

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 – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de BIOLOGIE

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et
à l'environnement (LAMAABE)



MÉMOIRE

Présenté par

M^{lle} Zahal Nafissa et M^{lle} Zouad Narimène

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie et contrôle de qualité

Thème

Recherche des champignons dégradant le Plastique à partir du sol

Soutenu le 19 /06/2023 devant le jury composé de :

Présidente	Mme Mkedder Ilham	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme Brahimi-Kholkhal Wahiba	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Bensalah Fatéma	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

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 Mme Brahimi Khokhal Wahiba Maitre de 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 Mme Mkedder Ilham Maitre de conférences Classe 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 Mme Bensalah Fatéma Maitre de 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.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une grande

Confiance en moi tout au long de mes études

Je vous remercie de tout mon cœur pour tout ce que vous avez fait pour moi

A mon cher père qui a beaucoup sacrifié pour moi

A ma chère mère qui m'a toujours poussée et motivée pour continuer

A mes petits frères IMAD et KHALIL

A ma grand-mère, à mes adorables tantes qui m'ont toujours encouragée

A toutes mes chères amies, à toute personne qui occupe une place dans mon

Cœur , sans oublier mon binôme Zahal NAJISSA

*A toute personne ayant contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce
Travail.*

Narimène

Dédicace

A la mémoire de mon père

Aucune dédicace ne saurait exprimer L'amour ; l'estime ; le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce modeste travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation.

J'aurais aimé que tu sois présent en ce jour pour que tu sois fier de ta fille.

A ma chère maman

aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour ; l'estime et le respect. Tu représentes pour moi le symbole de la bonté et la source de bonheur. Merci maman de m'aider ; m'encourager et de me pousser vers le bonheur que j'ai atteint.

A mon cher frère Islam

Pour leur appui et leur encouragement et d'être toujours mon bras droit.

À mes chères sœurs Fatima Zahra et Sabrina

Pour tout ce qu'elles font pour moi et être toujours ma source de bonheur et de joie.

à mes cousines Douaa ; Souaad ; Rodina ; Malek .

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de ma vie.

A toutes mes chères amies Loubna ; Chaimaa ; Narimène ; Nessrine qui n'ont jamais cessé de me soutenir.

Nafissa

الملخص

تؤثر الزيادة في التلوث البلاستيكي على البيئة، التي تتكون بشكل أساسي من العديد من الكائنات الحية الدقيقة، بحيث تحلل الفطريات البلاستيك، مما يساعد على تقليل هذه المشكلة. يعد التحلل البيولوجي للبوليمرات البلاستيكية أحد مجالات البحث لحل هذه الازمة.

لهذا السبب نحن مهتمون بالبحث عن سلالات فطرية جديدة قادرة على تحليل البلاستيك.

لتحقيق هذه الدراسة، اخترنا 4 عينات معزولة من تربة مغاراتين غار سخران وغار بني عاد من منطقة عين فزة بولاية تلمسان.

بعد حضانة السلالات المعزولة، كشف التعرف العياني والمجهري باستخدام تقنية الزراعة الدقيقة وطريقة الشريط اللاصق عن وجود نوعين : «penicillium» و «Trichoderma» بحيث 8 مستعمرات تنتمي إلى *Penicillium sp.* ومستعمرتين الى *Trichoderma*.

بعد ذلك، لإجراء اختبار التحلل البيولوجي، تم زرع السلالات النقية المختارة من نوع *Trichoderma* و *Penicillium* في زجاجات تحتوي على وسط سائل معدني وقطع البلاستيك التي تم إجراء الحضانة فيها لمدة 45 يوماً.

يتضح تحلل القطع البلاستيكية من خلال ملاحظة نمو فطريات «penicillium» و «Trichoderma» حول القطع البلاستيكية LDPE (PEBD) في أطباق بتري و تطورها في الزجاجات التي تحتوي على وسط *Czapex*.

تم تأكيد النتائج التي تم الحصول عليها من خلال اختبار التحلل البيولوجي من خلال الزراعة في أطباق بتري التي تحتوي على قطع PDA المتوسطة والبلاستيكية.

بعد الحضانة، كان هناك نمو في الفطريات حول القطع البلاستيكية.

الكلمات المفتاحية: البلاستيك ، التلوث ، الفطريات، التحلل البيولوجي، المغارة.

