

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان  
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM  
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de  
l'Univers  
Département Biologie  
Laboratoire de Lamaabe



# MÉMOIRE

Présenté par

**M<sup>elle</sup> Benhazil Chahinez et M<sup>elle</sup> Gaad Rayhana**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER  
En Microbiologie et contrôle de qualité**

**Thème**

**Recherche des champignons dégradants le plastique dans  
les eaux douces**

Soutenu le 04 /07/ 2021, devant le jury composé de :

Président	M <sup>elle</sup> Bouali Wafaà	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	M <sup>me</sup> Brahimi Kholkhal Wahiba	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	M <sup>me</sup> Bensalah Fatéma	MCB	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2020/2021**

## *Remerciement*

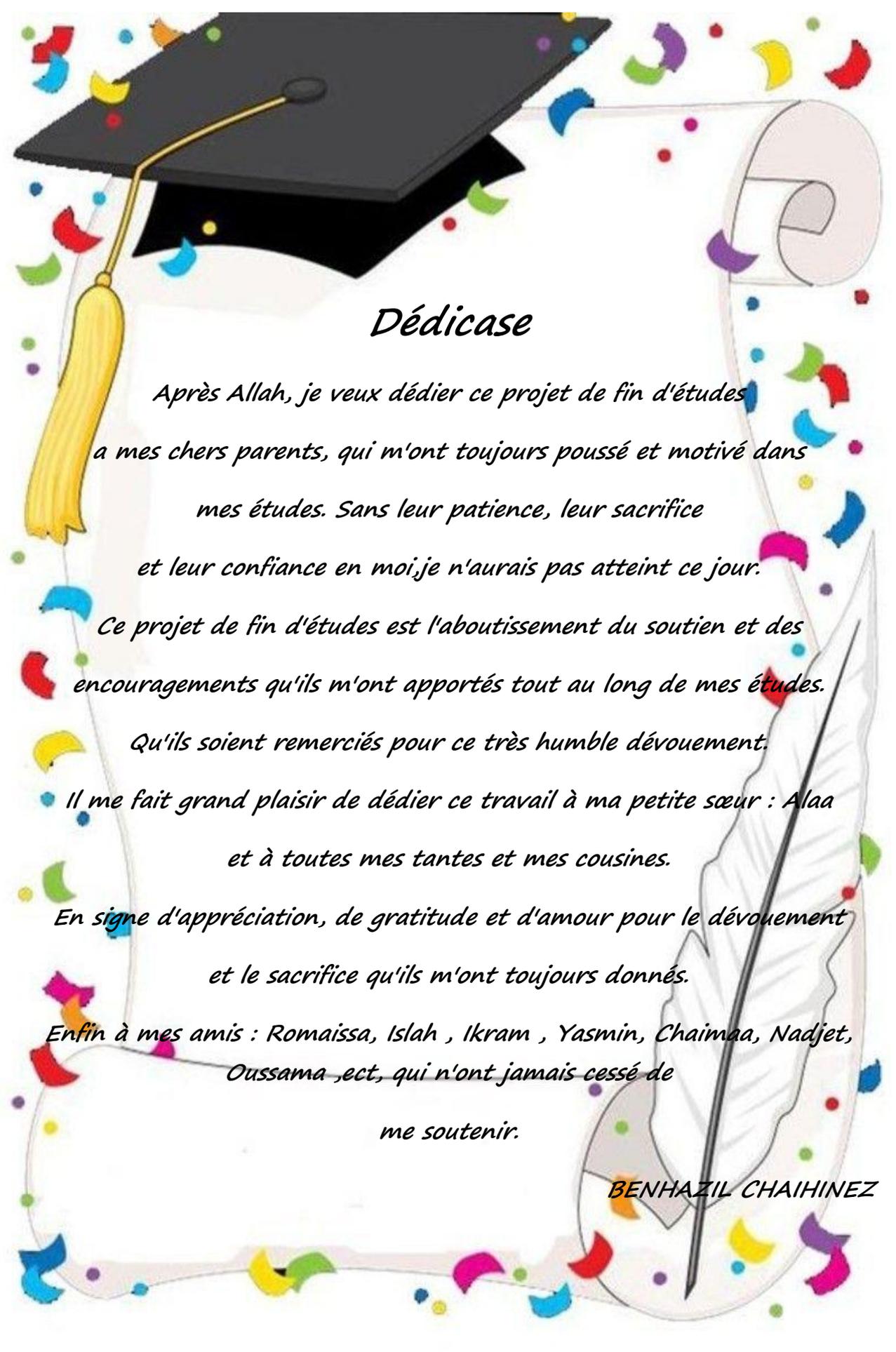
***Avant toute chose, on remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.***

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de M<sup>me</sup> Brahimi Khokhal Wahiba Conférences Classe B au département de Biologie, Université Abou bekr Belkaid-Tlemcen, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*On tient à remercier M<sup>lle</sup> Bouali Wafaà Maître de conférences Classe A au département de Biologie, université Abou bekr Belkaid -Tlemcen pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury, Qu'elle trouve ici notre sincères impressions de gratitude et de respect.*

*Nos remerciements vont aussi à M<sup>me</sup> Bensalah Fatéma Conférences Classe B à l'Université Abou-bekr Belkaid -Tlemcen, d'avoir ménagé son temps pour juger et critiquer ce travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.*

*Enfin, nous adressons nos remerciements particuliers à tous les enseignants du département de biologie et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



## *Dédicase*

*Après Allah, je veux dédier ce projet de fin d'études  
à mes chers parents, qui m'ont toujours poussé et motivé dans  
mes études. Sans leur patience, leur sacrifice  
et leur confiance en moi, je n'aurais pas atteint ce jour.*

*Ce projet de fin d'études est l'aboutissement du soutien et des  
encouragements qu'ils m'ont apportés tout au long de mes études.*

*Qu'ils soient remerciés pour ce très humble dévouement.*

*Il me fait grand plaisir de dédier ce travail à ma petite sœur : Alaa  
et à toutes mes tantes et mes cousines.*

*En signe d'appréciation, de gratitude et d'amour pour le dévouement  
et le sacrifice qu'ils m'ont toujours donnés.*

*Enfin à mes amis : Romaiassa, Islah , Ikram , Yasmin, Chaimaa, Nadjet,  
Oussama ,ect, qui n'ont jamais cessé de  
me soutenir.*

**BENHAZIL CHAIHINEZ**



## *Dédicase*

*Je dédie cette remise de diplôme à mes chers parents et à  
ma grand-mère bien-aimée, que Dieu les préserve et  
prenne soin d'eux, Notre gratitude pour tous leurs sacrifices,  
leur soutien, leur confiance et leur amour au cours  
de ma carrière universitaire.*

*À mes oncles et ma chère tante,  
ma sœur, mes frères .*

*à mes amis et tous ceux qui m'ont  
encouragé et soutenu,  
même si ce n'était qu'un mot.*

*GAAD Rayhana*

## Résumé

Un groupe d'espèces fongiques a été examiné pour sa capacité à décomposer le plastique, et il s'est avéré que la plupart des champignons isolés des débris de plastique par un lac en Suisse sont incapables de décomposer le plastique sur lequel ils ont poussé, car aucun des champignons n'a pu le faire décomposer le polyéthylène, et quelques-uns des champignons avaient la capacité isolée d'hydrolyser le polyuréthane.

L'étude d'autres champignons isolés de substrats autres que le plastique a également montré qu'ils étaient généralement incapables de dégrader le polyéthylène, seules deux espèces de champignons du marbre, *Agaricus bisporus* et *Marasmius oreades* étaient capables de dégrader le pu.

Dans une autre étude de la décomposition du PE, commencent par la microscopie électronique à balayage (MEB) jusqu'à la technique de test d'évolution du dioxyde de carbone, les souches fongiques *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* ont été isolées de morceaux de plastique enfouis dans le sol, capables non seulement d'adhérer à la surface du PE film mais aussi utilisé comme source de carbone et d'énergie.

Il a été constaté qu'il y avait une différence dans la quantité de dioxyde de carbone produite dans les tests et les bouteilles témoins, ce qui indique une plus grande dégradation du polymère par rapport au témoin.

**Mots clés :** Biodégradation, Champignons aquatiques, Plastique, Polyuréthane, *Agaricus*, *Marasmius oreades bisporus Aspergillus*, Test de Sturm.

## الملخص

تم فحص مجموعة من الأنواع الفطرية لقدرتها على تكسير البلاستيك ، واتضح أن معظم الفطريات المعزولة من الحطام البلاستيكي بواسطة بحيرة في سويسرا غير قادرة على تكسير البلاستيك الذي نمت عليه ، وذلك لعدم وجود أي من الفطريات. يمكن أن يتسبب في تكسير البولي إيثيلين ، وبعض الفطريات لديها القدرة المعزولة على تحلل البولي يوريثين. أظهرت دراسة الفطريات الأخرى المعزولة من ركائز غير البلاستيك أيضًا أنها غير قادرة بشكل عام على تحلل البولي إيثيلين ، فقط نوعان من فطريات الرخام ، *Agaricus bisporus* و *Marasmius oreades* كانا قادرين على تحلل pu. في دراسة أخرى حول تحلل البولي إيثيلين ، بدءًا من الفحص المجهر الإلكتروني (SEM) وصولًا إلى تقنية اختبار تطور ثاني أكسيد الكربون ، تم عزل السلالات الفطرية *Aspergillus niger* و *Aspergillus japonicus* من قطع البلاستيك المدفونة في الأرض ، وليس فقط القدرة على الالتصاق على سطح فيلم PE ولكنها تستخدم أيضًا كمصدر للكربون والطاقة.

وجد أن هناك اختلاف في كمية ثاني أكسيد الكربون المنتج في الاختبارات وزجاجات التحكم ، مما يشير إلى تحلل أكبر للبوليمر مقارنة بالتحكم.

**الكلمات المفتاحية:** التحلل البيولوجي ، الفطريات المائية ، البلاستيك ، البولي يوريثان ، *Agaricus* ، *Marasmius oreades bisporus Aspergillus* ، اختبار Sturm.

## **Abstract**

A group of fungal species have been examined for their ability to break down plastic, and it turned out that most fungi isolated from plastic debris by a lake in Switzerland are unable to break down the plastic they grew on, because none of the fungi could cause it to break down polyethylene, and some of the fungi had the isolated ability to hydrolyze polyurethane.

The study of other fungi isolated from substrates other than plastic also showed that they were generally unable to degrade polyethylene, only two species of marble fungi, *Agaricus bisporus* and *Marasmius oreades* were able to degrade pu.

In another study of the decomposition of PE, starting with scanning electron microscopy (SEM) through to the carbon dioxide evolution test technique, the fungal strains *Aspergillus niger* and *Aspergillus japonicus* were isolated from pieces of plastic buried in the ground, able not only to adhere to the surface of the PE film but also used as a carbon and energy source.

It was found that there was a difference in the amount of carbon dioxide produced in the tests and control bottles, indicating greater degradation of the polymer compared to the control.

**Keywords** : Biodegradation, Aquatic fungi, Plastic, Polyurethan, *Agaricus*, *Marasmius oreades bisporus* *Aspergillus*, Sturm test.

## Table des matières

Liste des tableaux

Liste des abréviations

<i>Introduction_Générale</i> .....	2
Synthèse Bibliographique .....	6
<i>Chapitre I: Les champignons</i> .....	6
I.Généralités :.....	7
I.1.Définition des champignons: .....	7
I.2.Caractéristiques généraux :.....	7
II.Morphologie des champignons:.....	8
II.1.Thalle unicellulaire :.....	8
II.2.Thalle multicellulaire : .....	9
III.Organisation cytologiques (Fig.03) : .....	10
III.1.Cytoplasme : .....	10
III.2.La membrane plasmidique :.....	10
III.3.La paroi : .....	11
III.4.Les vacuoles :.....	11
III.5.Inclusions de lipidique: .....	11
IV.La croissance des champignons: .....	12
IV.1.Les Facteurs nutritive et environnementaux:.....	12
IV.2.Mécanismes de croissance de l'hyphe :.....	13
V.La reproduction chez les champignons : .....	13
V.1.Reproduction asexué :.....	13
V.2.Reproduction sexuée :.....	14
VI.Mode de vie:.....	17
VI.1Saprophyte ou néctrophe : .....	17
VI.2. Parasite ou biotrophe : .....	17
VI.3.Symbiotique :.....	17
VII.Principales division du règne fongique :.....	17
VII.1.Terminologie de division selon (Bouchet et <i>al.</i> , 2005) :.....	17
VII.2.Les Zygomycètes :.....	18
VII.3.Les Ascomycète : .....	18
VII.4.Les Basidiomycètes:.....	18

VII.5.Les Chytridiomycètes :.....	19
VII.6.Les deutéromycètes : .....	19
<i>Chapitre II: Le plastique</i> .....	21
I.Le plastique : .....	22
I.1. Définition du plastique : .....	22
I.2. Les types de plastique :.....	23
II. La pollution par le plastique :.....	25
II.1. Le plastique dans les eaux douces :.....	26
II.2. Effet de pollution de plastique sur l'environnement : .....	27
II.3. La valorisation des déchets de plastiques :.....	28
II.4. La pollution par le plastique en Algérie : .....	28
III.La bioremédiation :.....	29
III.1. Définition : .....	29
III.2. Principe de la bioremédiation : .....	29
III.3. Les stratégies de la bioremédiation :.....	29
III.4. Les facteurs de la bioremédiation : .....	30
III.5. La mycoremédiation : .....	30
<i>Chapitre III: Les eaux douces</i> .....	22
I.Les eaux douces : .....	33
II.Les champignons des eaux douces : .....	33
II.1. Les saprophytes : .....	33
II.2. Les parasites : .....	36
Synthèse Expérimental.....	33
Matériel Et Méthodes .....	33
I. Origine des champignons: .....	39
I. 1. Echantillonnages:.....	39
I.2. Isolement des champignons :.....	40
I.3. Identification des champignons : .....	40
I.4. Test de biodégradation : .....	40
Résultats et discussion.....	39
I. Résultats : .....	45
I.1. Résultats d'isollements des champignons : .....	45
I.2. Les résultats de Biodégradations : .....	47

I. Discussion : .....	52
Conclusion générale.....	58
Référence.....	58
Bibliographique.....	58
Annexe .....	61

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1:</b> Classification du vivant selon Whittaker (1969).....	7
<b>Tableau 2:</b> Les principaux types de plastiques.....	24
<b>Tableau 3:</b> La biodégradation des plastique par certains espèces.....	31
<b>Tableau 4:</b> Liste des débris de plastique collectés dans le lac de Zurich et les types de plastique suspectés polyéthylène (PE) et polypropylène (PP). ....	39
<b>Tableau 5:</b> Liste des champignons isolés à partir de débris de plastique et de leur capacité à dégrader PE et / ou le PU, respectivement .....	45
<b>Tableau 6:</b> Champignons sélectionnés de la collection de cultures du WSL (Institut fédéral suisse de recherche sur la forêt, la neige et le paysage) isolés de débris plastiques ou de diverses autres sources et leur capacité à dégrader respectivement le polyuréthane (PU) et/ou l'acide tannique (TA).....	48
<b>Tableau 7:</b> Analyse gravimétrique de l'évolution du CO <sub>2</sub> déterminée par le test de Sturm...	51

## Liste des figures :

<b>Figure 1:</b> Aspect de levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> au microscope. ....	8
<b>Figure 2:</b> Variabilité du cloisonnement des hyphes. ....	10
<b>Figure 3:</b> Coupe longitudinale d'un hyphe montrant l'organisation cytologique de la cellule fongique. ....	12
<b>Figure 4:</b> Le cycle de vie chez le <i>Mucor</i> . ....	16
<b>Figure 5:</b> Présentation de la classification générale des champignons. ....	
<b>Figure 6:</b> L'histoire de l'invention du plastique. ....	23
<b>Figure 7:</b> La production et l'usage de plastique en Europe en 2016. ....	25
<b>Figure 8:</b> La durée de dégradation du plastique dans les habitats aquatiques. ....	27
<b>Figure 9:</b> Un échantillon de la flore d'Hyphomycètes aquatiques observée dans les cours d'eau du sud-ouest de la France. a, <i>Alatospora acuminata</i> ; b, <i>Al. fiager-lata</i> ; e, <i>Anguillospora crassa</i> ; d, <i>Ang. Curvula</i> ; e, <i>Ang. Longissima</i> ; I, <i>Ang. pseudol pseudolongis-sima</i> ; g, <i>Articulospora tetracardia</i> ; h, <i>Campylospora chaetocladia</i> ; I, <i>Campylospora sp</i> ; J. <i>Clavariopsis aquatica</i> ; k, <i>Ciavatospora longibrachyata</i> ; I, <i>Culicidospora aquatica</i> ; m. <i>Cul, gravida</i> ....	35
<b>Figure 10:</b> Une <i>Chytridiale polliniphage</i> , <i>Rhizophydium pollinis</i> . ....	36
<b>Figure 11:</b> Dégradation du polyuréthane (PU) dans des boîtes de Pétri (diamètre 9 cm) par des inoculum fongiques à température ambiante. ....	42
<b>Figure 12:</b> Micrographies MEB de A) après exposition à <i>Aspergillus Niger</i> pour 2 mois, B) après exposition à <i>Aspergillus japonicus</i> pendant 2 mois, C) non traitée. ....	50

## **Liste des abréviations :**

**DSC:** analyse d'enthalpie différentielle.

**HDPE:** polyéthylène haute densité.

**LDPE:** polyéthylène basse densité.

**Pb :** paire de baise.

**PBS:** polysuccinate de butyle.

**PCL:** polycaprolactone.

**PE :** polyéthylène.

**PEA:** polyesteramide.

**PET:** polyéthylène téréphtalate.

**PHB:** polyhydroxy.

**PP:** polypropylène.

**PS:** polystyrène.

**PU :** Polyuréthane.

**Pvc :** polychlorure de vinyle.

**TA :** Acide tannique.

**TGA:** analyse thermogravimétrique.

**UICN:** union internationale pour la conservation de la nature.

**UNEP:** programme des nations unies pour l'environnement

**Rpm :** rotation par minute.

*Introduction*

INTRODUCTION

*Générale*

GÉNÉRALE

*”Les champignons ont, pendant longtemps, été les parents pauvres de l’écologie, au point d’être totalement absents dans les schémas montrant le fonctionnement général des écosystèmes.*

*Aujourd’hui, ils deviennent l’objet de recherches de plus en plus nombreuses au fur et à mesure que l’on découvre leur importance dans les écosystèmes, mais beaucoup de choses restent à faire”.*

G. Durrieu ; Écologie des champignons

Les champignons sont nombreux, très diversifiés et omniprésents parmi tous les écosystèmes de la planète, y compris les milieux aquatiques. En tant que décomposeurs, agents pathogènes et symbiotes mutualistes avec les plantes et les animaux.

Ils jouent également un rôle clé dans les processus écosystémiques, notamment le cycle des nutriments, les bioconversions et les flux de matière et d'énergie. Ils répartissent dans le monde entier, mais différentes espèces ont des distributions géographiques distinctes qui dépendent des hôtes et du climat (**Okon et al., 2020**).

L'écosystème aquatique comprend des groupes fongiques très divers qui vivent en parasitisme ou en Saprobionte. Cependant, ils restent souvent négligés en tant qu'habitat fongique. En plus, les champignons peuvent jouer un rôle important dans l'autoépuration et la bio-dépollution du milieu aquatique de divers déchets organiques et inorganiques.

Les plastiques sont devenus des objets d'usage courant qui jouent un rôle primordial dans tous les domaines de la vie. Mais, ils sont maintenant reconnus comme une source de pollution pour l'environnement. Alors, la population mondiale continue de croître, donc, la quantité de déchets plastiques que les gens produisent augmente également. Le plastique est composé de polluants toxiques majeurs ce qui permet un potentiel d'avoir un impact négatif sur l'environnement naturel et de créer de graves problèmes pour les plantes, la faune et même la population. Les déchets en plastiques sont maintenant si omniprésents dans l'environnement naturel que les scientifiques ont même suggéré qu'ils pourraient servir d'indicateur géologique de l'ère anthropocène (**UNEP, 2020**).

La pollution de plastique est devenue l'un des problèmes environnementaux les plus urgents, car les déchets en plastiques peuvent dépasser la capacité du monde à s'en débarrasser, surtout dans les pays sous-développés. La pollution de plastique est aussi évidente en Algérie, un cas partagé par d'autres pays, et en particulier, les systèmes d'eau douce sont considérés comme les plus touchés par cette catastrophe.

L'eau est devenue une denrée de moins en moins accessible dans plusieurs régions du monde et les réserves en eau continuent de baisser depuis les 50 dernières années (**Remini, 2005**).

