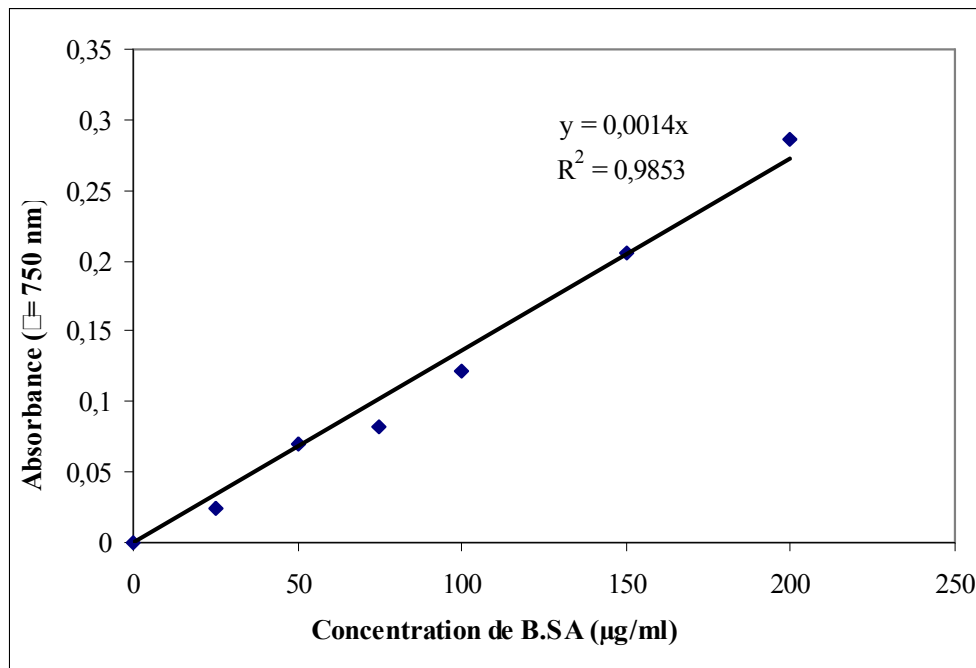
#### Méthode de mesure

➤ **Courbe étalon de la B.S.A.**

- Préparer des solutions de B.S.A. diluées de concentrations croissantes : 0 , 25 , 50 , 75 , 100, 150 , 200 µg/ml à partir de la solution mère 200 µg/ml.
- Prélever de chaque tube 0,5 ml ; le tube témoin contient 0,5 ml d'eau distillée ;
- Ajouter dans chaque tube 0,5 ml de la solution (D) et 2,5 ml de la solution (C) ;
- Laisser reposer pendant 10 min ;
- Ajouter dans chaque tube 0,5 ml de la solution (E) ;
- Incuber pendant 30 min à l'obscurité.

➤ **Lecture de l'absorbance**

La lecture de l'absorbance est effectuée à 750 nm après avoir étalonner le spectrophotomètre avec le témoin.



**Figure 1:** Courbe d'étalonnage de B.S.A.



## Annexe IV

### Méthode de mesure des activités enzymatiques

#### \*Activité papier filtre

##### Solution à préparer

Solution mère de glucose à 10 g/l

Réactif de D.N.S.

Tampon citrate de sodium (50 mM ; pH 4,8)

**Gamme étalon** : Solution mère de glucose à 10g/l

Dilution	1/5	1/3	1/2	1/1,5
[glu] en mg/ml	2.0	3.3	5.0	6.7
Quantité de glucose ( $\mu\text{g}/250\mu\text{l}$ )	500	825	1250	1675

##### Protocole

	Gamme	Témoin enzyme	Enzyme
<b>Papier filtre</b>	/	/	1
<b>Tampon (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	500	500	500
Equilibrer la à 50°C pendant 10 min			
<b>Glucose (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	250	/	/
<b>Enzyme (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	/	250	250
Incuber pendant 60 min			
Arrêter la réaction en ajoutant 1,5 ml de DNS			
Placer 5 min à 100°C			
Refroidir dans un bain d'eau glacée			
Attendre 20 min ou centrifuger afin d'éliminer la pulpe			
Prélever 500 $\mu\text{l}$ de milieu réactionnel et ajouter 1,0 ml d'eau déminéraliser			

## Lecture de l'absorbance

La lecture de la densité optique est effectuée à 540 nm après avoir étalonner le spectrophotomètre avec le témoin contenant de l'eau distillée.