Résumé

L'augmentation de la pollution plastique affecte l'environnement qui est constitué majoritairement des différents microorganismes dont lequel les champignons confèrent une biodégradation des plastiques ce qui aide à diminuer ce problème. La biodégradation des polymères plastiques est l'un des domaines de recherche actuellement ciblés sur la résolution de la pollution plastique.

C'est pour cela on est intéressées dans notre travail à la recherches des nouvelles souches fongiques capables de dégrader le plastique.

Afin d'atteindre notre objectif, on a testé 4 échantillons isolés à partir du sol des deux grottes Ghar Sokhrane et Ghar Beni Aâd de la région de Ain Fezza de la wilaya de Tlemcen.

Après l'incubation des souches isolées , l'identification macroscopique et microscopique par la technique de microculture et la méthode de scotch a révélé la présence de 2 genres : «Penicillium » et «Trichoderma» ainsi 8 colonies appartiennent au genre Penicillium sp. et 2 colonies envahissantes de Trichoderma.

Ensuite, pour réaliser le test de biodégradation on aensemencé les souches pures sélectionnés des genres Penicillium et Trichoderma dans des flacons contenant un milieu liquide minéral et les morceaux de plastique dont lesquels l'incubation a été réalisé pendant 45 jours.

La mise en évidence de la dégradation des morceaux de plastiques se fait via l'observation de la croissance des champignons Penicillium et Trichoderma autour des morceaux de plastiques LDPE (PEBD) dans les boites de pétri et par la formation d'un trou au niveau des flacons contenant le milieu Czapek.

les résultats obtenues par le test de biodégradation ont été confirmé par une culture dans des boites de pétri contenant le milieu PDA et les morceaux de plastique.

Après l'incubation, il y avait une croissance des champignons autour des morceaux de plastique.

Mots clés : plastique, pollution, champignon, biodégradation, sol des grottes.

Abstract :

The increase of plastic pollution affects the environment, which is mainly contain a various types of microorganisms, which fungi biodegrade plastics, which helps to reduce this problem. Biodegradation of plastic polymers is one of the areas of research currently focused on the resolution of plastic pollution.

That is why we are interested in researching new fungal strains capable of degrading plastic.

To achieve our goal, we tested 4 isolated samples from the soil of the two caves Ghar Sokhrane and Ghar Beni Aâd at the region of Ain Fezza region in Tlemcen .

After incubation of isolated strains, macroscopic and microscopic identification by microculture technique and scotch method revealed the presence of 2 genera: «Penicillium» and «Trichoderma» so 8 colonies belong to the genus Penicillium sp. and two invasive Trichoderma colonies.

Then, to carry out the biodegradation test, the selected pure strains of the genera Penicillium and Trichoderma were seeded in bottles containing a mineral liquid medium and the plastic pieces from which incubation was carried out for 45 days.

The degradation of the plastic pieces is demonstrated by observing the growth of the Penicillium and Trichoderma fungi around the LDPE plastic pieces (PEBD) in the petri dishes and by the formation of a disorder in the bottles containing the Czapek medium.

The results obtained by the biodegradation test were confirmed by culture in petri dishes containing the PDA medium and plastic pieces.

After incubation, there was growth of fungi around the plastic pieces.

Keyword : plastic, pollution, biodegradation ,fungi, caves.

Table des matières

Introduction	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
générale	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Synthèse bibliographique	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Chapitre I :	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Le plastique	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
I.1.Définition	18
I.2. Les type de plastique.....	18
II. La pollution par le plastique	22
II . 1. Définition de la pollution plastique	22
II .3. La pollution par le plastique en Algérie	23
III.Les moyens de lutte contre la pollution par le plastique	24
III .1.La bioremédiation.....	24
III .1.1 Définition.....	24
III .1.2 Principe de la bioremédiation.....	24
III.2. La mycoremédiation.....	24
Chapitre II :	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
La biodégradation du plastique	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Chapitre II : La biodégradation du plastique	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
I. Définition de la dégradation du plastique	27
II. Mécanismes de dégradations du plastique.....	27
II.1.Dégradation abiotique des plastiques	27
II.1.1. Photo dégradation des plastiques	27
II.1.2. Dégradation thermique	28
II.1.3. Dégradation chimique des plastiques	28
II.1.4.Dégradation mécanique des plastiques	28
II.2. Biodégradation ou dégradation biotique des plastiques.....	29
II.2.1 Dégradation microbienne.....	31
II.2.2. Dégradation enzymatique	31
Chapitre III: Les champignons	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
I. Généralités sur les champignons	34
II. Les champignons dégradant le plastique	35
III Dégradation microbienne des polymères synthétiques	37