En Algérie, la problématique de l'eau douce sera sans doute une préoccupation majeure durant ce siècle. Quel que soit souterraine ou superficielle, l'eau subit depuis une trentaine d'année une dégradation sensible et tend à se raréfier dans l'ensemble du pays (**El watan, 2020**).

Ces dernières années, le phénomène de pollution plastique qui a touché l'ensemble du territoire de notre pays risque d'exacerber le problème de l'eau, ce qui montre à quel point il est important d'y prêter la plus grande attention. C'est pourquoi il est primordial de trouver un moyen pour protéger notre environnement.

Actuellement, il existe diverses méthodes physiques et chimiques disponibles pour l'élimination et la dégradation de divers polluants plastiques, parmi toutes les méthodes utilisées nous nous sommes intéressés à la bioremédiation car elle est la méthode la plus économique et la plus respectueuse de l'environnement. Par conséquent, la mycoremediation peut être une stratégie efficace pour s'attaquer au problème toujours croissant de la pollution des sols ou de l'eau en raison de ses multiples avantages.

La problématique fondatrice de cette recherche consiste à remettre en question comment les champignons interviennent-ils dans la biodégradation du plastiques ? Après d'essayer de questionner cette étude par le biais des questionnements suivants :

Toutes les espèces fongiques sont-ils capable de décomposer tous les types de pastiques ? Et comment ça se fait ?

En essayant de contribuer à l'étude du problème de pollution de plastique qui affecte les eaux douces afin d'atteindre notre objectif : la recherche des souches fongiques capables de dégrader différents types de déchets plastiques dans les eaux douces, d'étudier la décomposition fongique de ces polymères, et de suivre leurs propriétés physiques et chimiques afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors du processus de décomposition.

Ce manuscrit fera appel à deux parties principales, en premier lieu, à une synthèse bibliographique dans laquelle le premier chapitre exposera et décrira des généralités sur les champignons. Le second chapitre sera consacré le plastique et son rôle dans la pollution et le troisième chapitre nous allons inventorier l'eau douce est la mycoflore de cet habitat.

Par la suite à une étude expérimentale consacrée à analyser deux articles sur la biodégradation de débris de plastiques isolées de défenses écologiques.

A partir de l'interprétation des résultats expérimentaux, nous terminerons notre travail par une conclusion générale.

# *Synthèse Bibliographique*

## *Chapitre I*

### *Les champignons*

## I. Généralités :

### I.1. Définition des champignons:

Les champignons, mycètes, ou fungi, sont des organismes nucléés Eucaryotes, constituent l'un des cinq règnes de la vie (**Heitman, et al., 2017**). Bien qu'elles aient longtemps été classées comme plantes ou algues, elles diffèrent du règne végétal à bien des égards, notamment en l'absence de chloroplastes (**Romagnesi, 1970**).

Selon la classification menée par le botaniste robert **H. Whittaker en (1969)**, les champignons ne sont plus placés ni parmi les végétaux ni parmi les animaux. Ils constituent un règne autonome qu'on l'appelle le règne fongique du latin *fungus* (**Tableau 1**) (**Deysson et Delcourt, 1980**).

Ils diffèrent entre eux en termes de taille, de forme, de couleur, d'habitat et de mode de vie. Certains d'entre eux ne peuvent pas être vus à l'œil nu, certains peuvent être vus, comme la moisissure, et certains sont relativement gros, comme les champignons supérieurs (**Money, 2016**).

**Tableau 1:** Classification du vivant selon **Whittaker (1969)**. (Source : **Maurice, 2017**).

<b>Cinq règnes</b>
<b>Monera (monères)</b>
<b>Protista (protistes)</b>
<b>Plantae (végétaux)</b>
<b>Fungi (Eumycètes)</b>
<b>Animalia (animaux)</b>

### I.2. Caractéristiques généraux :

Les champignons sont des eucaryotes unicellulaires comme le cas des levures, mais la plus part sont des pluricellulaire comme les champignons filamenteux, caractérisent par la présence d'un vrai noyau, et des organites cellulaires dépourvue de chloroplastes (**Sharma, 2004**).

Ce sont des organismes non photosynthétiques, alors considérées comme hétérotrophes carbonées grâce à leur capacité d'absorber et utiliser le carbone organique comme une source de carbone (**Dighton, 2003**).

La grande majorité des champignons appartient aux groupes des thallophytes puisque leur appareil végétatif est sous forme de thalle dépourvu de tige, de feuilles et de racines (**Romagnesi, 1970**).

## II. Morphologie des champignons:

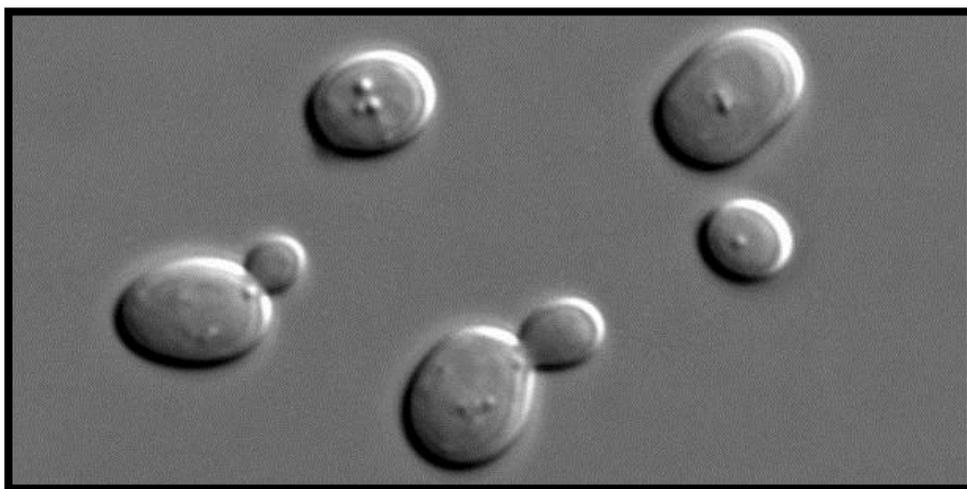
Le thalle des champignons est composé d'un ensemble de filaments appelés hyphes, ces filaments ont généralement une croissance apicale et une ramification latérale et l'ensemble des hyphes formant le mycélium (**Deysson et Delcourt, 1980**).

La plupart des champignons existent sous des formes filamenteuses, caractérisées par des structures tubulaires, ramifiées et multi-nucléées. Le diamètre des hyphes varie de 3-4  $\mu\text{m}$  à plus de 10  $\mu\text{m}$  selon les conditions environnementales, leur position dans la colonie et notamment selon d'une espèce à l'autre. On distingue deux formes principales de thalle (**Nesraoui, 2015**).

### II.1. Thalle unicellulaire :

Le thalle fongique se réduit à un état unicellulaire comme chez plusieurs *Ascomycetes*, *Basidiomycota*, *Zygomycota* et *Deutéromycota*, qui présente sous forme d'une cellule simple individualisée de forme ronde ou ovalaire prenant un aspect classique de levure ou des cellules levuriformes (**Fig.1**). Ces levures se reproduisent par une simple division ou par bourgeonnement (**McPherson et Pincus, 2011**).

On distingue les levures ascomycètes comme *Taphrina* ou levures vraies comme *Saccharomycètes*, et les levures imparfaites comme *Candida* (**Kurtzman, et al., 2011**).



**Figure 1:** Aspect de levure *Saccharomyces cerevisiae* au microscope (Source : **Ehrenberg, 2019**).

## II.2. Thalle multicellulaire :

Le thalle se forme d'un système de filaments plus ou moins ramifiés, il existe deux types de filaments (**Maheshwari, 2011**) :

### II.2.1. Filaments cloisonnés (septé) :

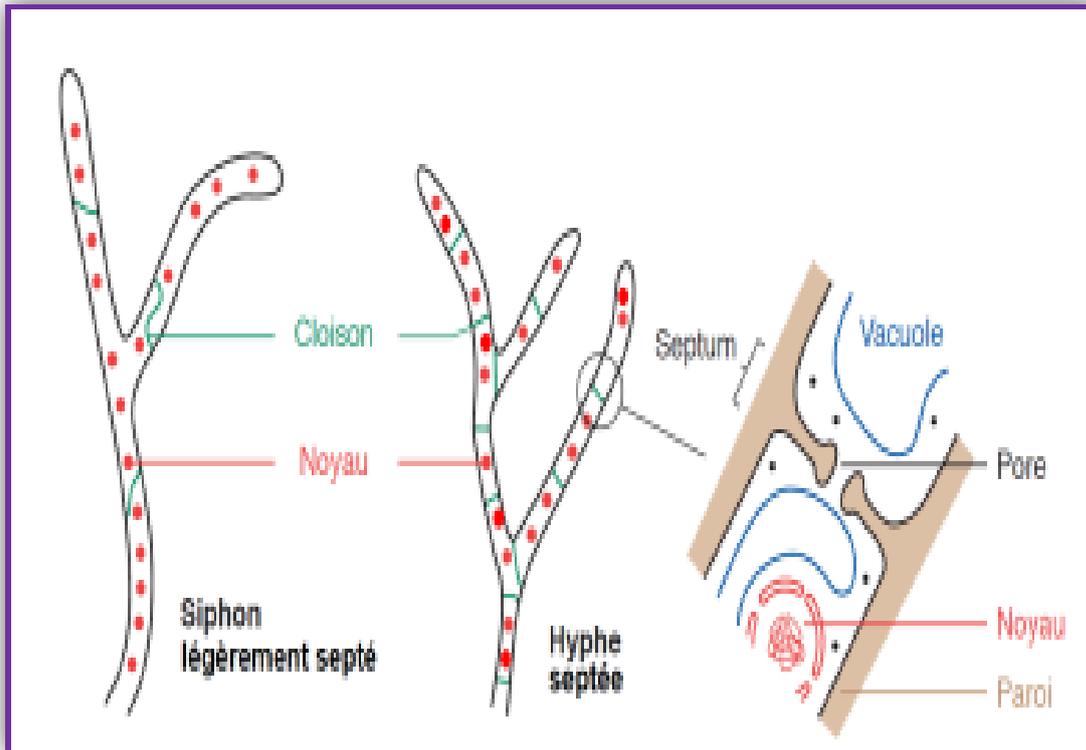
Les cellules sont cloisonnées et compartimentées entre elles par des cloisons nommées septa, chaque compartiment est une cellule à un ou plusieurs noyaux (**Fig.2**). Les cloisons sont de même composition chimique que la paroi, apparaissent quelques heures après la formation des hyphes, elles sont pourvues d'un ou plusieurs pores appelés synapses ou orifices de communication, assurant l'alimentation et l'échange cytoplasmique entre les compartiments (**Gow et Gadd, 1995**).

Et par conséquent on distingue les *Septomycètes* : *Ascomycètes* et *Basidiomycètes*. (**Sinha, 2007**).

### II.2.2. Filaments siphonné (Cénocytique) :

Le filament cénocytique est plurinucléé formé d'un amas cytoplasmique allongé avec plusieurs noyaux, qui coule librement à travers le filament à structure tubulaire, dépourvu de cloisons transversales (**Fig.2**) (**Sinha, 2007**).

Les cloisons intercellulaires ou les septums sont rares, mais pas absents. Elles interfèrent généralement avec la séparation du mycélium juvénile des parties vieille ou dégénérée, et peuvent également empêcher les fuites cytoplasmiques en cas de blessure. On distingue les *Siphomycètes* : *Chytridiomycètes*, *Oomycètes* et *Zygomycètes*. (**Gow et Gadd, 1995**).



**Figure 2:** Variabilité du cloisonnement des hyphes (Segarra *et al.*, 2015).

### III. Organisation cytotogiques (Fig.03) :

#### III.1. Cytoplasme :

Les cellules fongiques possèdent un système endomembranaire comme l'appareil de Golgi, le RE, les mitochondries, etc. remplissent les mêmes fonctions que les organites de toute cellule eucaryote (Berg et Maruthachalam, 2016).

Les noyaux fongiques sont d'habitude petits (2-3  $\mu\text{m}$  de diamètre), la taille de génome des mycètes est notamment inférieure à celui des plantes et des animaux et supérieure à celui des bactéries, Selon les espèces, il peut exister des centrioles (Bouchet, *et al.*, 2005).

#### III.2. La membrane plasmidique :

Les champignons ont une membrane plasmique (ou plasmalemm) similaire à celle des autres eucaryotes, consistant en une bicouche de phospholipides et des protéines. Cependant, l'ergostérol est la principale forme de stérol présente dans les membranes cellulaires fongiques qui y remplace le cholestérol chez les animaux, et phytostérols chez les végétaux (Nesraoui, 2015).

### III.3. La paroi :

Leurs parois contiennent essentiellement de l'hémicelluloses, polyosides aminés, cellulose polycondensat linéaire de bêta-d-1-4-glucose, et d'un polyoside aminé de chitosane et de la chitine qui est une cellulose présentant un groupement de N-Acétylamine (**Roncero, et al., 2016**).

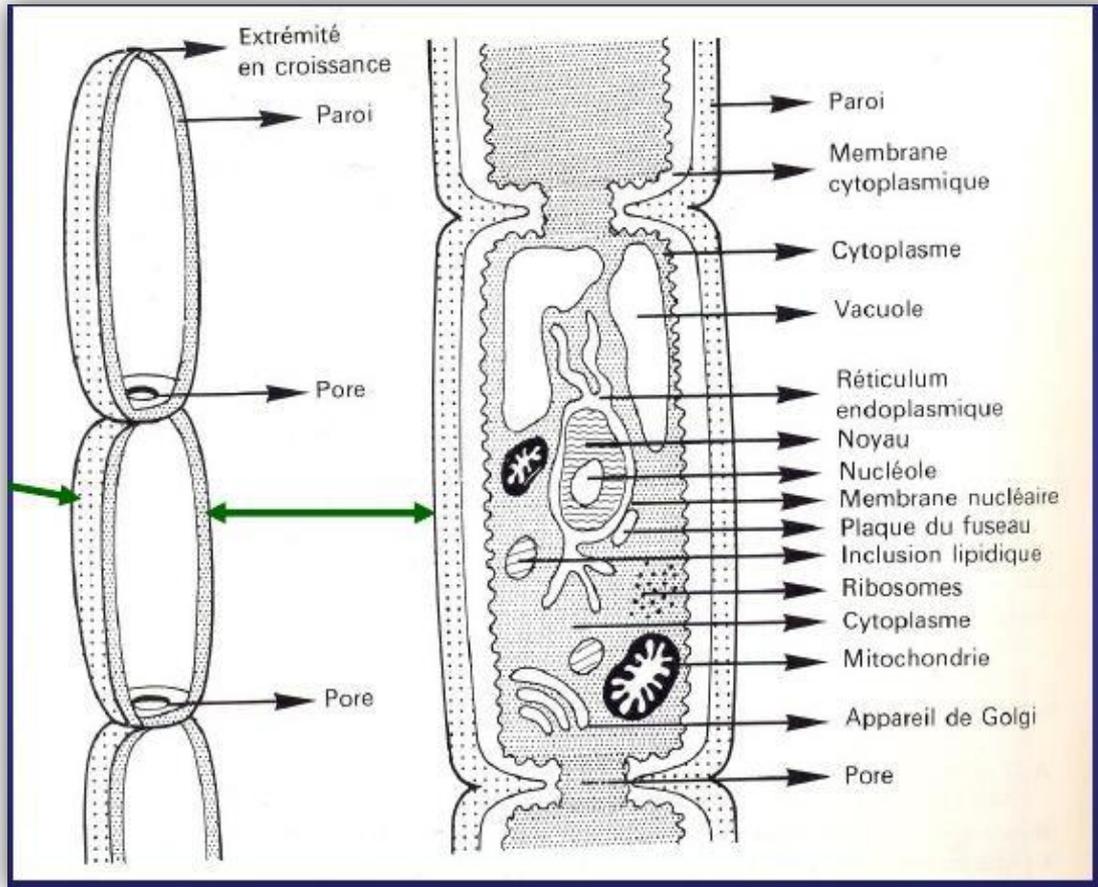
La paroi peut également avoir plusieurs rôles physiologiques tels que la protection du corps fongique contre la lyse osmotique et agit comme un tamis moléculaire régulant le passage des grosses molécules à travers les pores. Quand la paroi est pigmentée, le plus souvent avec des mélanines, elle peut protéger les cellules contre la radiation ultraviolette ou les enzymes lytiques des autres organismes (**Berg et Maruthachalam, 2016**).

### III.4. Les vacuoles :

Elles sont souvent abondantes dans les cellules fongiques, elles sont entourées d'une seule unité membranaire. Dans le mycélium, les vacuoles en croissance active sont généralement petites, Cependant, les parties les plus vieilles des hyphes peuvent contenir de grandes vacuoles qui remplissent presque la totalité des cellules hyphales (**Narayanasamy, 2013**).

### III.5. Inclusions de lipidique:

Parmi les substances de réserves, les champignons accumulent les lipides comme réserve de carbone, sont rencontrés plus fréquemment dans les spores et les hyphes mûres. Le polysaccharide glycogène, qui se forment principalement dans les parties les plus âgées des hyphes et dans les cellules reproductives sont une autre source de carbone très courante chez les champignons. (**Pérez et Ribas, 2012**).



**Figure 3:** Coupe longitudinale d'un hyphes montrant l'organisation cytotogique de la cellule fongique (source : ennemis-agri).

#### IV. La croissance des champignons:

##### IV.1. Les Facteurs nutritive et environnementaux:

Les champignons sont des organismes absorbotrophe, ils vont se nourrir par absorption des substances organiques et minérales simple de leur environnement par diffusion (**Bouchet, et al., 2005**). Grâce à leurs enzymes lytiques, ils attaquent et digèrent les divers composés organiques complexes en les réduisant en petite molécule soluble à l'extérieur de leurs cellules (**Gadd, 2007**).

Bien que la demande de champignons filamenteux soit relativement faible, leur croissance nécessite de nombreux nutriments dont les plus importants sont le carbone et l'azote, et une très petite quantité d'ions minéraux essentiels pour stimuler et guider leur croissance (**Gadd, 2001**).

Ainsi les facteurs environnementaux, tels que l'aération, le pH, la disponibilité de l'eau et la température jouent un rôle essentiels dans la survie et la multiplication des champignons (Durrieu, 1993).

#### IV.2. Mécanismes de croissance de l'hyphe :

La croissance des mycètes dépend des conditions environnementales et l'exploitation du substrat nutritive. (Nasraoui, 2015).

La croissance et la nutrition se produiront en même temps, la croissance peut être obtenue en étendant la paroi jusqu'à l'apex par un apport continu de chitine. Elle est assurée par des hyphes dont leur extension est limitée à l'apex. Le matériel cellulaire synthétisé dans la zone subapical est transporté à l'apex en croissance et le mouvement est activé par la formation des vacuoles dans les zones distales des filaments. Dans le même temps des enzymes hydrolytiques seront également libérée dans l'environnement externe (Larpen, et al., 1971).

#### V. La reproduction chez les champignons :

Comme tous les thallophytes, la reproduction des champignons s'effectue selon deux modes, elle peut être sexuée ou asexuée :

- Mode asexuée : s'accomplir sans l'intervention des organes sexuels.
- Mode sexuée : s'accomplir l'engagement des organes sexuels.

##### V.1. Reproduction asexué :

Il existe plusieurs formes de reproduction asexuée, on distingue trois formes principales :

##### V.1.1. Multiplication végétative :

Par fragmentation du thalle, C'est la plus simple méthode asexuée. Dans lequel un petit fragment va séparer de fragment parent et devient un nouvel individu. Plus clairement, des morceaux de l'hyphe se détachent en formant des nouveaux mycéliums. (Nasraoui, 2015).

##### V.1.2. Bourgeonnement:

La reproduction se fait par bourgeonnement. Une copie du noyau se forme et un petit bourgeon commence à se former sur la paroi cellulaire. Le bourgeon

contenant le nouveau noyau continuera de croître et de former une nouvelle cellule indépendante (Jean, 2012).

### V.1.3. Les spores :

Produites sexuellement ou asexuellement, et propagées par le vent. Les spores sont produites dans un compartiment hyphal spécial selon les groupes (Fig.4) (Bouchet et al., 2005).

Les spores reproduites de manière asexuée peuvent être endogènes ou exogènes :

- **Spores endogènes (endospores) :** ils sont produits dans des sacs fermés (sporangies) et sont portées par des filaments spéciaux (tubes de spores). Ces spores peuvent être observées chez les *Mucorales*, et sont libérées en déchirant la paroi des sporanges matures (Dijksterhuis et Samson, 2007).
- **Spores exogènes (conidies) :** Trouvés par exemples dans les *Ascomycètes*, *Basidiomycète*, etc., sont formés par le bourgeonnement de cellules spéciales appelées conidiophores. Les spores se détachent à maturité, ils varient considérablement en forme, couleur et taille, les grands étant appelés macroconidies, les petits, les microconidies (Jung, et al., 2014).

