

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 642

Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement

Spécialité : *Biochimie, biologie moléculaire et cellulaire*

Par

Fanny VINTER

Impact des laccases fongiques et des systèmes enzymatiques associés sur les propriétés et la structure de la paroi cellulaire végétale

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 18 novembre 2025

Unité de recherche : INRAE Nantes UR 1268 BIA

Rapporteurs avant soutenance :

Claire DUMON
Fabien MOUNET

Directrice de recherche, INRAE Toulouse
Maître de conférences, Université Paul Sabatier

Composition du Jury :

Président : Philippe SIMIER
Examinateurs : Claire DUMON
Fabien MOUNET
Aline VOXEUR
Cécile BARRON
Dir. de thèse : Richard SIBOUT

Professeur, Nantes Université
Directrice de recherche, INRAE Toulouse
Maître de conférences, Université Paul Sabatier
Chargée de recherche, INRAE Versailles
Chargée de recherche, INRAE Montpellier
Directeur de recherche, INRAE Nantes

Invitée et co-encadrante :

Angélina D'ORLANDO

Ingénieur de recherche, INRAE Nantes

Titre : Impact des laccases fongiques et des systèmes enzymatiques associés sur les propriétés et la structure de la paroi cellulaire végétale

Mots clés : Biomasse lignocellulosique, lignines, laccases fongiques, déshydrogénases

Résumé : La biomasse lignocellulosique est une ressource renouvelable majeure pour la production de biocarburants et de bioproducts. Sa valorisation reste toutefois limitée par la récalcitrance des lignines, polymères phénoliques complexes qui freinent la déconstruction enzymatique des parois végétales. Les approches actuelles ciblent surtout l'hydrolyse des polysaccharides, sans lever efficacement le verrou structurel imposé par les lignines. Cette thèse explore une stratégie inspirée des champignons ligninolytiques, basée sur l'action combinée d'une laccase (PcLAC1) et d'une déshydrogénase (PcODH) de *Pycnoporus cinnabarinus*. Alors que l'utilisation *in vitro* des laccases seules favorise la condensation des lignines, la synergie de ces deux protéines limite ces réarrangements et améliore la déconstruction de la biomasse.

Deux approches ont été étudiées : *in vitro*, l'application du tandem PcLAC1/PcODH sur poudre de bois de peuplier, seul ou avec des cocktails enzymatiques, a montré une augmentation des rendements de saccharification confirmée par des analyses structurales avancées. *In planta*, l'expression d'enzymes oxydatives fongiques dans *Arabidopsis thaliana* a permis d'évaluer leur capacité à modifier la structure et la teneur en lignines.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel du couple laccase/déshydrogénase pour lever les verrous liés aux lignines et ouvrent la voie à des procédés enzymatiques innovants et durables pour les bioraffineries de seconde génération.

Title : Impact of fungal laccases and associated enzyme systems on plant cell wall properties and structure

Keywords : Lignocellulosic biomass, lignins, fungal laccases, dehydrogenases

Abstract : Lignocellulosic biomass is a major renewable resource for the production of biofuels and bioproducts. Its valorization remains limited by the recalcitrance of lignin, a complex phenolic polymer that hinders enzymatic deconstruction of plant cell walls. Current approaches mostly target polysaccharide hydrolysis, without overcoming the structural barrier imposed by lignin.

This thesis explores a strategy inspired by lignin-degrading fungi, focusing on the combined action of a laccase (PcLAC1) and a dehydrogenase (PcODH) from *Pycnoporus cinnabarinus*. Although *in vitro* laccase activity alone promotes lignin condensation, the synergy of these two proteins reduces rearrangements in the polymer and enhances biomass deconstruction.

Two complementary approaches were studied: *in vitro*, the PcLAC1/PcODH tandem was tested on poplar wood, alone or with commercial enzymatic cocktails, resulting in increased saccharification yields confirmed by advanced structural analyses. *In planta*, the expression of fungal oxidative enzymes in *Arabidopsis thaliana* was used to assess their ability to modify lignin content and structure directly within cell walls.

These results highlight the potential of laccase/dehydrogenase couple to overcome lignin-related barriers and open promising avenues for innovative and sustainable enzymatic processes in second-generation biorefineries.