Matériels	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
ET	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Méthodes	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
I. Le Site de prélèvement.....	39
II. Prélèvement :	40
III. Isolement des champignons.....	40
III.1. Milieux d'isolement	40
III.2. La mise en culture :	41
III.3. Purification et conservation :.....	41
III.4. Identification	42
III.4.1. Les caractéristiques culturaux	42
III.4.2. Les caractéristiques morphologiques	42
IV. Tests de biodégradation du plastique par les champignons isolés	43
IV. 1.Dégradation du plastique en milieux liquide.....	43
IV.2. Test de confirmation	43
Résultats	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Et	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Discussion	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
I .1.Résultats d'isolement	45
I.2.Résultats de purification.....	46
I.3.Résultats d'identification	48
I.3.1.Identification macroscopique	48
I.4.Résultats du test de biodégradation sur milieu liquide.....	51
I.5.Résultats de confirmation.....	51
II. Discussion.....	54
Conclusion	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
et perspectives	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Références bibliographiques	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Annexes	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>

Liste des abréviations

PE : Polyéthylène

PET : poly (éthylène téréphtalate)

PEHD : polyéthylène à haute densité

PEBD : polyéthylène à basse densité

PP : polypropylène

PS : polystyrène

PVC : chlorure de polyvinyle

PUR : polyuréthane

MF : mélamine-formaldéhyde

UICN : union internationale pour la conservation de la nature.

UF : urée-formaldéhyde

PDA: Potatoes Dextrose Agar

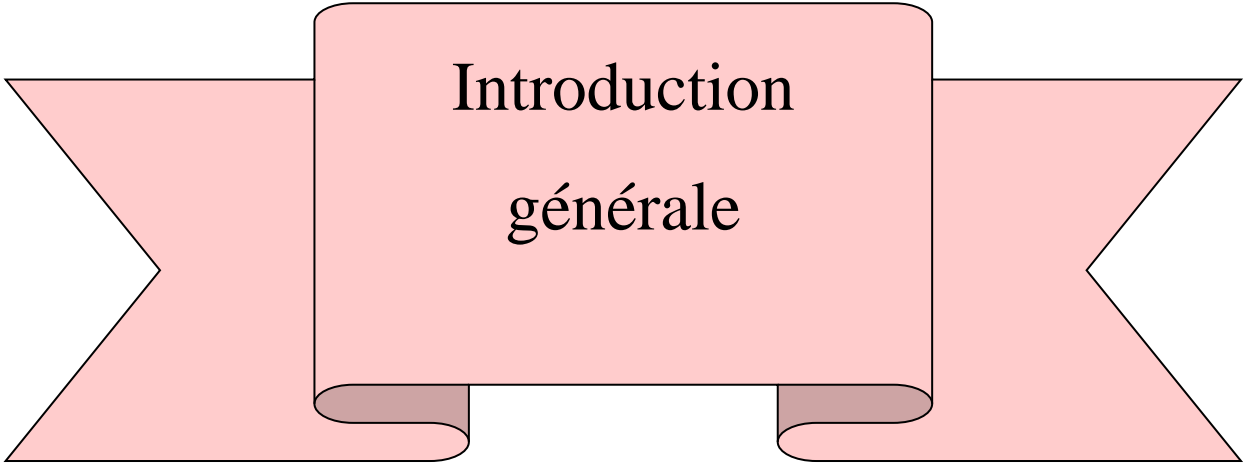
MEA: Malt Extract Agar

Liste des Figure

Figure 1: Les déchets de Plastiques dans les Côtes de Ghazaout (Prise personnel, 2023).	23
Figure 2: Situation des stations de prélèvements.	39
Figure 3: La microculture.	42
Figure 4: Résultats d'isolement des moisissures.	45
Figure 5: Résultats de purification des souches fongiques sélectionnées sur les boîtes	47
Figure 6: Les souches fongiques conservées sur tube après purification.	47
Figure 7:: Résultats de la microculture après l'incubation.....	49
Figure 8: Aspect microscopique des souches isolées (Gr×10).....	50
Figure 9: Résultats de test de biodégradation de plastique sur milieu liquide.	51
Figure 10: Aspect macroscopique du test de confirmation après 7 jours d'incubation	52
Figure 11: Aspect microscopique de test de confirmation par microscope binoculaire.	53

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différents types de plastiques.....	21
Tableau 2: Des taxons fongique capables de dégrader les plastiques	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 3: Origine des échantillons	40
Tableau 4: Les résultats d'isolement des moisissures	46



Introduction
générale

La pollution est un problème majeur de santé publique et d'environnement. Le problème de la pollution est sans doute l'un des enjeux les plus préoccupants de la dégradation du milieu naturel et de son équilibre, notamment les déchets plastiques. Ils peuvent être au-delà de la capacité du monde à les éliminer, en particulier dans les pays sous-développés (**Remini, 2005 ; Borloo, 2009**).