L'examen des spores et de leur organisation est une étape importante dans l'identification fongique (Jung, et al., 2014).

## V.2. Reproduction sexuée :

La reproduction sexuée chez les champignons est caractérisée par une grande variété de mécanismes et de facteurs de contrôle. La caractéristique sous-jacente, typique de tous les organismes se reproduisant sexuellement, est un événement de fusion impliquant deux noyaux compatibles. Cependant, les champignons sont principalement haploïdes et la division méiotique se produit après la fusion nucléaire. À cet égard, les champignons diffèrent de la plupart des autres eucaryotes. Le rapprochement des noyaux compatibles est réalisé de diverses manières, allant de la fusion exogène de gamètes, à travers des mécanismes qui impliquent la production d'organes sexuels distincts, à la situation dans de nombreux champignons où les gamètes et les structures sexuelles ne sont pas produits mais où «L'accouplement» implique la fusion ou l'anastomose de cellules somatiques ou végétatives (Peberdy, 1980).

Ce type de reproduction conduit à une incidence élevée de recombinaison génétique et la formation de nouveaux génotypes, ce qui rend le champignon facile à adapter à une variété de conditions environnementales (**Nieuwenhuis et James, 2016**).

Le processus de la reproduction sexuée comprend trois étapes différentes :

- D'abord, la Plasmogamie qui est la combinaison de deux protoplastes qui rapprochent les noyaux d'une même cellule,
- Ensuite en deuxième phase, la Caryogamie qui est la combinaison de deux noyaux réunis par la coordination nucléaire, se termine finalement dans la phase méiotique.
- Après une méiose, des spores (ascospores, basidiospore, zygosporés) se forment dont le processus de sporulation varie entre les différents types de champignons (**Fig.4**) (**Nasraoui, 2015**).

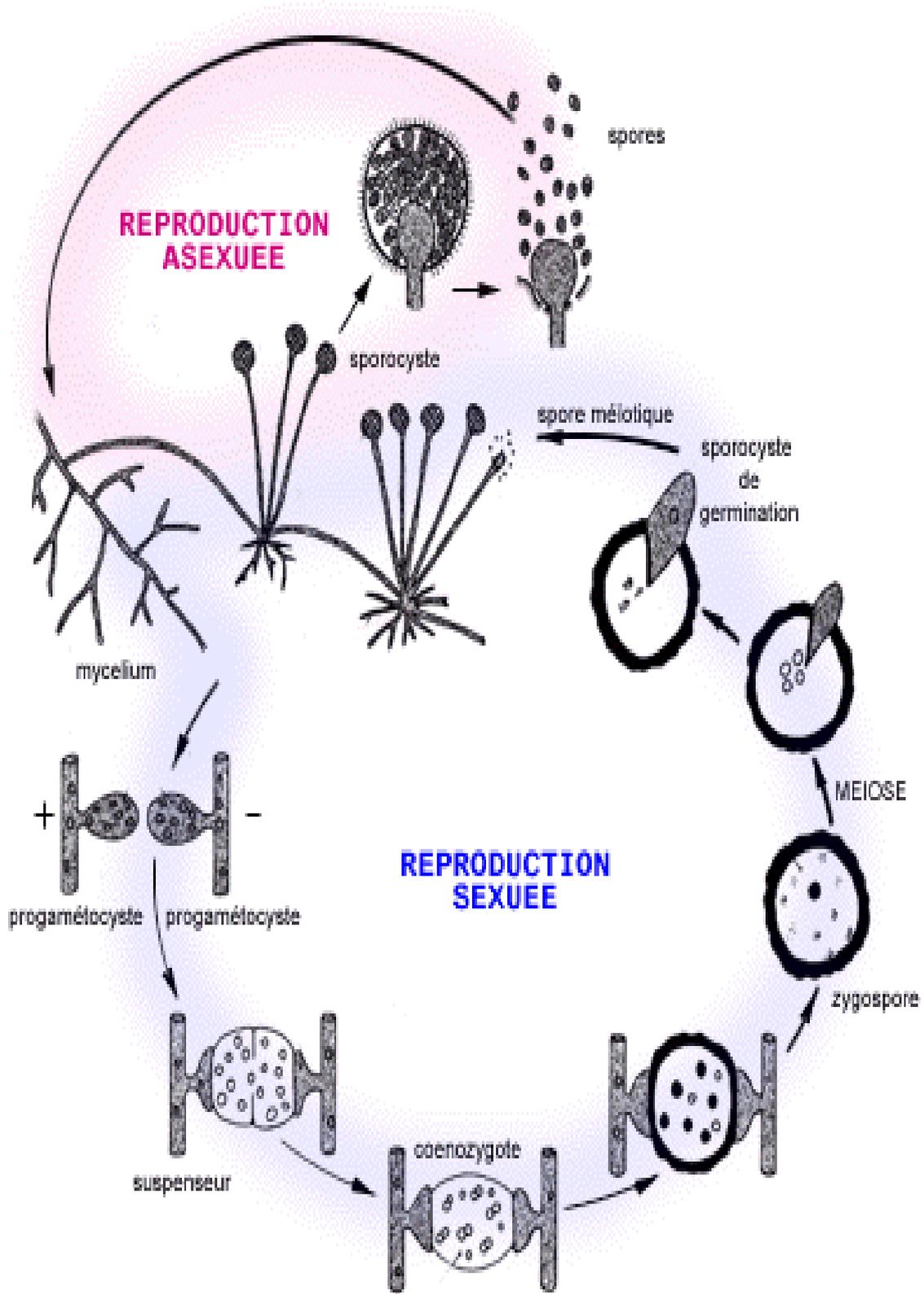


Figure 4: Le cycle de vie chez le *Mucor* (Source : Roland et Vian, 1985).

**VI. Mode de vie:**

Les champignons vivent en relation avec d'autres organismes animaux ou végétaux. On distingue trois modes de vie:

**VI.1. Saprophyte ou nécrotrophe :**

La quasi-totalité des champignons sont saprophytes, Ils se nourrissent de matière organique en décomposition dans le milieu extérieur comme les feuilles mortes, débris végétaux ou animaux et les excréments. Exemple: *Agaricus*, *Pleurotus* (**Bouchet, al., 2005**).

**VI.2. Parasite ou biotrophe :**

Leurs nutriments proviennent de la matière organique d'un être vivant soit végétal, animal ou un autre champignon, certains causent diverse maladies. Les *mycoses* chez les animaux ou les humains et les maladies cryptogamiques chez les végétaux (**Dighton, 2003**).

**VI.3. Symbiotique :**

De nombreuses espèces vivent en symbiose ou en mutualisme avec d'autre être vivants, ils fournissent leurs nutriments grâce à un autre organisme et chacun des deux organismes tire profit de cette association. On distingue : les Lichens (l'association des champignons avec les algues et les Mycorhize (les champignons s'associent avec des plantes) (**Bouchet, al., 2005**).

**VII. Principales division du règne fongique :****VII.1. Terminologie de division selon (Bouchet et al., 2005) :**

- |                      |                 |
|----------------------|-----------------|
| - Embranchement      | <i>mycota</i>   |
| - Sous-embranchement | <i>mycotina</i> |
| - Classe             | mycètes         |
| - Sous-classe        | mycétidées      |
| - Ordre              | <i>ales</i>     |
| - Famille            | acées.          |

On estime que le règne fongique comprend entre 2,2 et 3,8 millions d'espèces, dont seulement 7% environ sont nommées et classées. De nouvelles techniques biochimiques, physiologiques et moléculaires ont été utilisées pour améliorer la systématique des taxons fongiques et les estimations de leur diversité (**Wedaralalage et al., 2020**).

Les champignons ont été classés dans le passé en 5 classes ou phylum principales, selon l'ancienne classification d'Ainsworth, les groupes ou taxons sont établis sur

la base de simples critères morphologiques et phénotypiques (**Kandawatte, et al., 2020**). Qui sont :

- *Chytridiomycota* (Chytrids),
- *Zygomycota* (champignons conjugués),
- *Ascomycota* (champignons sac),
- *Basidiomycota*
- *Deuteromycota*

De nos jours, les classifications dites phylogénétiques sont de plus en plus utilisées, qui classent les organismes dans une classe basée sur l'homologie de l'ADN (génotype) (**Hibbet et al., 2007**), le premier règne des mycètes comprenait de nombreux organismes, qui ont ensuite été remplacées dans d'autres règnes: Les oomycètes sont maintenant classés comme Algues *Straménopiles*. (**McLaughlin et Spatafora, 2015**).

Autrefois le règne fongique était subdivisé en deux Embranchements : *Myxomycota* et *Eumycota* dont l'embranchement des *Eumycota* ou les vrais champignons comprenait la plupart des espèces de champignons (**Fig.5**) (**Dube, 2013**).

### VII.2. Les Zygomycètes :

La classe des zygomycètes renferme un grand nombre d'espèces étant les premiers colonisateurs du substrat en décomposition, ce sont des espèces à thalle siphonné, leurs cellules est non cloisonné avec de nombreux noyau coexistent dans un même siphon, cette classe de champignons tire son nom de la reproduction sexuée qui conduit à la formation de spores spécifiques non flagellées appelées zygospores (**Dube, 2013**).

Exemple : *Muco, Rhizomucor, Cunninghamellar*.

### VII.3. Les Ascomycète :

C'est la plus importante dans le règne des champignons vrais. Sont des espèces à thalle cloisonné, et donc sont des septomycètes, il tire son nom d'une spore sexuées spécialisées appelées ascospores qui sont produit à l'intérieur de la cellule fertile dans un sac distinct appelé asque et sont donc appelées ascomycètes (**Hamilton, 2006**).

Exemples: *Saccharomyces, Dipodascus*

### VII.4. Les Basidiomycètes:

Ils sont connus communément par le nom de Champignons à chapeau et reforment la plupart des macromycètes. Sont des espèces à thalle cloisonné, le nom de basidiomycète provient de leur organe reproducteur nommé baside, qui est impliquée dans la reproduction sexuée. Les spores (basidiospores) sont produites à l'extérieur de la cellule fertile (**Mueller, et al., 2004**).

Exemple: *Filobasidiella*, *Bolets*, *Rouilles*.

#### **VII.5. Les Chytridiomycètes :**

Ce sont des champignons filamenteux non cloisonnés, flagellés, certains sont unicellulaire et se distingue par des zoospores mobiles. Les espèces sont de taille microscopique et la plupart se trouvent dans les sols d'eau douce ou humides. La plupart sont des parasites d'algues et d'animaux ou vivent de débris organiques (sous forme de saprobes). Quelques espèces de l'ordre des chytridiales provoquent des maladies des plantes, et des animaux amphibiens (**Jones, et al., 2015**).

Exemple : *Allomyces*, *Rhizophyidium*.

#### **VII.6. Les deutéromycètes :**

Dit aussi les champignons imparfait, ce groupe considéré comme une classe artificielle de champignon, ces champignons sont des saprophytes ainsi que des parasites qui cause des maladies graves aux plantes, aux animaux, y compris des êtres humains .certains d'entre eux sont unicellulaire tandis que d'autre sont multicellulaire et leur mycélium généralement est cloisonné. La reproduction de deutéromycètes est strictement asexuée, qui se produit principalement par la production de conidiospores asexuées (**Ravichandra, 2013**).

Exemple : *Penicillium*, *Geotrichum* *Cladosporium*.

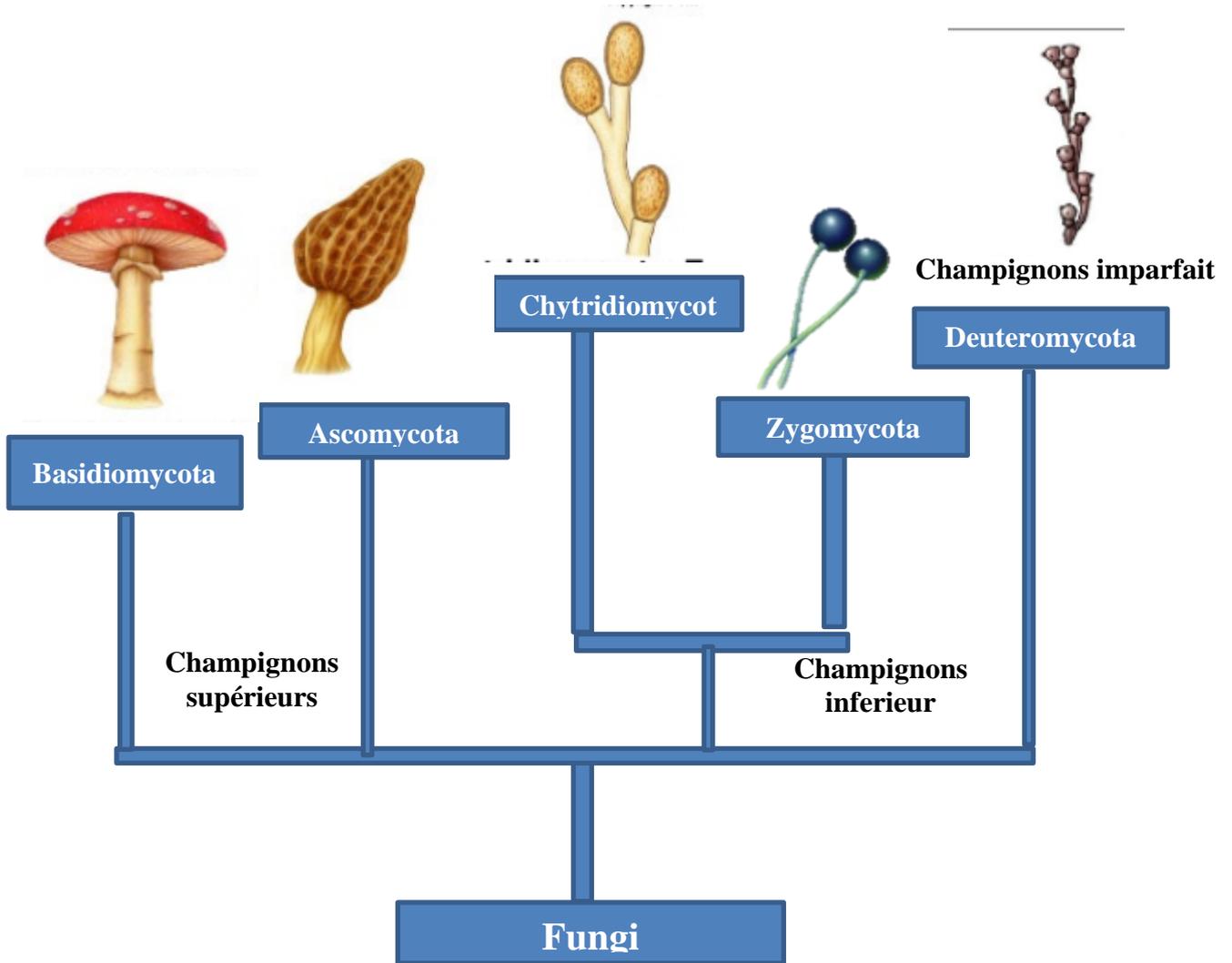


Figure 5: Présentation de la classification générale des champignons.

# *Chapitre II*

*Chapitre II*

## *Le plastique*

*Le plastique*

## I. Le plastique :

### I.1. Définition du plastique :

Le plastique est une matière à base d'un polymère de poids moléculaire élevé, synthétique ou semi synthétiques, ou modelée, généralement à chaleur et sous pression, afin de produire un objets solides de formes variées (**Vert et al., 2012**). Elles sont produites principalement par polymérisation d'un hydrocarbure, à partir de substance extraites du pétrole, du gaz naturel, du carbone, ou d'autres matières minérales comme silicium pour certains polymères, ou par transformation de substance naturelle telle que la cellulose, l'amidon, etc. (**Farhi et al., 2006**).

L'histoire de l'invention du plastique remonte aux années soixante du XIXe siècle, lorsque le chimiste Parkes a inventé le premier matériau plastique appelé Parkesine (**Streit-Bianchiet et al., 2020**).

Dés plastiques synthétiques aux plastiques naturels (bioplastique), l'industrie du plastique a connu une série de développements et d'inventions continus avec la contribution de nombreux chimistes et chercheurs du monde entier (**Fig. 6**). En raison de l'augmentation de la consommation et de la demande quotidienne, l'industrie des plastiques est à la pointe de l'industrie mondiale (**Oktavilia, 2020**).

Les bioplastiques sont fabriqués à partir de sources de biomasse renouvelables telles que la canne à sucre et le maïs, ou à partir de microbes tels que la levure. Certains bioplastiques sont biodégradables par les micro-organismes ou même compostables, dans les bonnes conditions (**Damien, 2006**). Les bioplastiques issus de ressources renouvelables peuvent être recyclés naturellement par des procédés biologiques, limitant ainsi l'utilisation de combustibles fossiles et protégeant l'environnement. Aujourd'hui, les bioplastiques sont devenus une nécessité dans de nombreuses applications industrielles telles que l'emballage alimentaire, l'agriculture et l'horticulture, les sacs de compostage, l'hygiène, les produits biomédicaux, et autres produits de consommation (**Ashter, 2016**).

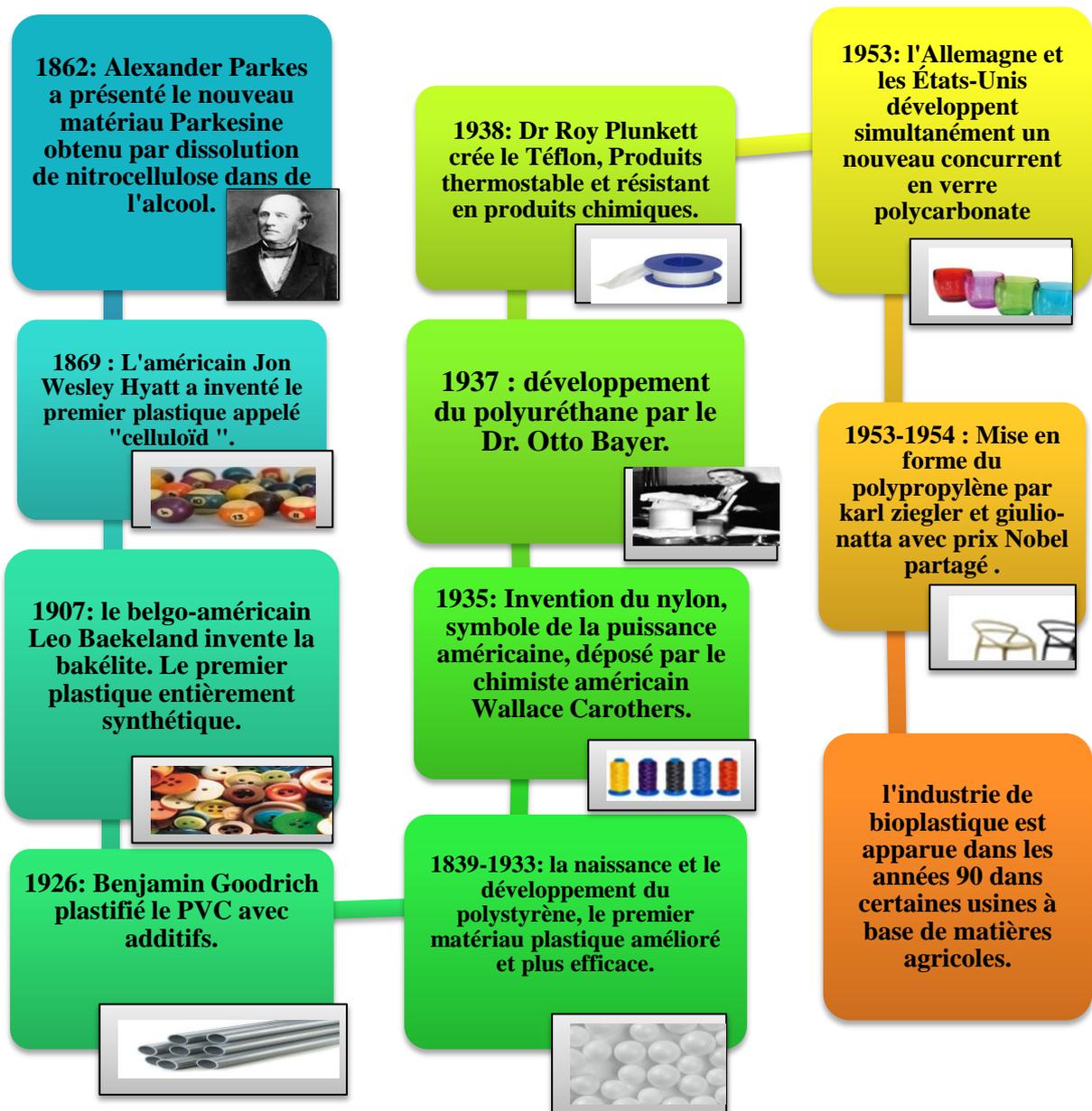


Figure 6: L'histoire de l'invention du plastique (Streit-Bianchi et *al.*, 2020; McCool, 2020).