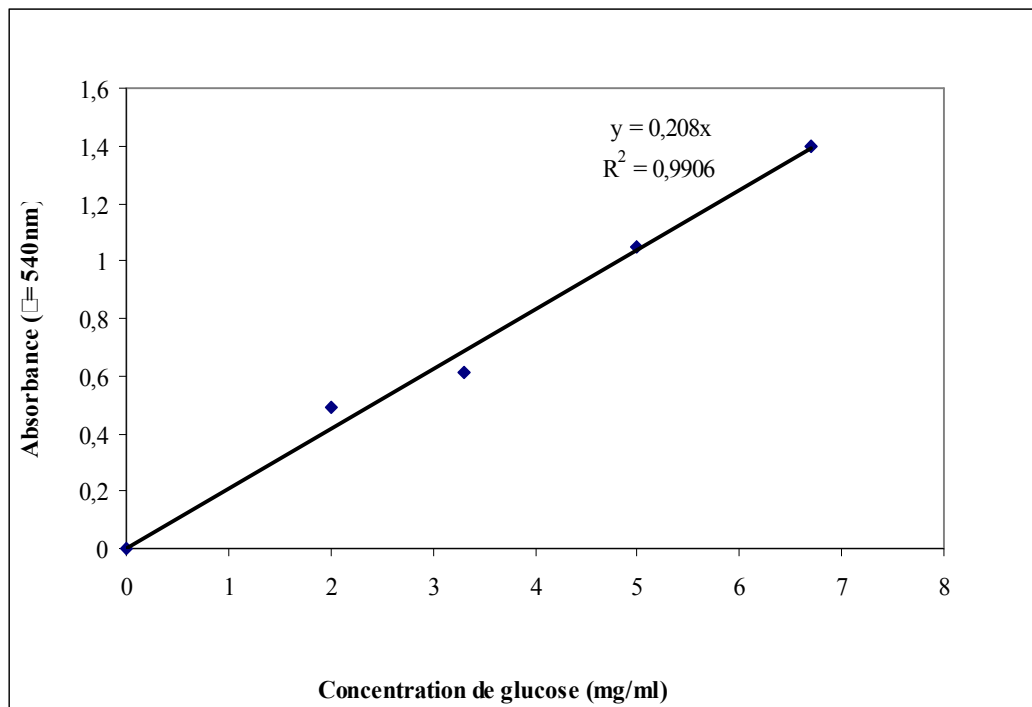


Figure 2: Courbe d'étalonnage de glucose (10g/l).

## \*Activité CMCase

### Solution à préparer

Solution mère de glucose à 2 g/l

Réactif de D.N.S

Tampon citrate de sodium (50 mM ; pH 4,8)

Substrat : carboxyméthylcellulose (CMC) à 2%, préparé dans du tampon citrate (50 mM ; pH 4,8).

**Gamme étalon** : Solution mère de glucose à 2 g/l

Dilution (dans le tampon)	1/4	1/2	1/1.5	ND
[glu] en mg/ml	0.5	1.0	1.33	2.0
Quantité de glucose ( $\mu\text{g}/250\mu\text{l}$ )	125	250	332.5	500