Le plastique a été conçu à l'origine pour améliorer les conditions de vie des humains, mais il devient aujourd'hui un véritable problème environnemental. En effet, de grandes quantités de plastique sont produites chaque année, souvent avec une durée de vie limitée. Après utilisation, le plastique devient un déchet et, s'il n'est pas traité, il peut se retrouver dans l'environnement. S'ils sont laissés dans le sol, ils atteignent et s'accumulent dans les rivières. On estime qu'au total environ 12 milliards de tonnes devraient se retrouver disséminées dans l'environnement d'ici 2050 (**Geyer, 2017**).

Mais, ils se biodégradent rarement lorsqu'ils sont rejetés dans l'environnement. Ils subissent des effets interactifs via des processus biologiques, physiques et chimiques qui se traduisent par leur fragmentation en une faible densité de particules plus petites appelées microplastiques (**Thompson et al., 2004 ; Singh et Sharma, 2008 ; O'Brine et Thompson, 2010 ; Song et al., 2017**).

Actuellement, bien que le rôle de la colonisation microbienne n'ait pas encore été entièrement révélé, plusieurs études ont rapporté une perte de poids du plastique due aux activités des micro-organismes (**Sudhakar et al., 2008 ; Savoldelli et al., 2017 ; Syranidou et al., 2017**).

En effet, divers micro-organismes ont un grand potentiel pour convertir biologiquement certains polymères plastiques en produits plus simples via un mécanisme aérobie et anaérobie (**Ahmed, et al., 2018**).

Plus précisément les champignons, ils sont nombreux, très diversifiés et omniprésents parmi tous les écosystèmes de la planète. 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 se répartissent dans le monde entier, mais différentes espèces ont des distributions géographiques distinctes qui dépendent des hôtes et du climat (**Okon et al., 2020**).

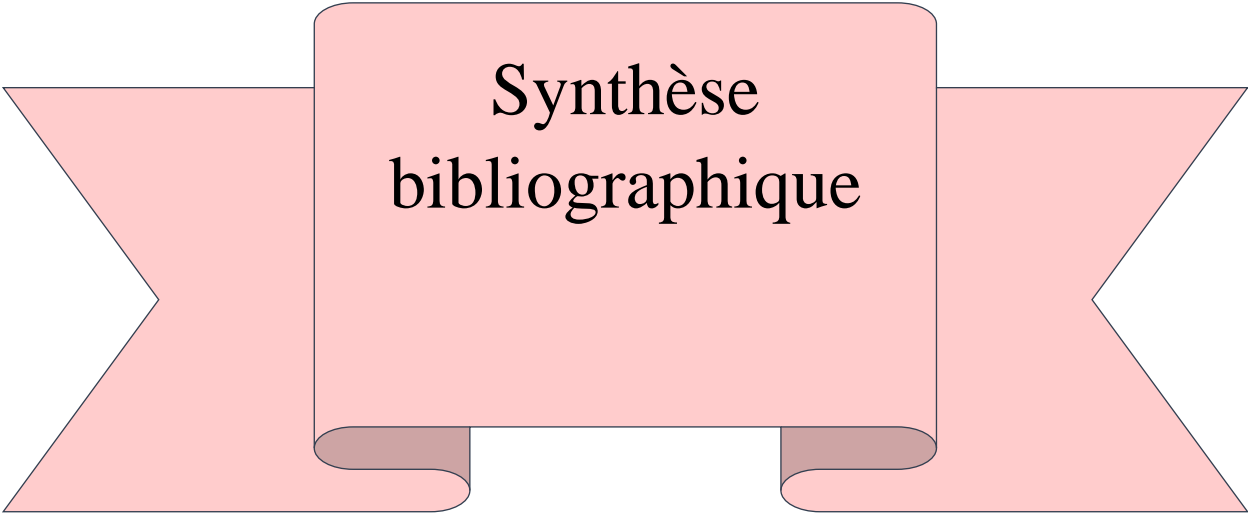
L'objectif de notre étude (travail) consiste à isoler, purifier et identifier les souches fongiques à partir des biotopes extrêmes qui sont les grottes de **Beni Aad** et **Ghar Sokhran** et

de mettre en évidence la biodégradation du plastique de type **LDPE(PEBD)** par les souches fongiques.