### I.2. Les types de plastique :

Les plastiques sont nombreux et variés, ils sont répartis en fonction de leur mode de fabrication et de leurs durabilités. Il existe 7 grandes catégories de types de plastiques (Matthieu, 2020) (Tableau 2).

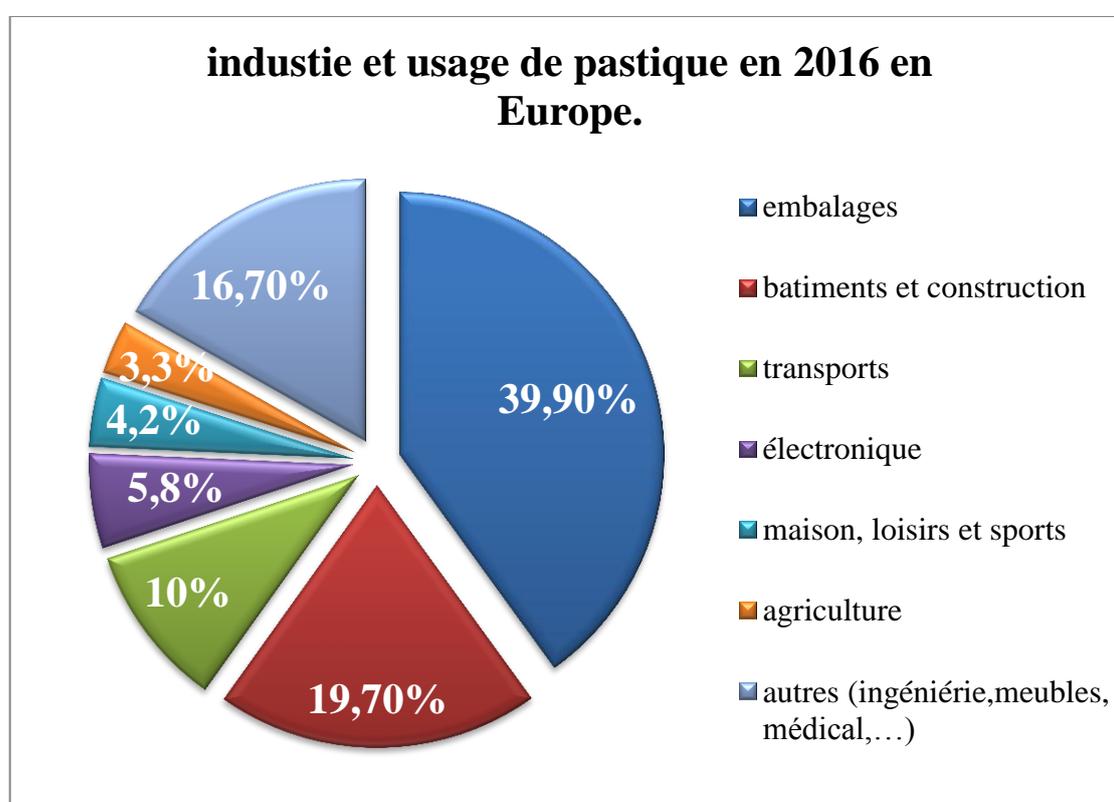
**Tableau 2:** Les principaux types de plastiques (Andrady, 2011 ; Asuquo, 2018 ; Matthieu, 2020).

Type de plastique	Abréviation	Exemple	Symbole
<b>Le Polyéthylène Téréphtalate</b>	PET	Bouteilles d'eau, boissons. etc., emballages alimentaires et cosmétiques	
<b>Le Polyéthylène Haute Densité</b>	HDPE	Les bouteilles de produits ménagers, détergents, produits cosmétiques, etc.	
<b>Le Polychlorure de Vinyle</b>	PVC	Emballages du fromage et la viande. Fabrication des jouets, meubles et articles ménagers.	
<b>Le Polyéthylène Basse Densité</b>	LDPE	Certains sacs et emballages plastiques.	
<b>Le Polypropylène</b>	PP	Emballages médicaux et pièces de voitures.	
<b>Le Polystyrène</b>	PS	Le mobilier, les jouets, emballages alimentaires, produits jetables, etc.	
<b>Autres (polycarbonate, acétate de cellulose, etc.)</b>	OTHER	D'autres plastiques non cités comme CDs, DVDs, filtre de cigarettes, etc.	

## II. La pollution par le plastique :

Le plastique apporte de nombreux avantages pour la société, et offre un avenir technologique et médical avancé. Mais le problème principal du plastique est souvent celui de son usage unique (plastique jetable), et il peut mettre jusqu'à plusieurs centaines d'années pour se décomposer (**Fig.8**). Les activités anthropiques sont responsables d'un déclin majeur de la biodiversité et une forme particulière d'impact humain et constitue une menace majeure pour le milieu naturel et en particulière pour les milieux marins et les eaux douces (**Shah, 2020**).

La pollution plastique due à la fabrication extensive de plastique avec environ 400 millions de tonnes produites chaque année, ou les emballages représentent plus du tiers de tous les plastiques produits, ce qui a conduit à l'élimination inappropriée du plastique (**Atlas de plastique, 2020**) (**Fig.7**). L'absence de réglementation sur l'élimination du plastique et l'absence de mesures de recyclage ont créé des ravages pour l'écosystème, la faune et la chaîne alimentaire humaine, en raison de leur composition chimique, ce qui les rend résistante à de nombreux processus de décomposition naturel (**Pietrelli et al., 2018**).



**Figure 7:** La production et l'usage de plastique en Europe en 2016 (chiffres: **plastique Europe, 2018**).

## II.1. Le plastique dans les eaux douces :

Le plastique est un polluant prédominant dans les écosystèmes d'eau douce du monde entier (Azevedoet *al.*, 2021). La pollution plastique est également devenu l'un des plus gros problèmes environnementaux qui s'aggrave rapidement dans les habitats terrestres, mais plus encore dans les habitats aquatiques tels que les habitats d'eau douce (Walther et *al.*, 2020).

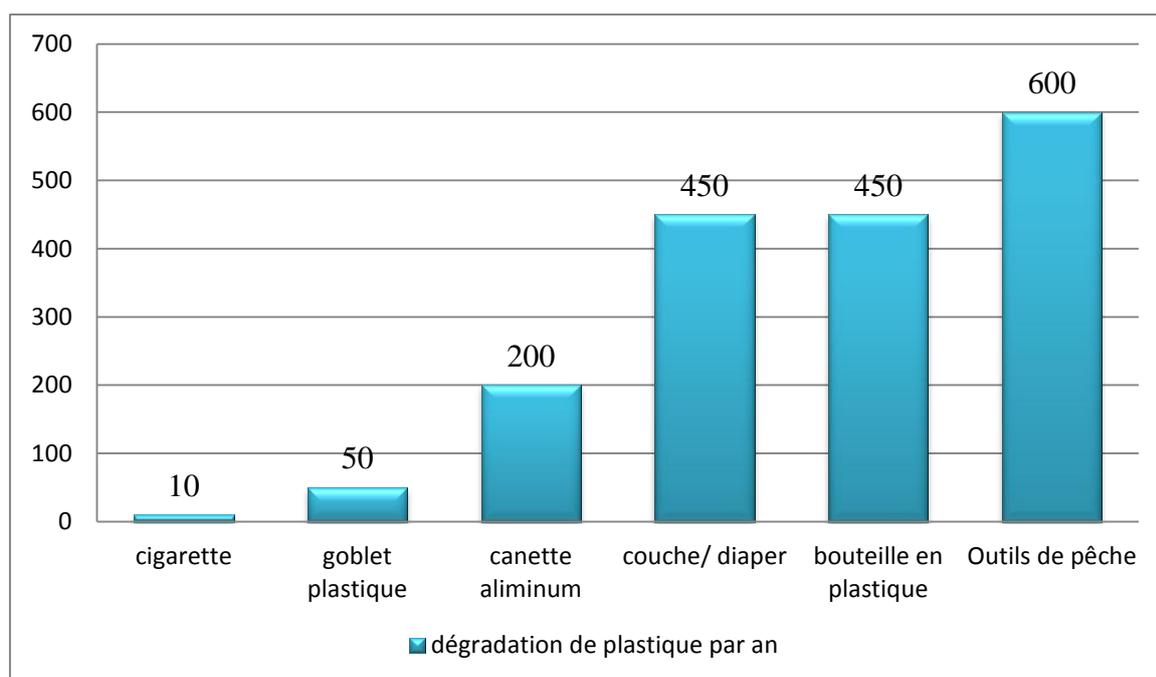
On estime qu'entre 4.8 et 12.7 millions de tonnes de plastique pénètrent dans les océans chaque année à partir des rivières (Lebreton et *al.*, 2017), tandis que le reste est soit recyclé, incinéré ou mis en décharge, soit entre dans d'autres écosystèmes (Walther et *al.*, 2020).

Les microplastiques et les macroplastiques sont les principales entités impliquées dans la pollution des plans d'eau :

- **Les macroplastiques** : qui dont la taille plus de 5 mm de diamètre.
- **Les microplastiques** : sont moins de 5 mm qui pénètre dans l'environnement à la suite soit de la libération directe de petites particules et sont appelés micro-plastique primaire, soit formés à la suite des dégradations de macro plastique appelés micro plastique secondaire (Cauwenberghe, et *al.*, 2015).

Les polluants microplastiques qui se trouvent dans les mers et l'eau douce est de plus en plus préoccupante pour l'environnement en raison de leur lente dégradabilité (Fig.8), de leur ingestion biologique par les poissons et autres organismes vivants aquatiques, et agissant comme vecteurs pour concentrer et transporter les polluants organiques synthétiques et persistants (Jiang, 2018).

En plus des microplastiques, les additifs chimiques ajoutés aux plastiques pendant la fabrication, qui peuvent s'infiltrer lors de l'ingestion, entreront dans les chaînes alimentaires et pourraient potentiellement causer de graves problèmes de santé aux humains (Jiang, 2018).



**Figure 8:** La durée de dégradation du plastique dans les habitats aquatiques (source: **BBC, 2017**).

## II.2. Effet de pollution de plastique sur l'environnement :

La pollution plastique a les effets les plus néfastes sur la biodiversité marine et l'habitat. Environ des dizaines de milliers d'espèces d'animaux aquatiques sont tués chaque année en raison de l'augmentation de la pollution plastique. Des déchets de sacs en plastique dans le milieu aquatique sont visibles dans le cadavre de ces animaux emportés par les océans sur la côte (**Muneer et al., 2021**).

Le plastique pose non seulement un immense problème de pollution, mais il aggrave également le changement climatique. Le rapport CIEL avertit que les émissions de gaz à effet de serre du plastique compromettent notre capacité à maintenir la hausse de la température mondiale en dessous de 1,5 ° C, si la production de plastique reste sur sa trajectoire actuelle, d'ici 2030, les émissions de gaz à effet de serre du plastique pourraient atteindre 1,34 milliard de tonnes par an, soit l'équivalent des émissions produites par 300 nouvelles centrales au charbon de 500 MW (**Idowu et al., 2021**).

### II.3. La valorisation des déchets de plastiques :

La valorisation des déchets de plastiques est l'ensemble des opérations dans le but de le réutiliser à nouveau, mais la diversité du plastique et sa composition chimique rend le recyclage et la régénération difficiles (Addou, 2009).

Par conséquent, des déchets non mélangés sont nécessaires. Lorsque les déchets plastiques sont mélangés ou inégaux, il est difficile de les recycler. Les déchets plastiques peuvent suivre trois filières de valorisation. La valorisation matière par recyclage mécanique ou régénération, le recyclage chimique et la valorisation énergétique (Addou, 2009).

En Algérie, le recyclage du plastique est uniquement mécanique. Les recherches menées dans certaines unités de production de matériaux et unités de valorisation et de recyclage des déchets plastique montrent que le plastique ayant le taux de valorisation le plus élevé est le polypropylène, car le polypropylène présente de bonnes propriétés (résistance aux chocs, manipulation aisée, moulage, etc.). (IPM, 2006).

Dans ces unités de broyage et de recyclage des déchets plastiques ménagers, le polypropylène (PP) est d'abord broyé puis extrudé pour obtenir des granulés faciles à régénérer. 50% à 80% du matériau abrasif peuvent être ajoutés à la matière première pour produire un nouveau matériau. Cette opération est bon pour l'environnement, le comportement thermique du polypropylène recyclé a été étudié par analyse thermogravimétrique (TGA) et analyse d'enthalpie différentielle (DSC). (IPM, 2006).

### II.4. La pollution par le plastique en Algérie :

Selon le ministère de l'Environnement, l'Algérie consomme environ 7 milliards de sacs plastiques par an, et on estime que les déchets ménagers contiennent 17% de plastique, soit 130000 tonnes / an de la quantité annuelle produite au niveau national, et environ 60 à 80% des déchets. Le plastique dans la nature, la mer et les vallées contribuent à l'exacerbation du réchauffement climatique (APS, 2021).

Selon l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN), l'Algérie occupe la quatrième place après l'Égypte, l'Italie et la Turquie pour les déchets plastiques déversés en Méditerranée avec une barre supérieure à 10 000 tonnes par an, un chiffre qui pourrait doubler d'ici 2040, en pointant la mauvaise gestion des déchets. Mais la déclaration de l'UICN ne classe pas l'Algérie parmi les points chauds (Elwatan, 2020).

### III. La bioremédiation :

#### III.1. Définition :

La bioremédiation est un ensemble de techniques mettant en œuvre des procédés de biodépollution, utilisables pour réduire la toxicité, la mobilité ou le volume d'un contaminant dans les sols, le sous-sol, les eaux et les effluents gazeux en utilisant des organismes vivants (Azubuiké *et al.*, 2016).

Le processus consiste à isoler, identifier et caractériser des microorganismes capables d'absorber et/ou dégrader une substance toxique, Ces microbes ciblent les déchets pour obtenir la source de carbone, l'eau et d'autres besoins nutritionnels nécessaires pour la continuation de la vie (Mohd *et al.*, 2019).

#### III.2. Principe de la bioremédiation :

La bioremédiation implique l'utilisation d'organismes qui peuvent être indigènes ou bien isolés à partir d'autres endroits tels que des bactéries, des plantes ou des champignons, pour décomposer les polluants environnementaux en substances moins toxiques de sorte que les conditions environnementales permettent leur croissance et leurs activités microbiennes (Chaparian, 1999).

Les composés contaminants seront transformés par les organismes vivants par des réactions enzymatiques. La biodégradation des composés est généralement le résultat de l'action de plusieurs organismes (Bhandari *et al.*, 2021).

#### III.3. Les stratégies de la bioremédiation :

Les traitements peuvent être ex situ ou in situ, les procédures ex situ impliquent le retrait des matériaux contaminés d'un site pollué avant le traitement dans un autre endroit (Crawford *et al.*, 2006).

Les approches in situ traitent les contaminants en place sans les déplacer vers une installation de traitement, elle est appliquée sur un site de sol ou d'eau avec un minimum de polluants (Crawford *et al.*, 2006).

#### III.4. Les facteurs de la bioremédiation :

Les voies métaboliques enzymatiques des micro-organismes facilitent la progression des réactions biochimiques qui contribuent à la dégradation du polluant. Les microorganismes n'agissent sur les polluants que lorsqu'ils sont en contact avec les composés qui les aident à générer de l'énergie et des nutriments pour multiplier les cellules (**Sharma, 2020**).

L'efficacité de la biorémediation dépend de nombreux facteurs; y compris la population microbienne pour dégrader les polluants, l'accessibilité des contaminants à la population microbienne et des facteurs environnementaux comme le type de sol, le pH, la température, l'oxygène et les nutriments (**Fantroussi et Agathos, 2005**).

#### III.5. La mycoremédiation :

Il existe trois méthodes peuvent être utilisées pour la bioremédiation assuré par les organismes : Mycoremédiation, bioremédiation bactérienne, et la phytoremédiation.

La mycoremédiation c'est la technologie qui utilise les champignons pour éliminer les polluants organiques du sol et de l'eau. Afin de rendre les polluants moins toxiques et inoffensifs (**O'Sullivan, 1994**).

Les champignons produisent et sécrètent des taux plus élevés de différentes enzymes extracellulaires dans leur environnement périphérique et dégradent divers substrats en molécules simples qui peuvent être absorbées et métabolisées dans leurs cellules (**Goltapeh et al., 2013**).

De plus, ces derniers temps, il a été signalé que les champignons sont capables de dégrader des polymères tels que les plastiques (**Kulshrestha et al., 2014**).

Leur physiologie particulière leur permet d'accumuler une grande quantité de polluants sans que leur cycle vitale ou leur propagation soient affectés (**Jean, 2012**).

Il existe de nombreuses espèces fongiques qui ont un mécanisme pour décomposer et dégrader des matières plastiques en molécules plus simples (**Tableau 3**).

**Tableau 3:** La biodégradation des plastique par certains espèces (Fesseha et Abebe, 2019).

<b>Champignons</b>	<b>Enzymes</b>	<b>Type de Plastiques</b>
<i>Aspergillus flavus</i>	glycosidase	PCL
<i>Penicillium funiculosum</i>	unidentified	PHB
<i>Aspergillus niger</i>	Catalase, protease	PCL
<i>Rhizopus arrizus</i>	lipase	PEA, PBC, PCL
<i>Rhizopus delemar</i>	lipase	PCL
<i>fusarium</i>	cutinase	PCL

# *Chapitre III*

ՇրճԻՐԵ III

## *Les eaux douces*

ԼԵՏ ԵԱՄՎ ՊՕՆԵՏ

## I. Les eaux douces :

L'eau constitue environ 70% de la surface de la Terre, tandis que 3,5% seulement sont considérés comme de l'eau douce, tandis que le reste est de l'eau salée sous forme de mers et d'océans (Assessment, 2005).

L'eau douce est définie comme ayant une faible concentration de sel, généralement inférieure à 1% (Cuculić et al., 2016). Les plantes et les animaux des zones d'eau douce se caractérisent par leur capacité à prospérer avec un faible niveau de sel et ne peuvent pas survivre dans les zones à forte concentration de sel (Yousefi, 2020).

Les ressources en eau douce varient en taille de très petite à grande, elles se trouvent sous forme de rivières, de lacs, de glaciers, d'eaux souterraines, etc. (Thomas et al., 2014).

## II. Les champignons des eaux douces :

Il existe plus de 3000 espèces de champignons d'eau douce dont un plus grand nombre est connu des régions tempérées par rapport aux régions tropicales. Deux groupes principaux peuvent être considérés (Duche, 1945) :

- Les Champignons saprophytes qui peuvent végéter, immergés.
- Les Champignons parasites des plantes ou des animaux aquatiques.

### II.1. Les saprophytes :

#### II.1.1. Les Hyphomycètes :

C'est des champignons amphibies ou champignons ingoldiens, ce sont généralement des formes imparfaites d'Ascomycètes ou Basidiomycètes et même de Zygomycètes. Ils se caractérisent par des formes spéciales de conidies (conidiospores) qui facilitent leur attachement au support et donc leur adaptation au milieu aquatique. Il faut distinguer sous ces formes les espèces qui se rencontrent dans l'eau courante (Hyphomycètes ingoldiens) de celles qui vivent dans les eaux stagnantes (Hyphomycètes aéro-aquatiques) (Nawawi et al. 1977 ; Webster et Descals 1979 ; Descals et al. 1981 ; Durrieu, 1993).

#### a. Les Hyphomycètes ingoldiens :

Les spores apparaissent soit sous forme allongées et flexueuses (sigmoïdes), ou sous formes de ramifications longues ou appendices orientés dans des directions perpendiculaires (tétraradiées) (fig.9). Ces formes augmentent évidemment les chances de rencontre et d'ancrage sur un substrat favorable (Durrieu, 1993).

- Les conidies sigmoïdes s'attachent souvent à leurs pôles adhésifs, puis se redressent dans la direction du courant d'eau afin qu'elles soient moins susceptibles d'être emportées. (**Ingold, 1942 ; Ingold, 1953**).
- Les conidies tétraradiées agissent comme un ancrage et permettent leur piégeage entre les bulles de l'écume qui se forme dans les remous et qui lui permettent de les recueillir facilement pour les observer (**Durrieu, 1993**). Ils peuvent également se fixer au substrat, avec trois bras formant un trépied fortement adhésif (**Webster et Descals, 1981**).