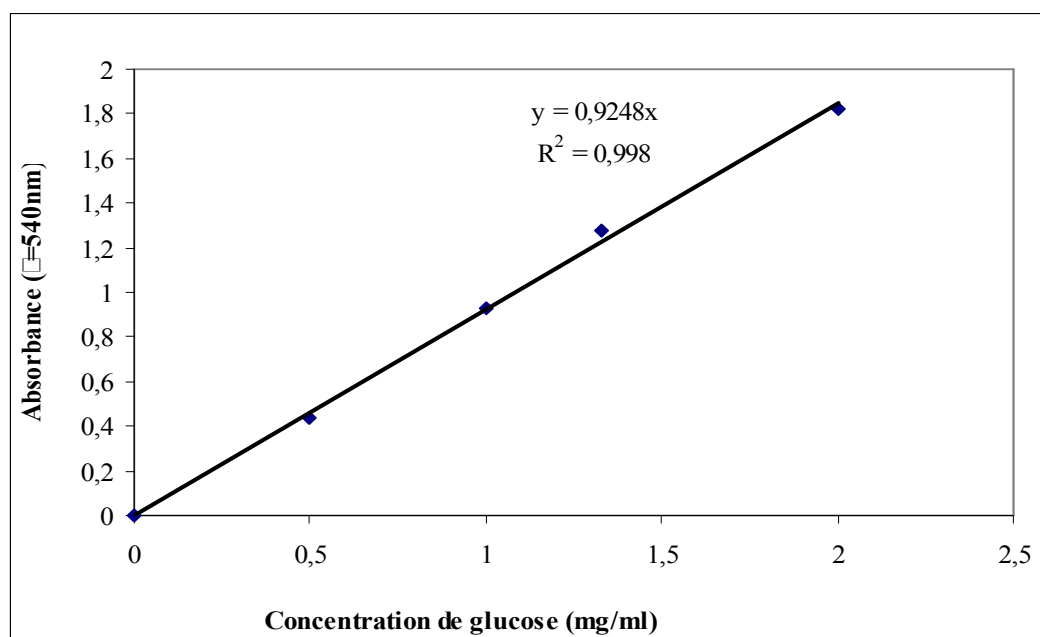
ND : non dilué.

### Protocole

	Gamme	Témoin enzyme	Enzyme
Substrat ( $\mu\text{l}$ )	250	250	250
Equilibrer à 50°C pendant 10 min			
Enzyme ( $\mu\text{l}$ )	/	/	250
Incuber pendant 30 min			
Arrêter la réaction en ajoutant 1.5 ml de DNS			
Glucose ( $\mu\text{l}$ )	250	/	/
Enzyme ( $\mu\text{l}$ )	/	250	/
Placer 5 min à 100°C			
Refroidir dans un bain d'eau glacée			

### Lecture de l'absorbance

La lecture de la densité optique est effectuée à 540 nm après avoir étalonner le spectrophotomètre avec le témoin contenant de l'eau distillée.



**Figure 3:** Courbe d'étalonnage de glucose (2g/l).

## Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de la production de cellulases (totales et carboxyméthyl cellulases) par une souche fongique *Bjerkandera sp.* sur substrats solides : le son et la paille de blé.

Certains paramètres de fermentation ont été déterminés. La croissance atteint un maximum de 60 % et de 58% de MS sur le son et la paille de blé respectivement.

Le pH varie selon le substrat. Une acidification du milieu a été constatée à partir du 2<sup>ème</sup> jour de fermentation sur le son de blé. Cependant sur la paille de blé le pH diminue à partir du 7<sup>ème</sup> jour de la culture.

La synthèse des protéines a été estimée à 0,93 mg/ml et 0,44 mg/ml sur le son et la paille de blé respectivement.

Durant la période de fermentation, de faibles activités enzymatiques sur la paille de blé, de l'ordre de 15,68 UI/g et 7,11 UI/g (cellulases totales et CMCCase respectivement) ont été notées par comparaison au son de blé dont les valeurs sont de l'ordre de 31,74 UI/g et de 37,51 UI/g (papier filtre et CMCCase respectivement).

**Mots clés :** *Bjerkandera sp.*, croissance, carboxyméthyl cellulases, activité papier filtre, fermentation solide, son de blé, paille de blé.

## Abstract

The objective of this work is the study of the production of cellulases (total and carboxyméthyl cellulases) by a fungi strain *Bjerkandera sp.* on solid substrates; the wheat bran and straw .

Some parameters of fermentation were determined. A growth reaches maximum of 60 % and 58% of DM, on the wheat bran and straw respectively.

The pH varies according to the substrate. An acidification of the medium was noted from the 2<sup>nd</sup> day of fermentation on the wheat bran. However on wheat straw the pH decreases from the 7<sup>th</sup> day of the culture.

The synthesis of proteins was estimated at 0,93 mg/ml and 0,44 mg/ml on the wheat bran and straw respectively.

During the period of fermentation, weak enzymatic activities on the wheat straw, about 15,68 UI/g and 7,11 UI/g (cellulases total and CMCCase respectively) were noted by comparison with the wheat bran whose values are about 31,74 UI/g and 37,51 UI/g (filter paper and CMCCase respectively).

**Key words:** *Bjerkandera sp.*, growth, carboxyméthyl cellulases, filter paper activity, solid fermentation, wheat bran, wheat straw.