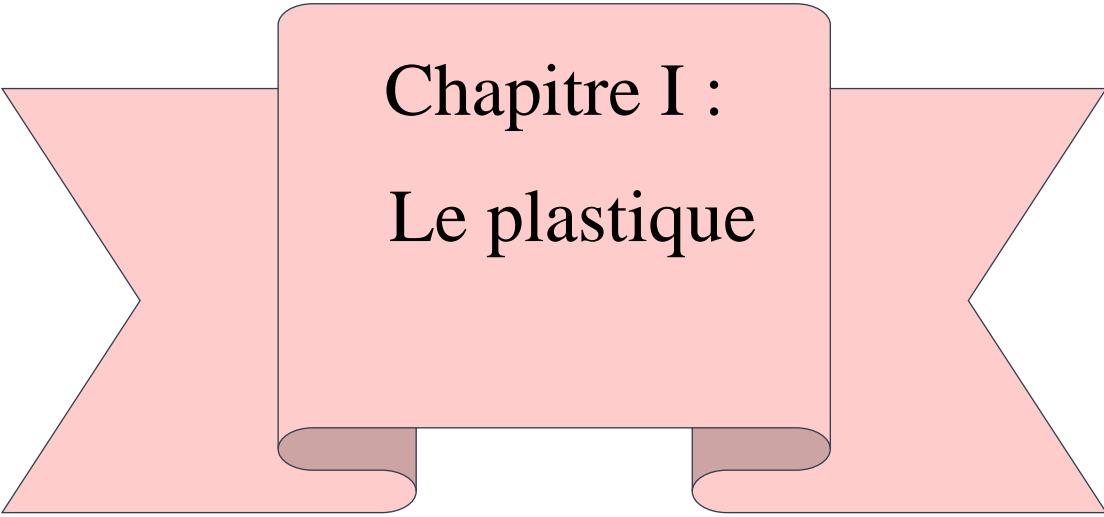
Ce manuscrit est divisé en synthèse bibliographique qui comporte trois chapitres en plus du résumé et l'introduction, dont le premier présente une synthèse résumant la définition du plastique et leurs différents types ; le deuxième chapitre est consacré aux mécanismes de dégradation du plastique et enfin le troisième chapitre donne l'essentiel sur les champignons.

La deuxième partie est consacrée aux matériels et méthodes utilisés lors de la réalisation de ce travail suivie par résultats et discussions.

On termine notre étude par une conclusion et les références bibliographiques.



Synthèse
bibliographique



Chapitre I :
Le plastique

I. Le plastique

Les matières plastiques présentent plusieurs avantages comparativement à d'autres matériaux, notamment leur faible coût d'élaboration, leur polyvalence et leur durabilité. Elles donnent lieu à un vaste éventail de polymères ayant des propriétés et des applications particulières et diversifiées, comparativement à d'autres matériaux **(Tolinsky, 2010)**.

Les matières plastiques dérivées de ressources non renouvelables, tel que le pétrole et le gaz naturel, forment la majeure partie des matières plastiques produites. Mais avant leur développement, les premiers plastiques prenaient leur origine dans le monde végétal et animal **(Turenc, 2012)**.

I.1.Définition

L'origine du mot plastique vient du mot grec "plastikos", qui signifie qu'il peut être façonné sous diverses formes **(Rajmohan et al., 2019)**.

Les plastiques sont des polymères organiques synthétiques, de longues chaînes de molécules hydrophobes, inertes et de poids moléculaire élevé (monomères) qui sont liées par des liaisons covalentes **(Brigham et al., 2020)**.

Leurs propriétés sont malléables, solides, durables, légères et peu coûteuses, ce qui les rend adaptées à la fabrication d'une variété de produits, notamment des articles ménagers, des emballages de produits et des sacs à provisions, qui sont pour la plupart des produits à usage unique. **(Andrew, 2018)**.

Ces plastiques pourraient entraîner des problèmes d'épuisement des ressources fossiles, de changement climatique et d'émissions de gaz à effet de serre **(Abdul-Latif, et al., 2020)**.

I.2. Les type de plastique

Les plastiques sont classés en trois grandes familles de matériaux, les thermoplastiques, les thermodurcissables et les élastomères ; dont la structure, les propriétés physico-chimiques et la mise en œuvre (comportement sous l'action de la chaleur et la pression) diffèrent totalement **(PHS, 2010)**.