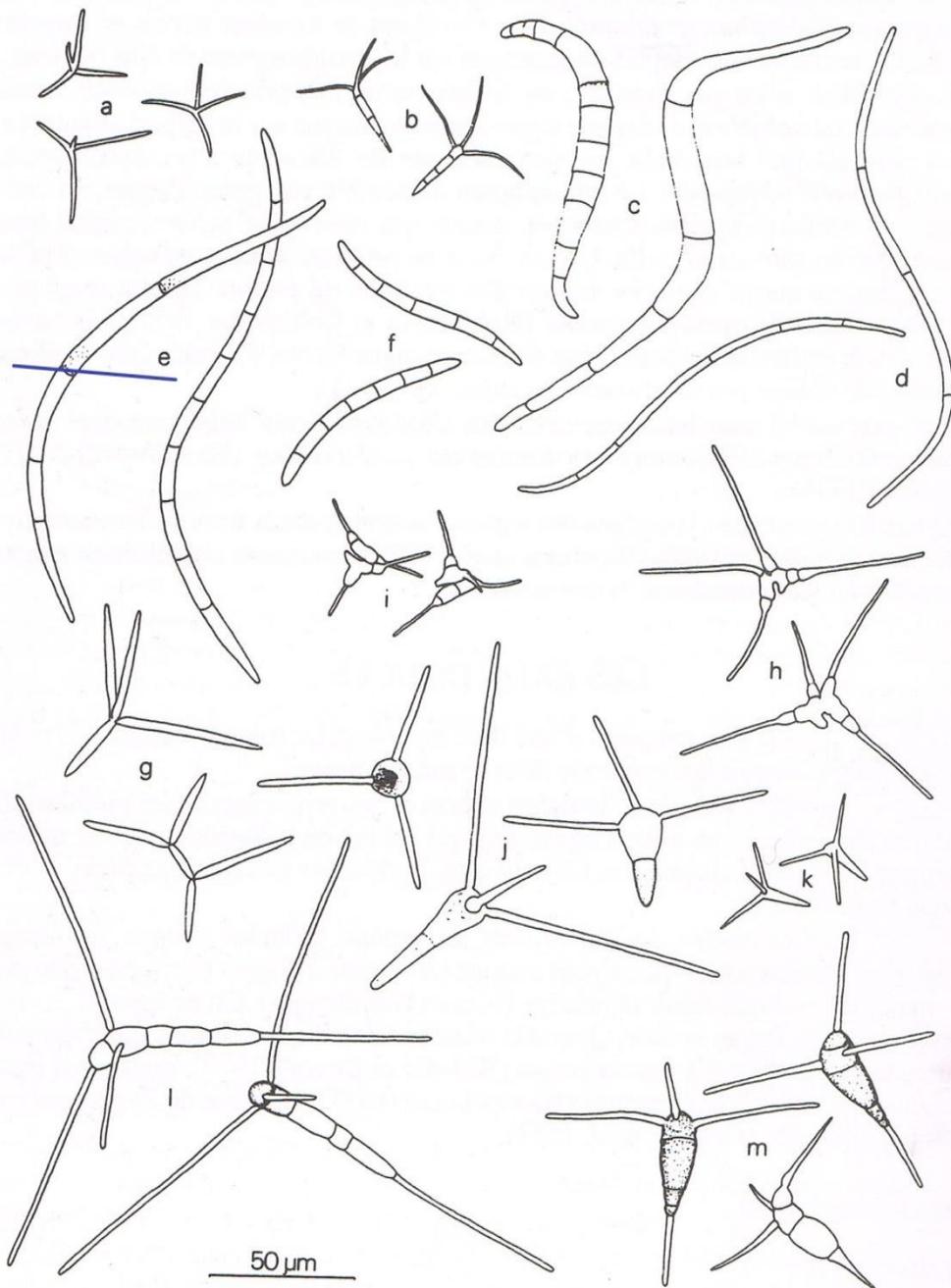
Le contact de la surface provoque une adhésion efficace de la conidie au substrat qui est due à la production d'une matière mucilagineuse dans chaque bras, ce qui la lie étroitement au substrat (**Read, 1990**). Il a été indiqué que le mucilage est une matière végétale polysaccharidique qui se gonfle dès son contact avec l'eau (**Cui, 2000**).

#### **b. Les Hyphomycètes aéro-aquatiques :**

Le mycélium se développe sur des substrats immergés. Les variations du niveau des habitats d'eau douce leur permettent de créer un milieu favorable à leur mode de vie amphibie (**Durrieu, 1993**).

Les conidies ont souvent des formes très différentes, dont la plupart d'entre eux sont hélicoïdales comme *Helicoon*, *Helicodendron*, *Helicosporium*. On trouve aussi, ceux qui ont une forme de chou-fleur, dont les nombreuses branches se terminent par des renflements comme chez *Beverwijkella*, *Papulospora*. Ou bien encore, ceux qui se présentent comme des sphères grillagées, par courbure et intrication de leurs ramifications (**fig. 9**) (**Durrieu, 1993**).

Tous ces types de conidies conduisent au même résultat: Capturer les bulles d'air pour assurer le flottement de ces propagules. Par conséquent, ils seront déposés sur le substrat près de la surface, et leur niveau de dépôt peut être favorable à l'émission et donc à la génération ultérieure de spores (**Wong et al., 1998**).

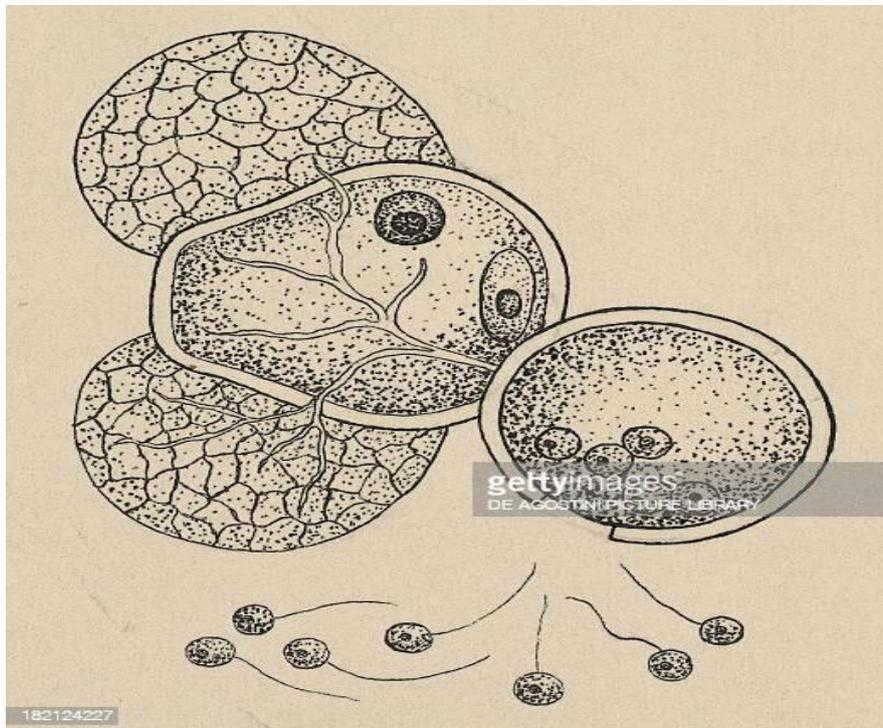


**Figure 9:** Un échantillon de la flore d'Hyphomycètes aquatiques observée dans les cours d'eau du sud-ouest de la France (Chauvet 1990). a, *Alatospora acuminata* ; b, *Al. flagellata* ; e, *Anguillospora crassa* ; d, *Ang. Curvula* ; e, *Ang. Longissima* ; l, *Ang. pseudol pseudolongissima* ; g, *Articulospora tetraciadia* ; h, *Campylospora chaetocladia* ; l, *Campylospora sp* ; j, *Clavariopsis aquatica* ; k, *Ciavatospora longibrachyata* ; l, *Culicidospora aquatica* ; m, *Cul, gravida* (Durrieu, 1993).

### II.1.2. Les Chytridiales :

Les Chytridiomycètes des eaux douces sont caractérisés par la production de zoospores flagellés dirigés vers l'arrière qui leur permettent de se déplacer dans l'eau (Duche, 1945).

Le thalle de ces champignons est généralement microscopique, à faible dimension (Archibald et al., 2017). Il se réduit à une structure très simple d'une petite masse sphérique, à partir de laquelle certains filaments très fins adhèrent ou pénètrent dans le support. Après un développement très rapide, la masse entière du champignon est devenue un organe reproducteur (Fig.10). Il peut provoquer l'apparition de zoospores flagellées à multiplication végétative ou l'apparition de gamètes de formes variées (Durrieu, 1993).



**Figure 10:** Une Chytridiale polliniphage, *Rhizophydium pollinis* (source: Deagostini /Getty Images, 2003).

### II.2. Les parasites :

Les Phycomycètes représentent la seule classe des champignons donnant des espèces appartenant nettement au domaine aquatique, la plupart d'ailleurs indirectement en parasitant des algues, des animaux ou des Champignons déjà parasites d'animaux ou de végétaux aquatiques (Duche, 1945).

Ces Champignons, caractérisés par leurs zoospores et souvent zoogamètes mobiles, ils sont très bien adaptés au milieu aquatique, qui est même probablement leur milieu d'origine (**Durrieu, 1993**).

Ils sont répartis en deux groupes : les Oomycètes et les Zygomycètes.

### **II.2.1. Les oomycètes :**

Ils sont l'un des groupes parasites les plus répandus et les plus diversifiés dans les communautés d'eau douce (**Beakes et al., 2011**).

Communément appelés moisissures aquatiques, ils infectent leurs hôtes par des zoospores de courte durée qui nagent activement. Ils se fixent à l'hôte et envahissent leurs tissus par croissance hyphale. Les sporanges naissent finalement de ces hyphes, produisant la prochaine génération de zoospores infectieuses. Les hôtes oomycètes aquatiques comprennent différentes espèces de phytoplancton et de zooplancton, ainsi que des vertébrés tels que les poissons, les amphibiens et les reptiles (**Garcia et al., 2018**).

### **II.2. Les zygomycètes :**

Les zygomycètes sont adaptés à l'eau douce en tant que parasites d'autres organismes, certaines espèces ont été identifiées comme les *Harpellales*, qui parasitent les arthropodes, en particulier les larves d'insectes d'eau douce où elles se fixent à la paroi chitineuse de l'intestin postérieur. D'autres types d'insectes comme les *Entomophthorales* comprennent plusieurs agents pathogènes qui peuvent provoquer des épidémies à grande échelle. Cette pathogénicité est exploitée pour être utilisée dans la lutte biologique contre des insectes ravageurs spécifiques. Il existe un certain nombre de mycoparasites tels que les *Dimargaritales* et les *Zoopagales* qui se lient généralement aux parasites de leurs hôtes muqueux (**Webster et Descals, 1981**).

*Synthèse Expérimental*  
ΣΥΝΘΕΣΗ ΕΠΕΙΡΗΜΑΤΙΚΗ

*Matériel Et Méthodes*  
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

## I. Origine des champignons:

### I. 1. Echantillonnages:

**Bruner et al. (2018)**, ont collectés des débris de plastique flottant ou en profondeur de 20 cm du lac de Zurich (WaÈdenswil) en 2015. Ces morceaux ont été ramassés par des pinces stériles (**Tableau 4**), ensuite ils étaient coupés par un ciseau stérile en morceaux de diamètre (0.7cm /0.7 cm). Puis, ils ont déposé au total 13 morceaux dans un flacon stérile de 50 ml. Après, ils étaient acheminés au laboratoire dans une glacière afin de réaliser les différents tests.

D'autre part, **Annamalai et Nallamuthu (2011)** ont collecté des morceaux de plastique enfouis dans le sol (10 mm sous le sol) sur les rives de la rivière Adyar Coovam, Chennai, Inde (**Tableau 4**). Les morceaux de plastique ont été conservés dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée stérile pendant 15 minutes.

**Tableau 4:** Liste des débris de plastique collectés dans le lac de Zurich et les types de plastique suspectés polyéthylène (PE) et polypropylène (PP) (d'après **Gosh et al., 2013**).

Numéro	Origine Susceptible de débris plastique	Type de plastique suspecté
1	Sac en plastique blanc.	PE
2	Sac en plastique blanc.	PE
3	Goblet en plastique à boire blanc.	PP
4	Emballage en plastique transparent/bleu pour canettes.	PE
5	Emballages en plastique transparent	PE
6	Fragment de plastique bleu solide	PP
7	Emballage plastique transparent	PE
8	Emballage en plastique transparent/vert pour un chewing-gum	PE
9	Emballage en plastique blanc pour glace	PE
10	Sac de rangement transparent refermable à fermeture éclair	PE
11	Emballages en plastique de couleur jaune pour biscuits	PE
15	Emballage plastique blanc/noir pour barre chocolatée	PE
16	Fragment de plastique blanc solide	PP

## I.2. Isolement des champignons :

**Bruner et al. (2018)**, ont ajouté 2 ml d'eau stérile à chaque tube contenant un morceau de plastique, puis l'ont mélangé avec un vortex pendant 10 secondes pour permettre aux mycéliums et les spores de se séparer des échantillons de plastique. Ensuite, à l'aide d'une pipette stérile, ils ont prélevé 100 µl de chaque tube et les ont ensemencé dans une boîte de Pétri contenant de la gélose nutritive Melin-Norkrans (MMN) modifiée, et les ont étalés avec un râteau flammé à la surface de la gélose.

Par la suite, ils ont incubé quatre boîtes de Pétri de chaque tube à température ambiante dans l'obscurité pendant quelques jours jusqu'à l'émergence des premières colonies fongiques.

Ces colonies émergentes ont été transférées sur de la gélose à Malt (MEA) dans des tubes à essai et incubées à température ambiante.

D'autre part, **Annamalai et Nallamuthu (2011)** ont ajouté 1 ml à 9 ml d'eau distillée stérile dans un tube à essai pour obtenir une dilution de 10 fois. Ensuite, ils ont réalisé une série de dilutions dans laquelle 1 ml de chaque dilution a été ensemencé sur gélose de pomme de terre dextrose (PDA). Des cultures pures ils ont finalement obtenues en sélectionnant une seule colonie à partir de cultures plus diluées.

## I.3. Identification des champignons :

**Bruner et al. (2018)** ont sélectionné 21 espèces fongiques de la collection du WSL (Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research), appartenant à différentes guides écologiques afin de tester leur capacité à dégrader le PE, PU et TA, parmi lesquelles : *Agaricus bisporus*, *Phanerochaete sanguinea*, *Fomitopsis pinicola*, *Heterobasidion parviporum*, *Suillus*.

De plus, *Pestalotiopsis microspora* a été acheté auprès du Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (CBS n° 364.54 ; CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas) comme témoin pour la dégradation du PU.

Concernant, **Annamalai et Nallamuthu (2011)** ont sélectionnées une seule souche après avoir fait une identification des souches isolées en utilisant des techniques d'identification standard (Observation macroscopique et microscopique).

## I.4. Test de biodégradation :

**Bruner et al. (2018)** ont testé la capacité des champignons à dégrader le plastique par des mesures de décomposition dans des boîtes de Pétri sur un milieu gélosé. Ils ont utilisé le PE

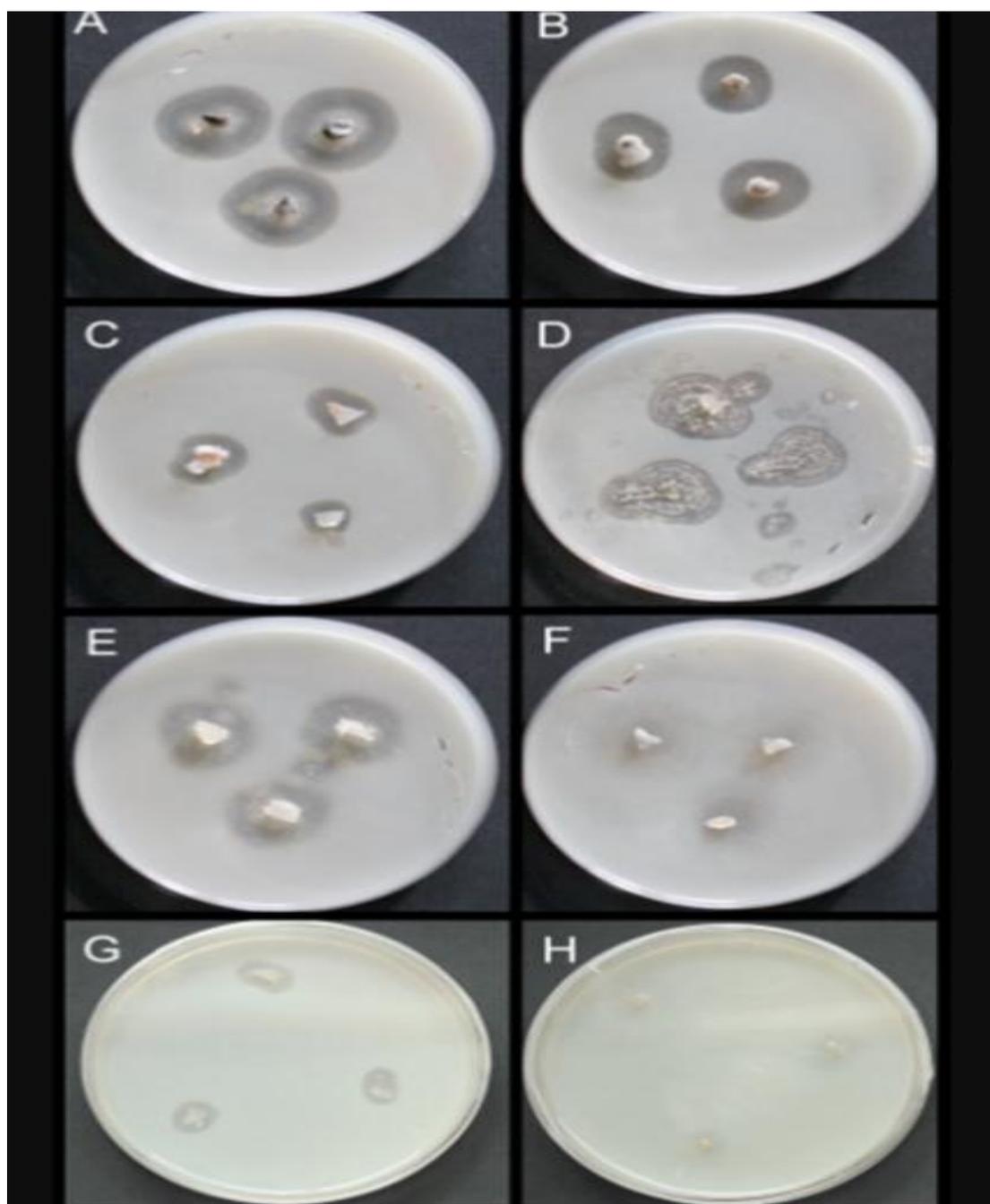
comme source de plastique dans un milieu gélosé 1 (MG 1). Immédiatement, après la stérilisation avec l'autoclave, ils ont ajouté 10g L<sup>-1</sup> de poudre de PE (Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland; des particules de taille : 125 µm) broyées avec l'azote liquide.

Après, ils ont effectué le test de décomposition du PU (CSC Jaèklechemie GmbH et co. kg, Nuèrnberg, Germany), comme source de plastique en suivant **Russel et al. (2011)** ; **Biffinger et al. (2015)**; **Yamada-Onodera et al. (2001)**. Alors, 10 ml<sup>-1</sup> du PU était ajouté au milieu Gélosé 2 (MG 2) stérilisé auparavant.

La capacité de dégrader le complexe C-polymer (Lignine) en plus du plastique a été effectuée selon **Gramss et al. (1998)**. Ce test utilise les polyphénols comme substituant de la lignine. Après autoclavage du milieu gélosé (MG3), ils ont ajouté (0.5g .L<sup>-1</sup>) d'acide tannique comme une source de polyphénol.

Dans chaque boîte de Pétri, ils ont placé trois inoculum de chaque souche fongique sur la surface (**fig.11**). Ensuite, ils ont fermé les boîtes avec un film de plastique et de la paraffine et les ont incubées à température ambiante dans l'obscurité. Enfin, les boîtes de Pétri ont été vérifiées tous les quelques jours.

Pour **Bruner et al. (2018)**, les milieux contenant du PE ou du PU étaient à la fois laiteux et non transparents. Les polymères PE, cependant, flottaient au sommet du milieu pendant la solidification de la gélose, tandis que les polymères PU restaient répartis de manière homogène dans le milieu après la solidification de la gélose. on s'attendait à ce que les champignons capables de dégrader les polymères plastiques présentent une zone claire « halo » autour des cultures en croissance à la suite d'une dégradation plastique enzymatique par diffusion d'enzymes excrétées par les hyphes fongiques, ou dans le cas de PE, se développent sur les granulés plastiques. Cependant, le milieu avec le TA devait changer de couleur du brun clair au brun foncé à la suite d'une réaction d'oxydation enzymatique du TA par la diffusion d'enzymes excrétées par les hyphes fongiques.



**Figure 11:** Dégradation du polyuréthane (PU) dans des boîtes de Pétri (diamètre 9 cm) par des inoculums fongiques à température ambiante.

Par ailleurs, **Annamalai et Nallamuthu (2011)** ont basé leurs surveillances de la biodégradation sur la technologie de la microscopie électronique à balayage (MEB). Ils ont utilisé des sacs en plastique comme polyéthylène standard (PE). Donc, ils ont ajouté un morceau de polyéthylène (50 mg) dans un erlenmeyer (250 ml) contenant 100 ml du milieu de base. Après inoculation avec la souche fongique, ils ont été incubés à 30°C à 150 rpm pendant deux mois. Ils ont réalisé l'expérience en triple. Après incubation, ils ont retiré les morceaux de polyéthylène et les ont lavés avec de l'eau distillée stérile. Ils ont ensuite vérifié la

décomposition en prenant une micrographie électronique par microscope électronique à balayage (Leo 440i) pour tester les morceaux de polyéthylène traités par les champignons microbienne et réaliser une comparaison à ceux du polyéthylène non traités.

En utilisant la technique de la mesure de l'évolution du CO<sub>2</sub> résultant de la biodégradation de la chaîne polymère (PE). Ils ont déterminée par gravité en utilisant le test de **Sturm (1973)**, où ils ont ajouté des morceaux de PE dans un flacon contenant 300 ml de milieu minéral sans aucune autre source de carbone et inoculé avec  $1,5 \times 10^5$  spores / ml champignons d'essai (*Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus*). Le flacon témoin était exempt de plastique. Puis, ils laissèrent un volume égal d'air, stérilisé par un filtre 0,2, s'écouler à travers une solution de KOH 3 M contenant les flacons piégeant le dioxyde de carbone de l'air. Ensuite, ils ont continuellement agité et contrôlé les bouteilles d'essai en les plaçant sur l'agitateur magnétique. Ils ont effectué le test à température ambiante (30°C) pendant 4 semaines de culture, après quoi ils ont calculé la différence de biomasse et la quantité de dioxyde de carbone produite dans les flacons de test et de contrôle. Le dioxyde de carbone est apparu à la suite de la dégradation de la chaîne polymérique dans le flacon d'essai, où il a été piégé dans les flacons absorbants contenant 1 M de KOH. Enfin, ils ont ajouté 0,1 M de solution de BaCl<sub>2</sub> à chacun des flacons de test et de contrôle. Cela a entraîné la libération de dioxyde de carbone pendant la respiration microbienne ainsi que du craquage du polymère, qui a été adsorbé dans des bouteilles de contrôle et d'essai contenant du KOH, formant un précipité de carbonate de baryum. Ils ont calculé le CO<sub>2</sub> produit en pesant les dépôts de CO<sub>2</sub> produits par l'ajout de BaCl<sub>2</sub>.

*Résultats*

RÉSULTATS

*et*

ET

*discussion*

DISCUSSION

## I. Résultats :

### I.1. Résultats d'isollements des champignons :

D'après Bruner *et al.* (2018), les souches fongiques se sont généralement développées en quelques jours. Au total, plus d'une centaine de souches fongiques ont été isolées. Selon leur aspect extérieur, les souches fongiques ont été regroupées en groupes morphologiques. De ces groupes, une ou deux souches fongiques par groupe ont été sélectionnées, au total 24 souches fongiques. Après dynamitage des séquences selon la petite unité ADN<sub>r</sub> avec la base de données NCBI, les noms des espèces les plus proches ont été répertoriés. Dans plusieurs cas, des noms identiques sont apparus.

La liste finale des organismes isolés et séquencés à partir de débris plastiques contenait douze espèces différentes de champignons appartenant aux Ascomycètes et une espèce aux Oomycètes (*Pythium*). Les noms de champignons ont été vérifiés et approuvés à l'aide de l'Index Fungorum, Une bonne identification des noms fongiques est donnée lorsque l'identité nucléotidique était égale ou supérieure à 97 %. Si l'identité était inférieure à 97 %, les noms doivent être pris avec prudence et ils pourraient ne pas être corrects (**Tableau 5**).

**Tableau 5:** Liste des champignons isolés à partir de débris de plastique et de leur capacité à dégrader PE et / ou le PU, respectivement (+ oui ; - non). Les champignons ont été séquencés avec les paires d'amorces ITS1/ITS4 ou ITS3/ITS4. Les cultures vivantes sont déposées à la collection de champignons WSL. N° WSL : Numéro de la culture dans la collection de champignons WSL. Longueur : Longueur du fragment séquencé (pb). (%) avec la correspondance la plus proche de la base de données NCBI ayant un nom de genre.

Identité de l'espèce	Espèces de champignons	N° WSL	amorce	Longueur (pb)	Identité (%)	NCBI le plus proche	PE	PU
<b>Haute</b>	<i>Arthrinium arundinis</i>	167.01	ITS3/4	301	99	KJ1886 80.1	-	-
<b>Haute</b>	<i>Botryotinia fuckeliana</i>	168.01	ITS3/4	300	99	KF533 003.1	-	-
<b>Haute</b>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	156.01	ITS1/4	522	99	KU508 795.1	-	+
<b>Haute</b>	<i>Leptosphaeria sp.c</i>	165.01	ITS1/4	495	99	KP747 710.1	-	+

<b>Haute</b>	<i>Penicillium griseofulvum</i>	159.01	ITS3/4	314	99	KJ4673 53.1	-	+
<b>Haute</b>	<i>Phialemoniopsis curvata</i>	166.01	ITS3/4	306	98	NR132 067.1	-	-
<b>Haute</b>	<i>Phoma sp.</i>	163.01	ITS3/4	306	99	DQ344 033.1	-	-
<b>Haute</b>	<i>Pythium phragmitis</i>	162.01	ITS3/4	584	98	HQ643 746.1	-	-
<b>Haute</b>	<i>Stagonospora neglecta</i>	169.01	ITS3/4	303	99	AJ4966 30.1	-	-
<b>Haute</b>	<i>Xepiculopsis graminea</i>	155.01	ITS1/4	546	97	HQ608 010.1	-	+
<b>Faible</b>	<i>Exophiala bonariae</i>	160.01	ITS3/4	547	96	KP791 795.1	-	-
<b>Faible</b>	<i>Pseudorobillarda texana</i>	164.01	ITS3/4	326	84	FJ8253 72.1	-	-
<b>Faible</b>	<i>Setophoma vernoniae</i>	158.01	ITS3/4	309	88	KJ8691 41.1	-	-

Selon Annamalai et Nallamuthu (2011), les souches fongiques isolées des morceaux de plastique enfouis dans le sol par une technique de dilution en série ont été identifiées comme étant : *Aspergillus niger*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus tamarri*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* et *Mucor* sur la base d'un examen microscopique et macroscopique. Les souches fongiques identifiées ont été criblées pour leur capacité de colonisation et d'utilisation de la PE par une technique d'enrichissement. Le taux de croissance évalué par examen visuel et microscopique n'a montré aucune croissance de *Mucor racemosus* sur la surface du PE tandis qu'*Aspergillus terreus* a montré une trace de croissance, *Aspergillus flavus* a montré une croissance légère, *Aspergillus tamarri* a montré une croissance modérée, *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* ont montré une forte croissance. Ainsi, *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* ont été sélectionnés pour d'autres études.

## I.2. Les résultats de Biodégradations :

Bruner *et al.* (2018) ont présenté les résultats de deux techniques de biodégradations :

### I.2.1. Capacité des souches fongiques des débris de plastique à dégrader le PE et le PU :

Au total, douze espèces de champignons et une espèce d'Oomycètes ont été testées pour dégrader le PE ou le PU (Tableau 6). Après au moins trois semaines de croissance, aucun signe « halos » n'était visible autour de l'inoculum, ni la croissance des inocula n'a été enregistrée dans le test de dégradation de PE. En revanche, des « halos » étaient visibles dans le test de dégradation du PU après au moins trois semaines de croissance autour des inocula de quatre espèces fongiques *Cladosporium cladosporioides*, *Xepiculopsis graminea*, *Penicillium griseofulvum* et *Leptosphaeria sp.* (Tableau 6, fig. 11). Le champignon le plus efficace pour la dégradation du PU était *C. cladosporioides* avec une croissance approximative du halo de 4 mm/j (Fig. 11). Pour garantir les noms d'espèces, certains de ces taxons ont été séquencés à nouveau avec les paires d'amorces ITS1 et ITS4 pour obtenir des séquences plus longues, qui ont ensuite été déposées à la base de données NCBI sous les numéros d'accès MF327241-MF327243 (Tableau 6).

### I.2.2. Capacité des souches fongiques de guildes à dégrader le PU et le TA :

Dans l'ensemble, aucun des champignons testés n'était capable de dégrader le PE. Cependant, trois espèces de champignons ont pu le dégrader : *Agaricus bisporus*, *Marasmius oreades* et *Pestalotiopsis microspora* (Tableau 7). Étonnamment, aucun des champignons hautement spécialisés de décomposition de la lignine, tels que les champignons saprotrophes à pourriture blanche ou les agents pathogènes des plantes, n'a été capable de dégrader le PU. De même, les champignons *ectomycorhiziens* ainsi que les champignons saprotrophes de la pourriture brune n'étaient pas capables de dégrader le PU. Parmi les saprotrophes communs, qui étaient tous capables de dégrader le TA, seules les deux espèces *A. bisporus* et *M. oreades* étaient capables de dégrader en plus le PU (Tableau 7).

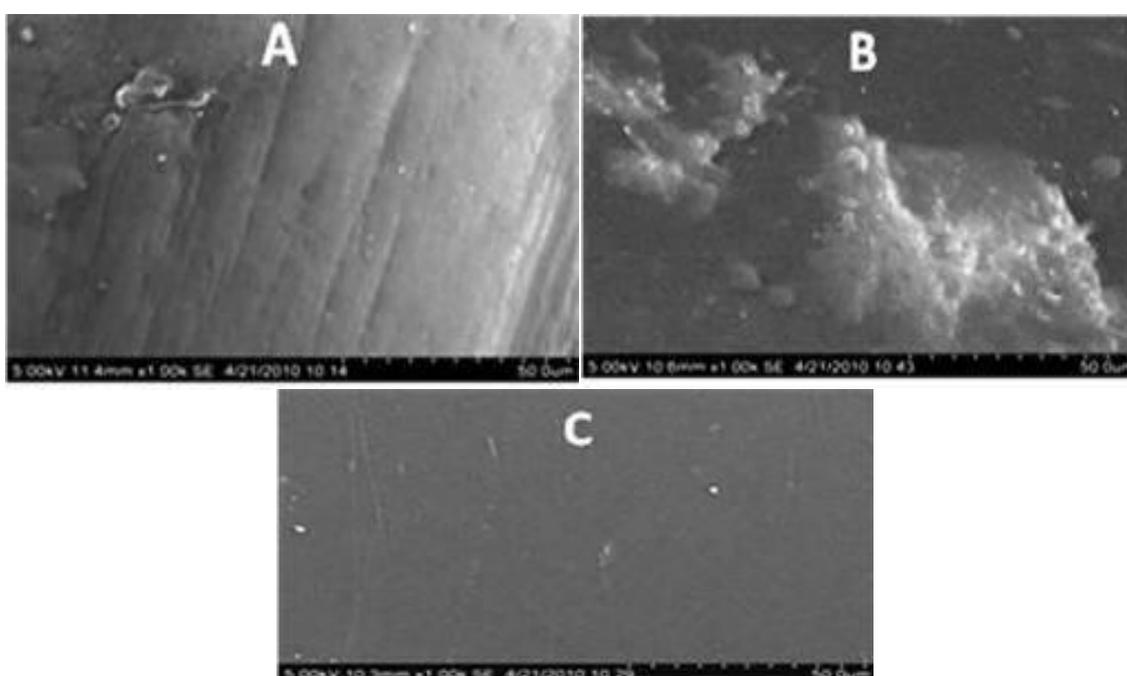
**Tableau 6:** Champignons sélectionnés de la collection de cultures du WSL (Institut fédéral suisse de recherche sur la forêt, la neige et le paysage) isolés de débris plastiques ou de diverses autres sources et leur capacité à dégrader respectivement le polyuréthane (PU) et/ou l'acide tannique (TA) (+ oui ; - non). Guilde : Groupes écologiques selon **Nguyen et al. (2016)**, et **Gramss et al. (1998)**. Décomposeurs du bois : BR ; Champignons de la pourriture brune ; WR : Champignons de la pourriture blanche, N° WSL : Numéro de la culture dans la collection de champignons WSL.

Origine de l'isolement	Phylum	Guilde	Espèces Fongus	N°WSL	PU	TA
Débris de plastique	Ascomycètes	Litière saprotrophe	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	156.01	+	-
			<i>Xepiculopsis graminea</i>	155.01	+	+
			<i>Penicillium griseofulvum</i>	159.01	+	-
		Pathogène Des plantes	<i>Leptosphaeria sp.</i>	165.01	+	-
			<i>Arthrinium arundinis</i>	167.01	-	-
			<i>Botryotinia fuckeliana</i>	168.0	-	-
		Endophyte	<i>Stagonospora neglecta</i>	169.01	-	+
Substrat végétal	Ascomycètes	Endophyte	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	147.01	+	-
Corps de fructification	Basidiomycètes	Litière saprotrophe	<i>Agaricus bisporus</i>	99.01	+	+
			<i>Marasmius oreades</i>	105.01	+	+
			<i>Agrocybe praecox</i>	125.01	-	+
			<i>Clitocybe nebularis</i>	103.01	-	+
			<i>Coprinus</i>	149.01	-	+

			<i>comatus</i>			
			<i>Phallus impudicus</i>	128.01	-	+
		Bois saprotrophe WR	<i>Hypholoma fasciculare</i>	153.0	-	+
			<i>Armillaria cepistipes</i>	129.01	-	+
			<i>Phanerochaete sanguinea</i>	140.01	-	+
			<i>Pleurotus eryngii</i>	130.01	-	+
			<i>Pleurotus ostreatus</i>	134.01	-	+
			<i>Stereum hirsutum</i>	136.01	-	+
		Pathogène des plantes WR	<i>Armillaria ostoyae</i>	135.01	-	+
			<i>Climacocystis borealis</i>	132.01	-	+
			<i>Heterobasidion parviporum</i>	131.01	-	+
		Bois saprotrophe BR	<i>Fomitopsis pinicola</i>	142.03	-	+
			<i>Gloeophyllum sepiarium</i>	80.01	-	+
			<i>Postia tephroleuca</i>	141.01	-	+
		Ectomycorrhizal	<i>Hebeloma edurum</i>	8.01	-	+
			<i>Suillus granulatus</i>	144.01	-	+

Relativement à **Annamalai et Nallamuthu (2011)**, la mesure de la biodégradation a été effectuée en deux méthodes :

- Microscopie électronique à balayage (MEB) : Des micrographies électroniques à balayage de morceaux de PE ont été prises après deux mois d'incubation avec *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus*. Dans les échantillons d'essai, ils ont observé des érosions et une rugosité importante de la surface avec formation de piqûres, alors qu'aucun changement de ce type n'a été détecté dans les morceaux de PE non traités (**Fig. 12**).



**Figure 12:** Micrographies MEB de A) après exposition à *Aspergillus Niger* pour 2 mois, B) après exposition à *Aspergillus japonicus* pendant 2 mois, C) non traitée.

- Test d'évolution du CO<sub>2</sub> : La quantité totale de dioxyde de carbone dégagée et calculée par gravimétrie était d'environ 1,72 g L<sup>-1</sup> chez *Aspergillus niger* et 1,98 g L<sup>-1</sup> chez *Aspergillus japonicus*, alors que, 0,36 g L<sup>-1</sup> en cas de contrôle. L'augmentation totale de la biomasse chez *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* était plus élevée (1,976 g et 2,548 g) que le témoin (0,120 g) (**Tableau 5**).

**Tableau 7:** Analyse gravimétrique de l'évolution du CO<sub>2</sub> déterminée par le test de Sturm.

<b>Échantillon</b>	<b>Augmentation totale de la biomasse (g)</b>	<b>Quantité totale de CO<sub>2</sub> produite (gL<sup>-1</sup>)</b>
<i>Aspergillus niger</i>	1.976	1.72
<i>Aspergillus japonicus</i>	2.548	1.98
contrôle	0.120	0.36

## I. Discussion :

D'après **Bruner et al. (2018)**, la liste des organismes qui ont été isolés à partir de débris plastiques, comprenait des champignons saprotrophes courants, mais également certains agents pathogènes des plantes. Les champignons saprotrophes les plus courants étaient *Penicillium griseofulvum* et *Cladosporium cladosporioides*. Certains champignons sont connus pour vivre comme des saprotrophes dans les sols et les sédiments tels que *Xepiculopsis graminea* et *Phialemoniopsis curvata*. D'autres sont connus pour vivre en association avec des graminées ou avec des plantes poussant dans les zones littorales des lacs, par ex. *Arthrimum arundinis*, *Leptosphaeria sp*, et *Phoma sp*. Par ailleurs ceux qui sont hautement spécialisés dans le roseau commun (*Phragmites australis*) comme le champignon endophyte *Stagonospora négligencea*. *Botryotinia fuckelinana* est connu comme un champignon nécrotrophe qui affecte de nombreuses espèces végétales.

Ainsi, les espèces fongiques qui n'avaient qu'une faible identité (*Exophiala bonariae*, *Pseudorobillarda texana*, *Setophoma vernoniae*), ont été isolées par d'autres soit à partir de roches soit à partir de feuilles de plantes exotiques. Le seul organisme n'appartenant pas aux champignons était l'oomycète *Pythium phragmitis* qui est un agent pathogène du roseau commun (*Phragmites australis*).

Les quatre espèces fongiques isolées des débris de plastique ont montré un « halo » dans le dosage PU : *C. cladosporioides*, *P. griseofulvum*, *X. graminea* et *Leptosphaeria sp*. *Cladosporium cladosporioides* avait déjà été observé par d'autres comme étant capable de dégrader le PU.

**Bruner et al. (2018)** ont constaté que les six meilleures souches dégradant le PU à l'aide d'un test Impranil appartenaient au complexe *C. cladosporioides*, avec des identités comprises entre 99 % et 100 %. Une analyse BLAST plus poussée de l'actine et du facteur d'allongement de la traduction de ces six souches a montré les correspondances les plus élevées avec *C. pseudocladosporioides*, *C. tenuissimum*, *C. asperulatum* et *C. montecillanum*. Certains rapports, contrairement à notre étude, ont indiqué que *C. cladosporioides* est également capable de dégrader le PE. Cependant, leurs résultats ne reposent pas sur la formation d'un « halo » dans une boîte de Pétri après dégradation du PE, mais sur l'observation de l'érosion de la surface du film PE au voisinage des hyphes fongiques ainsi que de la formation de produits d'oxydation à la surface du film polymère mesuré par FTIR

(spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier). *Penicillium ochrochloron*, une espèce différente de notre *P. griseofulvum* isolé, avait déjà été observé par d'autres auteurs comme ayant la capacité de dégrader le PU. Ces auteurs ont appliqué de la même manière que décrit ci-dessus le dosage du PU en utilisant Impranil pour les champignons du sol qu'ils ont isolés à partir de morceaux de PU enfouis dans le sol. Pour *Xepiculopsis graminea* et *Leptosphaeria sp.*, en revanche, aucune référence n'a été trouvée dans la littérature. Ainsi, il s'agit du premier rapport sur la capacité de ces deux champignons à dégrader le PU.

Il existe des preuves dans la littérature que les micro-organismes capables de dégrader les polymères C complexes tels que la lignine peuvent également dégrader les plastiques. Un tel potentiel de dégradation est basé sur des enzymes dégradant la lignine, par ex. les oxydases, les laccases et les peroxydases, qui sont utilisées dans diverses industries et qui seraient également impliquées dans la dégradation des composés xénobiotiques et des colorants. Globalement, les trois champignons saprotrophes *Agaricus bisporus*, *Marasmius oreades* et *Xepiculopsis graminea* restent les seuls champignons de notre étude capables de dégrader le PU ainsi que le TA. Au moins *A. bisporus* est connu pour posséder une grande variété d'enzymes, notamment des enzymes impliquées dans la dégradation du xylane, de la cellulose, de la pectine et des protéines, ainsi que des hème-thiolate peroxydases et des -éthérasés, qui se distinguent des autres agents de décomposition du bois et suggèrent une large attaque contre la lignine en décomposition et les métabolites apparentés trouvés dans un environnement riche en acide humique. La capacité catabolique d'*A. bisporus* est en accord avec la présence d'un large ensemble de gènes codant pour les CAZymes agissant sur les polysaccharides de la paroi cellulaire, notamment les glycoside hydrolases, les polysaccharides lyases et les glucides estérases. Les glucides estérases sont adaptés chez *A. bisporus* pour décomposer les polysaccharides de la paroi cellulaire xylane, chitine et pectine (**Patyshakuliyeva et al., 2013**).