❖ **Les thermoplastiques**

1. Le polyéthylène (PE)

Le polyéthylène est un excellent isolant électrique, ayant une très bonne résistance chimique, grâce à sa structure chimique simple. Il prime sur la plupart des autres matériaux car il peut être réutilisé (**Boudet, 2003**). Selon le procédé de polymérisation on obtient :

- ✓ **Le polyéthylène à basse densité (PEBD)** : C'est un polymère dont la densité est inférieure à celle de l'eau. Il sert à la fabrication de films d'emballages étirables, sacs poubelles, sachets. (**Boudet, 2003**).
- ✓ **Le polyéthylène à haute densité (PEHD)** : Il est employé dans des applications à parois épaisses rigides telles que bouteilles, flacons, jouets, articles ménagers, (**Boudet, 2003**).

2. Le polyéthylène téréphtalate (PET)

C'est un polymère obtenu généralement par polycondensation de l'acide téréphtalique et de l'éthylène glycol. Il est employé dans l'emballage, dans la fabrication de petites pièces pour l'équipement électrique (barrettes), l'automobile (poignées, ventilateurs) et l'électroménager. (**Boudet, 2003**).

3. Le polychlorure de vinyle (PVC)






Est un plastique solide résiste à l'abrasion et les produits chimiques ; a une faible absorption d'humidité. Il est principalement utilisé dans les bâtiments pour les tuyaux et les raccords, l'électricité et l'isolation des câbles, revêtements de sol et produits en cuir synthétique. Et aussi pour fabriquer des semelles de chaussures, des textiles et des tuyaux de jardin (**Braun et Bazdada, 1986 ; Owen, 1984**).

❖ **Des plastiques thermodurcissables**

- ✓ **Polyuréthane (PUR)** : Est couramment utilisé comme constituant matériaux dans de nombreux produits, y compris les meubles, les matériaux de construction, fibres et peintures. Structurellement, le PUR est le produit de condensation de polyisocyanate et de polyol ayant des propriétés intramoléculaires des liaisons d'uréthane (liaison carbonate ester, $-\text{NHCOO}-$) (**Sauders et Frisch, 1964**).

- ✓ **Les silicones** : Sont résistants aux produits chimiques et à la chaleur, électriquement isolantes, transformable par moulage et par compression. Ils sont souvent colorés en brun foncé. Ils sont utilisés dans les domaines scientifiques et la réalisation d'objets : téléphones, postes de radio, et aussi pour fabriquer les poignées de casserole, de fer à repasser (ErniCassola, et al., 2019).
- ✓ **Les aminoplastes (MF)** : Deux types principaux : urée-formaldéhyde(UF) et mélamine-formaldéhyde (MF) dont le plus connu est le formica dont il est caractérisé par une dureté et rigidité exceptionnelles, peu sensibles à l'hydrolyse et à la lumière, résistance à l'abrasion, bonne tenue aux solvants, difficilement inflammables (Erni-Cassola, et al., 2019).
- ✓ **Les élastomères** : Ces polymères présentent les mêmes qualités élastiques que le caoutchouc. L'élastomère est constitué de longues chaînes moléculaires repliées sur elles-mêmes. Ce ne sont pas réellement des «plastiques ». Issu du latex d'Hévéas (arbre d'Amazonie), le caoutchouc naturel est resté longtemps le seul élastomère connu mais les méthodes modernes de fabrication ont permis d'obtenir une grande diversité de matériaux en ajoutant des additifs, accélérateurs, agents protecteurs (anti UV, anti oxygène,...) et en les combinant à d'autres matériaux (métaux, textiles, autres plastiques...) (Erni-Cassola, et al., 2019) .

Tableau 1: Les différents types de plastiques (l'échelle verte).