*Marasmius oreades* est connu pour produire des anneaux de fées dans les prairies. Les cercles de fées sont caractérisés par deux ou trois zones concentriques adjacentes de gazon anormal. Dans la zone de croissance fongique la plus intense, l'herbe est souvent tuée, et cet effet a été attribué à un manque d'humidité et à l'acide cyanhydrique produit par le champignon. La présence d'anneaux de fées dans la végétation naturelle a des effets contrastés simultanés de stimulation et de parasitage des espèces végétales dans les zones adjacentes, produisant des bandes régulières concentriques de végétation luxuriante et brûlée. Dans les sols colonisés par *M. oreades*, la dégradation des racines des plantes en présence d'enzymes

fongiques dégradant la paroi cellulaire a augmenté la teneur en carbone organique dissous. Fait intéressant, similaire à *M. oreades*, les membres du genre *Agaricus* forment également un anneau de fée, par ex. *A. arvensis*. Ainsi, on peut supposer que les membres des deux, *Agaricus* et *Marasmius*, possèdent des capacités enzymatiques similaires pour décomposer les polymères glucidiques complexes.

Les membres de *Xepiculopsis* sont des champignons ascomycètes filamenteux, qui poussent omniprésents dans les sols ou sont de faibles agents pathogènes des plantes, mais ils sont également capables de pousser sur les murs des maisons (Chen *et al.*, 2016).

Certaines espèces produisent des mycotoxines et sont utilisées comme agents de lutte biologique pour lutter contre les mauvaises herbes (Abbas *et al.*, 2002). *Xepiculopsis graminea* a été initialement décrit comme *Myrothecium gramineum* sur des graminées en décomposition. Mais à part cela, on ne sait pas grand-chose de cette espèce.

Outre les champignons dégradant le PU signalés dans la présente étude, une série d'autres champignons ascomycètes dégradent le PU. Les champignons les plus connus appartiennent aux genres *Aspergillus* et *Trichoderma*, tous connus pour être utilisés dans des processus biotechnologiques (Meyer *et al.*, 2016). Les membres d'*Aspergillus* sont utilisés pour produire les enzymes amylases, glucoamylases, glucose oxydase, invertase, pectinase et protéinases, tandis que les membres de *trichoderma* sont utilisés pour produire de la cellulase (Bennett, 1998).

Bien qu'ils n'aient pas étudié dans la présente étude les enzymes produites par les champignons dégradant le PU, plusieurs études indiquent que les enzymes impliquées dans la dégradation du PU sont très probablement des estérases et des hydrolases. Alvarez-Barragan *et al.*, 2016, ont postulé que le complexe *Cladosporium cladosporioides* était le meilleur dégradant du PU parmi les champignons testés, tandis qu'*Aspergillus fumigatus* et *Penicillium chrysogenum* étaient les souches les moins dégradantes. Outre Impranil, les isolats fongiques de *Cladosporium spp.* Mousse PU dégradée également. La spectroscopie FTIR et l'analyse GC-MS ont montré que les groupes ester et uréthane étaient attaqués par l'activité d'enzymes fongiques. Au cours de la dégradation du PU, des activités considérables d'estérases ont été détectées, mais seulement une faible activité d'uréase et aucune activité de protéase. Loredó-Treviño *et al.* (2011), isolant 32 souches fongiques à partir d'échantillons de sable contaminés par du PU, a signalé que 22 souches pouvaient se développer en utilisant le PU comme source de nutriments. Parmi les genres trouvés figuraient *Aspergillus*, *Trichoderma*,

*Penicillium* et *Fusarium*. Presque tous les champignons dégradant le PU ont montré une activité d'uréase, tandis que les activités d'estérase, de protéase et de laccase n'étaient présentes que dans une plus faible quantité de champignons. Pour l'espèce dégradant le PU *Pestalotiopsis microspora*, ils ont suggéré qu'une enzyme de type sérine hydrolase était responsable de la dégradation du PU.

Cependant, **Annamalai et Nallamuthu (2011)** ont isolé six souches fongiques à partir de morceaux de plastique enfouis dans le sol et examiné deux souches fongiques, *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* capables d'adhérer à la surface du polyéthylène et de l'utiliser comme source de carbone et d'énergie (**EISHafei et al., 1998**) ont étudié la capacité des champignons et des souches de *Streptomyces* à attaquer le polyéthylène dégradable constitué de sacs en polyéthylène jetés et ont isolé huit souches différentes de *Streptomyces* et deux champignons *Mucor rouxii* et *Aspergillus flavus* à partir de boues d'épuration. *Aspergillus flavus*, isolé des décharges contrôlées, s'est également avéré capable de dégrader le PE. **Yamada-Onodera et al. (2001)** ont identifié un champignon, *Penicillium simplicissimum*, qui pourrait dégrader le polyéthylène haut densité non traité.

D'ailleurs, ils ont utilisé une technique d'enrichissement pour l'isolement de micro-organismes dégradant le PE. Les méthodes de culture d'enrichissement se sont également révélées efficaces pour isoler une bactérie thermophile *Brevibacillus borstelensis* souche 707 capable d'utiliser le polyéthylène comme seule source de carbone et d'énergie.

Lorsque des morceaux de plastique polyéthylène ont été examinés au microscope après une expérience d'enrichissement en milieu de base, une fixation fongique a été trouvée à la surface du plastique, indiquant une utilisation possible du plastique comme source de nutriments. La capacité des souches fongiques à former un biofilm sur le polyéthylène a été attribuée à la diminution progressive de l'hydrophobie de sa surface. Une augmentation visible de la croissance à la surface du plastique a également été observée lors de la culture avec les mêmes isolats dans un milieu de sel basal pendant 2 mois.

De notre criblage préliminaire, on peut conclure que les morceaux de plastique enfouis dans le sol contenaient des souches fongiques capables d'adhérer à la surface des films de polyéthylène. Cela indique également la possibilité de leur capacité à utiliser le PE comme source de nutriments conduisant à leur biodégradation. L'augmentation de la biomasse dans nos cultures liquides avec PE confirme la capacité de ces microbes à utiliser ce polymère comme source de carbone.

Les résultats de la microscopie électronique à balayage ont indiqué des dommages à la surface du PE incubé avec *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus*. Ainsi, on peut conclure que les souches fongiques en particulier *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* sont capables d'adhérer à la surface du PE et peuvent provoquer des dommages de surface qui peuvent faciliter la dégradation du plastique.

La biodégradation peut être définie comme la conversion catalysée par des microbes d'un substrat polymère en biogaz dans des conditions aérobies (CO<sub>2</sub>) et anaérobies (CH<sub>4</sub>) dans un environnement biologiquement actif. Le test de Sturm est une technique de biodégradation aérobie basée sur la production de CO<sub>2</sub>.

Le test de Sturm (**Sturm, 1973**), méthode manuelle, est couramment utilisé pour évaluer la biodégradabilité des matériaux polymères. Diverses modifications de ce test ont été utilisées pour la mesure du dégagement de dioxyde de carbone lors de la dégradation des polymères (**Muller et al., 1992 ; Kim et al., 2000 ; Zee et al., 1998**). L'importance des tests de Sturm modifiés réside davantage dans l'analyse de la biodégradation complète des matériaux polymères lors du traitement des déchets biologiques (**Kim et al., 2000**).

Dans cette étude, ils ont utilisé cette technique pour vérifier la biodégradation du PE. Il y avait une différence dans la quantité de dioxyde de carbone produite dans les tests et les bouteilles témoins indiquant une plus grande dégradation du polymère dans le test que dans le témoin.

Donc, les souches fongiques *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* ont été isolées de morceaux de plastique enfouis dans le sol, capables non seulement d'adhérer à la surface du film PE, mais également de l'utiliser comme source de carbone et d'énergie, comme en témoigne l'augmentation de la croissance. Bien que ce soit un processus lent, des études comme celle-ci donnent des preuves de la biodégradation du PE. Cela indique qu'il existe une grande possibilité de trouver des micro-organismes de l'environnement qui peuvent dégrader les plastiques synthétiques.

# *Conclusion Générale*

CONCLUSION GÉNÉRALE

## Conclusion générale.

La résistance du plastique à la biodégradation constitue un problème important pour l'écosystème c'est pourquoi la majorité des champignons isolés à partir de débris de plastique au bord d'un lac en Suisse ne semblent pas capables de dégrader le plastique sur lequel ils ont poussé. Aucun de ces champignons n'était capable de dégrader le PE, alors qu'au moins quelques champignons isolés avaient la capacité de dégrader le PU. Trois de ces champignons étaient des saprotrophes et un était un phytopathogène. Ainsi, nous n'avons pu que partiellement confirmer l'hypothèse formulée précédemment selon laquelle au moins une partie du champignon peut dégrader le plastique, mais uniquement le PU et pas spécialement le PE.

La recherche d'espèces fongiques supplémentaires isolées des autres substrats que ce soit des plastiques ou des fructifications a révélé qu'elles étaient en général également incapables de dégrader le PE. Seuls deux champignons saprotrophes, *Agaricus bisporus* et *Marasmius oreades*, ont été capables de dégrader le PU.

Il semble que la dégradation biologique du PE reste encore un défi, bien qu'il y ait eu récemment plusieurs articles de revue selon lesquels les champignons peuvent dégrader le PE par exemple **Shah et al. (2008)** et **Pathaket al. (2017)**, ces rapports ne sont que de vagues indices. Sinon, les déchets plastiques ne seraient pas transportés verticalement à travers les océans et les paysages, fragmentés mécaniquement et finalement accumulés sous forme de micro- ou nano-plastiques dans les sédiments et l'environnement si ces champignons et autres micro-organismes étaient efficaces dans la dégradation.

Ces petits fragments de plastique en particulier sont problématiques, car ils entrent dans les réseaux trophiques et s'accumulent potentiellement chez les animaux. La guildes écologique facilite la recherche de champignons potentiels qui est capable de dégrader les plastiques. Si tels micro-organismes pouvaient être trouvés, leurs spores ou leurs enzymes de dégradation du plastique pourraient être incorporées dans la matière plastique pendant la fabrication et lorsque les déchets plastiques entreraient en contact avec l'eau de mer ou de lac, les champignons commenceraient à se développer et à dégrader le plastique.

Dans une autre étude, les souches fongiques *Aspergillus niger* et *Aspergillus japonicus* qui ont été isolées de morceaux de plastique enfouis dans le sol des rives, sont capables non seulement d'adhérer à la surface du film PE, mais également de l'utiliser comme source de carbone et d'énergie, en témoignant de l'augmentation de la croissance. Bien que ce soit un processus lent, des études comme celles-ci donnent des preuves de la biodégradation du PE.

Cela indique qu'il existe une grande possibilité de trouver des micro-organismes de l'environnement qui peuvent dégrader les plastiques synthétiques.

Au bout de compte, les résultats obtenus dans cette analyse, nous ont poussés à suggérer que les champignons dont quelques espèces seulement peuvent être une solution partielle de remédiation de cette douleur mondiale planétaire. De plus, il vaut mieux de commencer à prendre des mesures pour arrêter la pollution plastique sont nécessaires maintenant plus que jamais.

Par exemple l'amélioration de promouvoir de la gestion écologiquement rationnelle des déchets plastiques au niveau mondial, national et régional consiste à prévenir et à minimiser leur génération de réduire et éliminer considérablement les rejets de déchets plastiques et de microplastiques dans l'environnement, en particulier le milieu aquatique.

Pour conclure, nous signalons que cette étude était très excitante pour nous et nous espérons donner suite à cette recherche mais avec notre propre expérience pour avoir de meilleurs résultats.

*Référence*

ՐԵՖԵՐԵՆՑԵ

*Bibliographique*

ԲԻԲԼԻՈԳՐԱԳԻՖԻԿԵ

**Abbas, H., Johnson, B., Shier, W., Tak, H., Jarvis, B., et Boyette, C.** (2002). Phytotoxicity and mammalian cytotoxicity of macrocyclic trichothecene mycotoxins from *Myrothecium verrucaria*. *Phytochemistry*, 59(3), 309-313.

**Addou, A.** (2009). Traitements des déchets. Valorisation, élimination (Technosup) : Vol. 288 p (ELLIPSES MARKETING éd.). ELLIPSES.

**Andrady, A. L.** (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596- 1605.

**Archibald, J. M., Simpson, A. G. B., et Slamovits, C. H.** (2017). Handbook of the Protists (2 éd. (2017), Vol. 1657. Springer.

**Ashter, S. A.** (2016). New Developments. *Introduction to Bioplastics Engineering*, 3(10), 251-274.

**Assessment, M. E.** (2005). Ecosystems and Human Well-Being : Current State and Trends : Findings of the Condition and Trends Working Group (Volume 1) (Millennium Ecosystem Assessment Series) (Illustrated éd., Vol. 948). Island Press.

**Asuquo, I.** (2018). Plastic Waste in the Aquatic Environment : Impacts and Management. *Environment*, 2(1), 1-31.

**Atlas du Plastique** | Heinrich Böll Stiftung | Bureau Paris - France. Atlas du Plastique, (2020, mars). 31pages, Direction du projet : Lili Fuhr (Heinrich-Böll-Stiftung) et Matthew Franklin (Break Free From Plastic). <https://fr.boell.org/fr/atlas-du-plastique>

**Azevedo-Santos, V. M., Brito, M. F. G., Manoel, P. S., Perroca, J. F., Rodrigues-Filho, J. L., Paschoal, L. R. P., Gonçalves, G. R. L., Wolf, M. R., Blettler, M. C. M., Andrade, M. C., Nobile, A. B., Lima, F. P., Ruocco, A. M. C., Silva, C. V., Perbiche-Neves, G., Portinho, J. L., Giarrizzo, T., Arcifa, M. S., et Pelicice, F. M.** (2021). Plastic pollution : A focus on freshwater biodiversity. *Ambio*, 1-12.

**Azubuike, C. C., Chikere, C. B., et Okpokwasili, G. C.** (2016). Bioremediation techniques classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11), 180.

**Beakes, G. W., Glockling, S. L., et Sekimoto, S.** (2011). The evolutionary phylogeny of the oomycete “fungi”. *Protoplasma*, 249(1), 3-19.

- Bennett, J.** (1998). Mycotechnology : the role of fungi in biotechnology. Based on a lecture held at the symposium, 'Progress in US Biotechnology', at the 8th European Congress on Biotechnology (ECB8) in Budapest, Hungary, August 1997.1. *Journal of Biotechnology*, 66(2-3), 101-107.
- Berg, D. M. V. A., et Maruthachalam, K.** (2016). Genetic Transformation Systems in Fungi, Volume 2 (Fungal Biology) (Softcover reprint of the original 1<sup>er</sup> éd. 2015, Vol. 288). Springer.
- Bhandari, S., Poudel, D. K., Marahatha, R., Dawadi, S., Khadayat, K., Phuyal, S., Shrestha, S., Gaire, S., Basnet, K., Khadka, U., et Parajuli, N.** (2021). Microbial Enzymes Used in Bioremediation. *Journal of Chemistry*, 2021, 1-17.
- Bouchet, P., Guignard, J., Villard, J., et Pouchus, Y.-F.** (2005). Les champignons : Mycologie fondamentale et appliquée (2<sup>e</sup> éd., Vol. 191). Editions Masson, Paris.
- Biffinger, J.C, Barlow, D.E, Cockrell, A.L, Cusick KD, Hervey WJ, et Fitzgerald LA,** (2015), The applicability of Impranal DLN for gauging the biodegradation of polyurethanes. *Polym Degr Stab*, 120, 178-185.
- Chaparian, M. G.** (1999). Bioremediation. *Encyclopedia of Earth Science*, 53-58.
- Chen, Y.** (2016). Mycosphere Essays 2. Myrothecium. *Mycosphere*, 7(1), 64-80.
- Crawford, R. L.** (2006). Bioremediation. *The Prokaryotes*, 4(29), 850-863.
- Cuculić, V., Frančičković-Bilinski, S., Bilinski, H., Maldini, K., Tomas, D., et Tomašić, N.** (2016). Multi-methodological approach to evaluate trace elements and major components in wetland system with subsaline and freshwater characteristics. *Environmental Earth Sciences*, 75(20), 1-18.
- Cui, S. W.** (2000). Polysaccharide Gums from Agricultural Products : Processing, Structures and Functionality (1<sup>er</sup> éd., Vol. 585). CRC Press.
- Damien, A.** (2006). Guide du traitement des déchets (4<sup>e</sup> éd., Vol. 549). Dunod.
- Descals, E., et Webster, J.** (1981). Teleomorphs of three aquatic hyphomycetes. *Transactions of the British Mycological Society*, 77(3), 475-483.
- Deysson, G., et Delcourt, A.** (1980). Cryptogamie : Mycologie générale et appliquée (French Edition) (2<sup>e</sup> éd., Vol. 438). SEDES-C.D.U.

**Dighton, J.** (2003). *Fungi in Ecosystem Processes* [fungi in ecosystem processes BY Dighton, John (Author) May-14-2003 (1<sup>re</sup> éd., Vol. 424). CRC Press.

**Dijksterhuis, J., et Samson, R. A.** (2007). *Food Mycology : A Multifaceted Approach to Fungi and Food* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 424). CRC Press.

**Dube, H. C.** (2013). *An Introduction to Fungi*, 4th Ed. P/B [Paperback] [Jan 01, 2013] Dube, H.C. (4<sup>e</sup> éd., Vol. 603). SENTIFIC.

**DUCHE, J.** (1945). Les champignons de l'eau. *Bulletin Français de Pisciculture*, 16(136), 136-151.

**El Fantroussi, S., et Agathos, S. N.** (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation ? *Current Opinion in Microbiology*, 8(3), 268- 275.

Elwatan. (2020a, mars 22). L'Algérie peine à se doter d'une industrie de recyclage. *El Watan*. <https://www.elwatan.com/pages-hebdo/sup-eco/lalgerie-peine-a-se-doter-dune-industrie-de-recyclage-09-07-2018>

**Farhi, R., Morel, C., et Chéron, J.** (2006). *Matières plastiques et adjuvants. Hygiène et sécurité* (638<sup>e</sup> éd., Vol. 226). INRS.

**Fesseha, H., et Abebe, F.** (2019). Degradation of Plastic Materials Using Microorganisms : A Review. *Public Health – Open Journal*, 4(2), 57-63.

**Gadd, G.** (2007). *Fungi in the Environment* (British Mycological Society Symposia, Series Number 25) (1<sup>re</sup> éd., Vol. 407). Cambridge University Press.

**Gadd, G. M., Ramsay, L., Crawford, J. W., et Ritz, K.** (2001). Nutritional influence on fungal colony growth and biomass distribution in response to toxic metals. *FEMS Microbiology Letters*, 204(2), 311-316.

**Garcia, R., Jara, F., Steciow, M., et Reissig, M.** (2018). Oomycete parasites in freshwater copepods of Patagonia : effects on survival and recruitment. *Diseases of Aquatic Organisms*, 129(2), 123-134.

**Goltapeh, E. M., Danesh, Y. R., et Varma, A.** (2013). *Fungi as Bioremediators* (Soil Biology, 32) (2013<sup>e</sup> éd., Vol. 489). Springer.

**Ghosh SK, Pal S et Ray S.** (2013). Study of microbes having potentiality for biodegradation of plastics. *Environ Sci Pollut Res*, 20, 4339-4355.

**Gow, N. A., et Gadd, G. M.** (1995). *Growing Fungus* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 473). Springer Publishing.

**Gramss G, GuÈnther TH, et Fritsche W.** (1998), Spot tests for oxidative enzymes in ectomycorrhizal, wood-, and litter decaying fungi. *Mycol Res*. 102, 67-72.

**Hamilton, G.** (2006). *Kingdoms of Life - Fungi (ENHANCED eBook)* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 56). Amsterdam University Press.

**Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., et Kirk, P. M.** (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509-547.

**Idowu, S. A., Arotupin, D. J., et Oladejo, S. O.** (2021). Plastic Pollution and Climate Change : Role of Bioremediation as a Tool to Achieving Sustainability. *African Handbook of Climate Change Adaptation*, 10, 1-10.

**Ingold, C.** (1942). Aquatic hyphomycetes of decaying alder leaves. *Transactions of the British Mycological Society*, 25(4), 339-IN6.

**Ingold, C. T.** (1953). Dispersal in Fungi. *Soil Science Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health)*, 76(5), 430.

**Jean, D.** (2012). *L'UNIVERS DES CHAMPIGNONS (SC HUM HORS COLL)* (Vol. 376). PU MONTREAL.

**Jiang, J. Q.** (2018). Occurrence of microplastics and its pollution in the environment : A review. *Sustainable Production and Consumption*, 13(1), 16-23.

Jones, E. B. G., Suetrong, S., Sakayaroj, J., Bahkali, A. H., Abdel-Wahab, M. A., Boekhout, T., et **Pang, K. L.** (2015). Classification of marine Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota and Chytridiomycota. *Fungal Diversity*, 73(1), 1-72.

**Jung, B., Kim, S., et Lee, J.** (2014). Microcycle Conidiation in Filamentous Fungi. *Mycobiology*, 42(1), 1-5.

- Kandawatte wedaralalage, T. C., Jayawardena, R. S., et Hyde, K. D.** (2020). Hurdles in fungal taxonomy : Effectiveness of recent methods in discriminating taxa. *Megataxa*, 1(2), 114-122.
- Kim, M.N., Lee, A.R., Yoon, J.S et Chin, I.J.** (2000). Biodegradation of poly (3-hydroxybutyrate), Sky-Green® and Mater-Bi® by fungi isolated from soils *Eur. Polym. J*, 36, 1677-1685.
- Kulshreshtha, S., Mathur, N., et Bhatnagar, P.** (2014). Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express*, 4(29), 311-321.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., et Boekhout, T.** (2011). *The yeasts : a taxonomic study*, volume 2 (5<sup>e</sup> éd., Vol. 2354). Elsevier.
- Larpent, J. P., Auvity, M., Borrod, G., Bret, J. P., Dupont, G., Fevre, M., et Traynard, T.** (1971). Croissance, ramification et différenciation cellulaire du thalle des Champignons. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 118(1), 5-18.
- Lebreton, L. C. M., van der Zwet, J., Damsteeg, J. W., Slat, B., Andrady, A., et Reisser, J.** (2017). River plastic emissions to the world's oceans. *Nature Communications*, 8(1), 1-10.
- Loredo-Treviño, A., García, G., Velasco-Téllez, A., Rodríguez-Herrera, R., et Aguilar, C. N.** (2011). Polyurethane as substrate for fungal strains. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 02(02), 52-58.
- Maheshwari, R.** (2011). *Fungi : Experimental Methods In Biology, Second Edition (Mycology)* (2<sup>e</sup> éd., Vol. 358). CRC Press.
- Matthieu Combe.** (2020). Reconnaître les plastiques pour protéger sa santé. *Natura Sciences*. <https://www.natura-sciences.com/sante/plastiques-toxicite-sante787.html>
- McCool, B.** (2020). *The History of Plastic : The Invention of Throwaway Living*. Dieline - Design, Branding and Packaging Inspiration. <https://thedieline.com/blog/2020/3/10/the-history-of-plastic-the-invention-of-throwaway-living?>
- McLaughlin, D. J., et Spatafora, J. W.** (2015). *Systematics and Evolution : Part B (The Mycota, 7B)* (2. 2015 éd., Vol. 311). Springer.

**McPherson, R. A., et Pincus, M. R.** (2011). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods (22<sup>e</sup> éd., Vol. 1568). Saunders.

**Meyer, V., Andersen, M. R., Brakhage, A. A., Braus, G. H., Caddick, M. X., Cairns, T. C., de Vries, R. P., Haarmann, T., Hansen, K., Hertz-Fowler, C., Krappmann, S., Mortensen, U. H., Peñalva, M. A., Ram, A. F. J., et Head, R. M.** (2016). Current challenges of research on filamentous fungi in relation to human welfare and a sustainable bio-economy : a white paper. *Fungal Biology and Biotechnology*, 3(1), 3-6.

**Mohd, S., Sangale, M. K., et Ade, A. B.** (2019). *Bioremediation Technology for Plastic Waste* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 130). Springer Publishing.

**Money, N. P.** (2016). *Fungi : A Very Short Introduction (Very Short Introductions)* (Illustrated éd., Vol. 144). Oxford University Press.

**Muneer, F., Azam, M. H., Zubair, M., Farooq, T., Ibrahim, M., Rasul, I., Afzal, M., Ahmad, A., et Nadeem, H.** (2021). Remediation of Water Pollution by Plastics. *Environmental Chemistry for a Sustainable World*, 54, 89-117.

**Muller, R.J., Augusta, J. et Pantke, M.** (1992). An interlaboratory investigation into biodegradation of plastics; Part I: A modified Sturm-test. *Mater Organismen*, 27, 179-189.

**Narayanasamy, P.** (2013). Mechanisms of Action of Fungal Biological Control Agents. *Biological Management of Diseases of Crops*, 15, 99-200.

**Nasraoui, B.** (2015). *Les Champignons et Pseudo-Champignons Pathogènes des Plantes Cultivées :Biologie, Nouvelle Systématique, Interaction Pathologique (OMN.UNIV.EUROP.) (French Edition)* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 199). Éditions universitaires européennes.

**Nawawi, A., Webster, J., et Davey, R.** (1977). *Dendrosporomyces prolifer* gen. et sp.nov, a basidiomycete with branched conidia. *Transactions of the British Mycological Society*, 68(1), 59-63.

**Nieuwenhuis, B. P. S., et James, T. Y.** (2016). The frequency of sex in fungi. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 371(1706), 20150540.

**Nguyen NH, Song Z, Bates ST, Branco S, Tedersoo T, et Menke J,** (2016), An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 20,241-248.

- Okon, E., Ndifreke, E., Hussain, S., et Emmanuel Ntekpe., M.** (2020). diversity and distribution of fungi associated with “ikwe pond” water source : their impact on water quality and human health. *Nanomedicine & Nanotechnology Open Access*, 11(2), 126-130.
- O’Sullivan, C.** (1994). Mechanism of pollutant degradation by white rot fungi. *Applied Catalysis B : Environmental*, 5(1-2), 3-5.
- Pathak VM, Navneet AJ.** (2017) Review on the current status of polymer degradation: a microbial approach. *Bioresour Bioprocess* 4,15.
- Patyshakuliyeva, A., Jurak, E., Kohler, A., Baker, A., Battaglia, E., de Bruijn, W., Burton, K. S., Challen, M. P., Coutinho, P. M., Eastwood, D. C., Gruben, B. S., Mäkelä, M. R., Martin, F., Nadal, M., van den Brink, J., Wiebenga, A., Zhou, M., Henrissat, B., Kabel, M, et Vries, R. P.** (2013). Carbohydrate utilization and metabolism is highly differentiated in *Agaricus bisporus*. *BMC Genomics*, 14(1), 663-677.
- Peberdy J.F.** (1980) Sexual Reproduction in Fungi. In: *Developmental Microbiology*. Springer, Boston, MA.
- Pérez, P., et Ribas, J. C.** (2012). Fungal Cell Wall Analysis. *Laboratory Protocols in Fungal Biology*, 3, 175-196.
- Pietrelli, L., Pignatti, S., et Fossi, M. C.** (2018). Foreword—Plastic pollution : a short and impressive story. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 29(4), 803-804.
- Ravichandra, N. G.** (2013). *Fundamentals of Plant Pathology* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 652). Phi Learning.
- Read, J.** (1990). Read clinical classification. *BMJ*, 301(6742), 45.
- Remini, B.** (2005). *La problématique de l’eau en Algérie* (4807<sup>e</sup> éd., Vol. 162). Office des publications universitaires.
- Roland, J. C., et Vian, B.** (1985). *Atlas de biologie végétale* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 136). Masson.
- Romagnesi, H.** (1971). *Petit atlas des champignons* (2<sup>e</sup> éd., Vol. 1971). Bordas.
- Russell JR, Huang J, Anand P, Kucera K, Sandoval AG, et Dantzler KW,** (2011), Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. *Appl Env Microbiol*, 77, 6076-6084.

**Shah, M. P.** (2020). *Microbial Bioremediation & Biodegradation* (1st ed. 2020 éd., Vol. 547). Springer.

**Shah AA, Hasan F, Hameed A, et Ahmed S. (2008)**, Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnol Adv.* 26, 246- 265.

**Sharma, I.** (2020, 7 décembre). *Bioremediation Techniques for Polluted Environment : Concept, Advantages, Limitations, and Prospects.* IntechOpen. <https://www.intechopen.com/books/trace-metals-in-the-environment-new-approaches-and-recent-advances/bioremediation-techniques-for-polluted-environment-concept-advantages-limitations-and-prospects>

**Sharma, P. D.** (2004). *The Fungi* (1<sup>re</sup> éd., Vol. 548). Rastogi Publications.

**Segarra, J. (dir.), G. Bailly, O. Chassaing, D. Favre, T. Jean, F. Metz, C. Meunier, E. Piètre** (2015). *Biologie BCPST 2e année.* Ellipses, Paris

**Sinha, A. K.** (2007). *Botany For Degree Students Fungi* (2<sup>e</sup> éd., Vol. 752). S. Chand Limited.

Streit-Bianchi, M., Cimadevila, M., & Trettnak, W. (2020). *Mare Plasticum - The Plastic Sea : Combatting Plastic Pollution Through Science and Art* (1st éd. 2020 éd., Vol. 261). Springer.

**Sturm, R.N.J.** (1973). Biodegradability of nonionic surfactants: Screening test for predicting rate and ultimate biodegradation. *J. Oil. Chem. Soc*, 50, 159-167.

**Thomaz, S. M., Mormul, R. P., et Michelan, T. S.** (2014). Propagule pressure, invasibility of freshwater ecosystems by macrophytes and their ecological impacts : a review of tropical freshwater ecosystems. *Hydrobiologia*, 746(1), 39-59.

**UNEP.** (2020, février). *PLASTIC WASTE BACKGROUND REPORT (N° 4).* UNITED NATIONS..amazonaws.com

**VanCauwenbergh, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbens, J., et Janssen, C. R.** (2015). Microplastics in sediments : A review of techniques, occurrence and effects. *Marine Environmental Research*, 111, 5-17.

**Vert, M., Y., Hellwich, K. H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M., et Schué, F.** (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2), 377-410.

**Walther, B. A., Kusui, T., Yen, N., Hu, C. S., et Lee, H.** (2020). Plastic Pollution in East Asia : Macroplastics and Microplastics in the Aquatic Environment and Mitigation Efforts by Various Actors. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 1-51.

**Webster, J. et E. Descals.** (1979). The teleomorphs of water-borne Hyphomycetes from fresh water. In *The Whole Fungus Vol. 2* (éd. W.B. Kendrick) pp. 419-451, Ottawa, National Museum of Sciences, National Museums of Canada

**Wong, M. K., Goh, T. K., Hodgkiss, I. J., Hyde, K. D., Ranghoo, V. M., Tsui, C. K., Ho, W. H., Wong, W. S., et Yuen, T. K.** (1998). Role of fungi in freshwater ecosystems. *Biodiversity and Conservation*, 7(9), 1187-1206.

**Yamada-Onodera K, Mukumoto H, Katsuyaya Y, Saiganji A. et Tani Y.** (2001). Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK. *Polym. Degrad. Sta.*, 72, 323-327.

**Yousefi, M., Jouladeh-Roudbar, A., et Kafash, A.** (2020). Using endemic freshwater fishes as proxies of their ecosystems to identify high priority rivers for conservation under climate change. *Ecological Indicators*, 112, 106-137.

**Zee, M., Stoutjesdijk, J.H. et Feijen J.** (1998). Relevance of aquatic biodegradation tests for predicting degradation of polymeric materials during biological solid waste treatment. *Chemosphere*, 36, 461-473.

**Site web :**

[projects.ncsu.edu/project/bio181de/Lab/keys/keys2.html](http://projects.ncsu.edu/project/bio181de/Lab/keys/keys2.html)

[slidetodoc.com](http://slidetodoc.com)

[slidetodoc.com/kingdom-fungi-fungi-a-autotroph-b-heterotroph-fungi/](http://slidetodoc.com/kingdom-fungi-fungi-a-autotroph-b-heterotroph-fungi/)

<https://www.aps.dz>

<https://www.bbc.com>

[www.ennemisagri.new](http://www.ennemisagri.new)

[www.plasticseurope.org](http://www.plasticseurope.org)

<https://eol.org/>

IPM: service d'information, (2006).

*Annexe*

Annexe

---

Composition de milieu de culture (MG 1) :

- $\text{NH}_4\text{NO}_3$  3 g.L<sup>-1</sup>
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  5 g.L<sup>-1</sup>
- NaCl 1 g.L<sup>-1</sup>
- $\text{MgSO}_4$  0,2 gL<sup>-1</sup>
- agar 15 gL<sup>-1</sup>
- Tweed 20 0.25 ml L<sup>-1</sup>
- 7H<sub>2</sub>O

Composition de milieu de culture (MG 2) :

- $\text{NH}_4\text{NO}_3$  3 g L<sup>-1</sup>
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  5 g L<sup>-1</sup>
- NaCl 1 g L<sup>-1</sup>
- $\text{MgSO}_4$  0.2 g L<sup>-1</sup>
- Tweed 20 0.25 ml L<sup>-1</sup>
- Agar 15 g L<sup>-1</sup>
- 7H<sub>2</sub>O

Composition de milieu de culture (MG 3) :

- Extrait de malt 20g
- Agar 15 g



## RESEARCH ARTICLE

## Ability of fungi isolated from plastic debris floating in the shoreline of a lake to degrade plastics

Ivano Brunner\*, Moira Fischer, Joel Rüthi, Beat Stierli, Beat Frey

Forest Soils and Biogeochemistry, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Birmensdorf, Switzerland

\* [ivano.brunner@wsl.ch](mailto:ivano.brunner@wsl.ch)

### Abstract

Plastic waste in the environment is a significant threat due to its resistance to biological processes. Here we report the ability of fungal strains found on floating plastic debris to degrade plastics. In particular, we wanted to know which fungi grow on plastic debris floating in the shoreline, whether these fungi have the ability to degrade plastics, whether the plastic-degrading fungi can degrade other complex C-polymers such as lignin, and whether lignin-degraders *vice versa* can also break down plastics. Overall, more than a hundred fungal strains were isolated from plastic debris of the shoreline of Lake Zurich, Switzerland, and grouped morphologically. Representative strains of these groups were then selected and genetically identified, altogether twelve different fungal species and one species of Oomycota. The list of fungi included commonly occurring saprotrophic fungi but also some plant pathogens. These fungal strains were then used to test the ability to degrade polyethylene and polyurethane. The tests showed that none of the strains were able to degrade polyethylene. However, four strains were able to degrade polyurethane, the three litter-saprotrophic fungi *Cladosporium cladosporioides*, *Xepiculopsis graminea*, and *Penicillium griseofulvum* and the plant pathogen *Leptosphaeria* sp. A series of additional fungi with an origin other than from plastic debris were tested as well. Here, only the two litter-saprotrophic fungi *Agaricus bisporus* and *Marasmius oreades* showed the capability to degrade polyurethane. In contrast, wood-saprotrophic fungi and ectomycorrhizal fungi were unable to degrade polyurethane. Overall, it seems that in majority only a few litter-saprotrophic fungi, which possess a wide variety of enzymes, have the ability to degrade polyurethane. None of the fungi tested was able to degrade polyethylene.

### OPEN ACCESS

**Citation:** Brunner I, Fischer M, Rüthi J, Stierli B, Frey B (2018) Ability of fungi isolated from plastic debris floating in the shoreline of a lake to degrade plastics. PLoS ONE 13(8): e0202047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202047>

**Editor:** Ricardo Aroca, Estacion Experimental del Zaidin, SPAIN

**Received:** May 11, 2018

**Accepted:** July 26, 2018

**Published:** August 22, 2018

**Copyright:** © 2018 Brunner et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper.

**Funding:** The authors received no specific funding for this work.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

### Introduction

Plastic debris in the environment poses a significant threat because of its resistivity to photo-oxidative, thermal, mechanical and biological processes [1,2]. Although overlooked for many years, the amount of plastic debris accumulating in the environment has been steadily increasing as a result of the material's durability and lightweight nature [3,4]. Once discarded on land,



## Assessment of potential plastic degrading fungi isolated from soil buried plastic pieces at Coovam river bank

Jayshree Annamalai and Thangaraju Nallamuthu\*

Centre for Advanced Studies in Botany, School of Life Sciences, University of Madras,  
 Guindy Campus, Chennai-600 025, Tamil Nadu, India  
 \*e-mail: [nthangam@gmail.com](mailto:nthangam@gmail.com)

(Received: April 15, 2011; Revised received: August 11, 2011; Accepted: August 12, 2011)

**Abstract:** Plastic materials like polyethylene (PE) are the potential source of environmental pollution. Their presence in soil causes infertility of soil, preventing degradation of other normal substances, in addition to which it presents a danger to animal life. In the present study, fungal strains were isolated from soil buried plastic pieces and screened for strains capable of adhering to the surface of PE pieces, through enrichment technique. Growth assessment was made by observing network of fungal hyphae on the surface of the plastic pieces under light microscope. A visible increase in growth of the *Aspergillus niger* and *Aspergillus japonicus* was observed on the surface of PE pieces, when cultured in basal medium at 30°C and 150 rpm, for 2 months. When the PE pieces were observed through Scanning Electron Microscope, some changes, like appearance of pits, cracks, and erosions were detected. CO<sub>2</sub> evolution as a result of PE biodegradation was calculated gravimetrically by Sturm test. About 1.72 and 1.98 g L<sup>-1</sup> of CO<sub>2</sub> was produced in case of tests, whereas 0.36 g L<sup>-1</sup> in case of control. The biomass was also higher in case of tests as compared to control. These observations indicated that *Aspergillus niger* and *Aspergillus japonicus* have the ability to degrade polyethylene.

**Key words:** Biodegradation, Polyethylene, *Aspergillus niger*, *Aspergillus japonicus*, Scanning electron microscope, Sturm test

### Introduction

Plastic materials are strong, light-weight, durable, and bio-inert materials and thus are widely used in food, clothing, shelter, transportation, construction, medical, pharmaceutical, and recreation industries (Orhan and Buyukgungor, 2000). More than 40 million tons of plastics are produced each year. However, because of its xenobiotic origin and recalcitrant nature, its biodegradation is problematic and it accumulates at a rate of 25 million tons per year (Orhan and Buyukgungor, 2000).

Polyethylenes (PE) of high and low density are primarily used in product packaging as sheets and thin films. Approximately 30% of the plastics are used worldwide for packaging applications. This utilization is still expanding at a high rate of 12% per annum (Sabir, 2004). Despite their wide applicability, the main limitation to their use is the fact that polyethylene adversely affects the environment (Sattelwal *et al.*, 2008). Polyethylene is one of the most inert plastic materials and its degradation is a very slow process, estimated in decades. Its recalcitrant nature results from its high molecular weight, complex three-dimensional structure, and hydrophobic nature, all of which interfere with its availability to microorganisms (Hadam *et al.*, 2005). The degradation of most synthetic plastics in nature is a very slow process that involves environmental factors and action of wild microorganisms (Albertsson, 1990; Cruz-Pinto *et al.*, 1994; Albertsson *et al.*, 1998). The primary mechanism for biodegradation of polymers (plastics) is the oxidation or hydrolysis by enzymes to create functional groups that improve its hydrophilicity. Consequently, the main chains of polymer are degraded resulting in polymer of low molecular weight and feeble mechanical properties, thus, making it more accessible for further microbial assimilation (Albertsson and Karlsson, 1990; Huang *et al.*, 1990). Biodegradation of polyethylene has been studied extensively earlier (Breslin, 1993; Breslin and Swanson, 1993) but

the results were based on PE blend with starch (Pometto *et al.*, 1993; Pometto *et al.*, 1992; Mehdi Borghei *et al.*, 2010). Polyethylene was claimed to be degraded but the extent could be extremely small. Other data describing degradation of PE containing starch is questionable as microbial metabolites contaminating the PE surfaces could have been interpreted as degradation products of the parent PE (Albertsson *et al.*, 1994). Biodegradation resulting from the utilization of polyethylene as a nutrient (ie. a carbon source) may be more efficient if the degrading micro-organism forms a biofilm on the polyethylene surface. However, the hydrophobicity of the polyethylene interferes with the formation of a microbial biofilm.

Attempts to facilitate colonization of polyethylene by adding non-ionic surfactants to the culture medium promoted the biodegradation of polyethylene (Albertsson *et al.* 1993; Ehara *et al.* 2000). Earlier reports have shown no signs of deterioration could be observed in polyethylene sheet incubated in moist soil for 12 years (Potts, 1978), and only partial degradation was observed in a polyethylene film buried in soil for 32 years (Otake *et al.*, 1995). Nevertheless, several studies have demonstrated partial biodegradation of polyethylene after UV irradiation (Cornell *et al.*, 1984), thermal treatment (Huang *et al.*, 1990; Kwpp and Jewell, 1992) or oxidation with nitric acid (Mochizuki *et al.*, 1999). Gilan *et al.*, (2004) isolated a strain of *Rhodococcus ruber* that was found to colonize and degrade polyethylene.

The ability of this bacterium to form a biofilm on polyethylene was attributed to the hydrophobicity of its cell surface. Addition of a small amount of mineral oil to the culture medium increased both biofilm formation and the subsequent biodegradation of the polyethylene, presumably by increasing the hydrophobic interactions between the bacterial biofilm and the polymer (Gilan *et al.*, 2004). In