Symbole	Nom commun	Usages fréquents	Possibilité de recyclage
	Polyéthylène Téréphtalate	Bouteilles d'eau et de boissons gazeuses, contenants pour le micro-onde, emballages de médicaments	Recyclable pour produire des bouteilles, des plateaux de repas, des vêtements, des tapis, des pinceaux, etc.
	Polyéthylène haute densité	Bouteilles de laits, de jus, de produits ménagers, de savons, de shampoing, caisses de plastique	Recyclable pour produire des bouteilles, des sacs à poubelles, des équipements de terrains de jeu, etc.
	Polychlorure de vinyle	Pellicule plastique moulantes, jouets souples pour enfants, certaines bouteilles alimentaires, tuyauterie, recouvrement	Recyclable pour produire des tuyaux, des matériaux de construction des bouteilles non alimentaires.
	Polyéthylène basse densité	Emballages de plastiques souples, sacs à ordures, tubes de crème	Recyclable pour fabriquer de nouveaux sacs et films plastiques.
	Polypropylène	Bouteilles et emballages alimentaires réutilisables résistants à la cuisson, mobilier de jardin, pièces moulées	Recyclable en pièces de voiture, plateaux de cafétéria, tapis et fibres géotextiles.
	Polystyrène	Emballages alimentaires, isolants thermiques, ustensiles, tasses à cafés et vaisselles jetables, barquettes d'aliments	N'est pas recyclable à grande échelle au Québec.
	Autres plastiques	Contenants alimentaires, biberons, bouteilles de sports, revêtement de conserves, DVD	Recyclable en équipement électronique, en accessoires automobiles

II. La pollution par le plastique

II. 1. Définition de la pollution plastique

Les plastiques font partie des matériaux les plus utilisés dans les sociétés modernes dans le monde entier. Depuis les années 1950, la production et l'utilisation des plastiques ont cru plus que celle de tout autre matériau, principalement en raison de leur durabilité et de leur faible coût. Toutefois, la mauvaise gestion des déchets de plastiques a conduit à leur ubiquité dans tous les principaux milieux naturels. La pollution plastique est considérée être toute pollution par des plastiques rejetés, éliminés ou abandonnés dans l'environnement, en dehors d'un flux de déchets gérés. La pollution plastique a été observée sur les côtes, les sédiments, les eaux souterraines, les sols, l'air intérieur (**ECCC, 2020**).

II .2. Effet de la pollution de plastique sur l'environnement

Le problème principal du plastique est souvent celui de son usage unique une fois dans la nature, il peut mettre jusqu'à plusieurs centaines d'années pour se décomposer.

Toutefois, les préoccupations concernant son utilisation et son élimination sont diverses et comprennent :

- L'accumulation de déchets dans les décharges et les habitats naturels.
- L'ingestion ou l'enchevêtrement de plastiques par diverses espèces terrestres et marines.
- Le lessivage.
- La contamination de la chaîne alimentaire par le transfert du micro plastique de la faune à l'humain (**Thompson ,2009 ; Whitacre, 2012**).

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 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 (El watan, 2020).



Figure 1: Les déchets de Plastiques dans les Côtes de Ghazaout (Prise personnel, 2023).

III. Les moyens de lutte contre la pollution par le plastique

III.1. La bioremédiation

III.1.1 Définition

La bioremédiation, est l'une des méthodes les plus récentes pour éliminer les déchets plastiques. Elle consiste à éliminer les substances polluantes d'une zone à l'aide de microorganismes (**Jonathan et al., 2011**).

La dégradation microbienne peut être testée de diverses manières, chacune donnant des résultats différents et présentant ses propres avantages et inconvénients, tels que la reproductibilité de l'expérience ou la fiabilité des résultats (**Jonathan et al., 2011**).

III.1.2 Principe de la bioremédiation

La bioremédiation implique l'utilisation des microorganismes 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**).

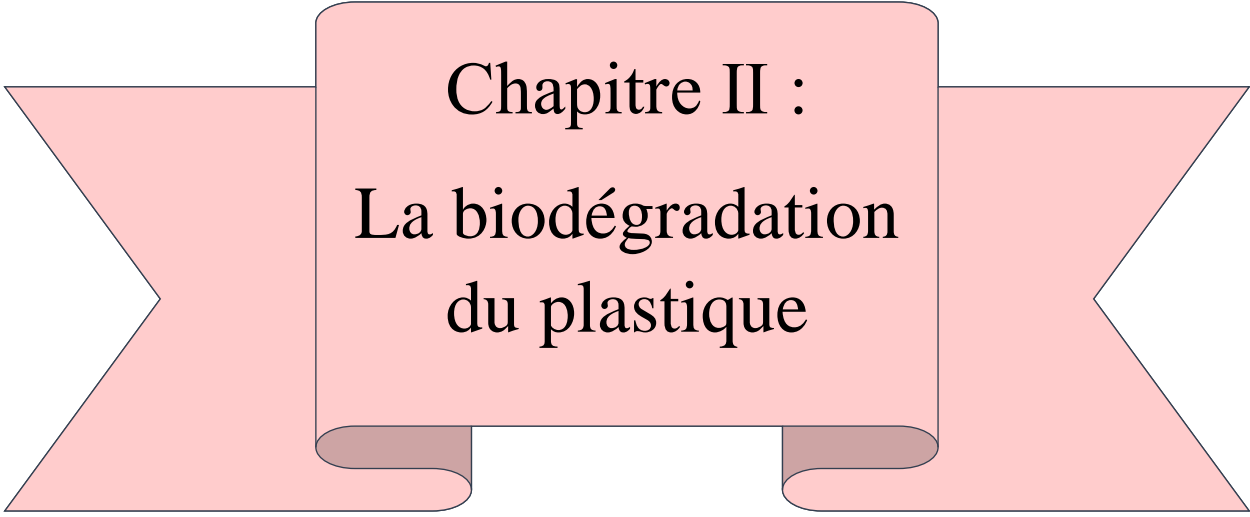
Les composés contaminants seront transformés par les organismes vivants par des réactions enzymatiques. La biodégradation des composés est généralement le résultat de l'action de plusieurs organismes (**Bhandari et al., 2021**).

III.2. La mycoremédiation

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**).

En général, la Mycoremédiation peut offrir un moyen plus durable et plus fiable de décomposer les déchets que les processus traditionnels de bioremédiation, mais elle est souvent mal comprise et donc sous-utilisée (**Watanabe, 2001**).



Chapitre II :
**La biodégradation
du plastique**

I. Définition de la dégradation du plastique

Les matières plastiques conventionnelles sont généralement très résistantes à la dégradation. La durée de vie des plastiques est estimée à des centaines, voire des milliers d'années, en fonction des propriétés du plastique ainsi que des conditions environnementales environnantes (**European Plastics Association, 2019**).

Les conditions environnementales entraînent toujours une dégradation des plastiques, entraînant des modifications des propriétés des polymères dues à des processus biotiques et/ou abiotiques (**Eubeler et al., 2009**).

Au cours de la dégradation, les polymères sont convertis en unités moléculaires plus petites telles que des oligomères, des monomères ou chimiquement modifiés et finalement entièrement minéralisés (**Eubeler et al., 2009**).

II. Mécanismes de dégradations du plastique

La dégradation des polymères synthétiques peut généralement être classée comme biotique ou abiotique, suivant des mécanismes différents, selon une variété de facteurs physiques, chimiques ou biologiques.

II.1. Dégradation abiotique des plastiques

La dégradation abiotique des plastiques fait référence aux modifications des propriétés chimiques des plastiques dues à des facteurs abiotiques tels que la lumière, la température, l'air, l'eau et les forces mécaniques (**Andrady, 2015**).

En général, l'abiodégradation devrait précéder la biodégradation en raison de la plus faible biodisponibilité des plastiques (**Andrady, 2015**).

II.1.1. Photo dégradation des plastiques

La dégradation des polymères synthétiques dans l'environnement sur une base moléculaire est souvent initiée par la photooxydation (utilisant le rayonnement UV) (**Andrady, 2011**).

La photodégradation des plastiques flottant dans les milieux aquatiques est plus lente que lors d'une exposition terrestre (**Andrady et al., 1993**).

Par conséquent, de nombreux plastiques peuvent rester dans les milieux aquatiques pendant des décennies ou des siècles.

La photodégradation des plastiques implique généralement des réactions médiées par les radicaux libres initiées par le rayonnement solaire. Les rayonnements ultraviolets (UV) sont principalement des UV-B de haute énergie (290 et 315 nm) et des UV-A de moyenne énergie (315 et 400 nm). (**Liu et al., 2019**).

II.1.2. Dégradation thermique

La dégradation thermique fait référence à la dégradation du plastique dû à une température élevée.

Les plastiques subissent des réactions d'oxydation thermique à haute température. Les longues chaînes polymères peuvent se décomposer en générant des radicaux libres lorsque le polymère absorbe suffisamment de chaleur pour surmonter la barrière énergétique (**Pirsaheb et al., 2020 ; Peterson et al., 2001**).

La température requise pour la dégradation thermique est liée aux propriétés thermiques du plastique et à la disponibilité de l'oxygène (**Crawford et Quinn, 2017**).

Dans le même temps, la température et le rayonnement ultraviolet peuvent avoir un effet synergique sur la dégradation des plastiques, et la vitesse des réactions d'oxydation augmente également avec l'augmentation de la température (**Andrady et al., 2003 ; Kamweru et al., 2011**).

De plus, une augmentation de l'humidité réduit l'énergie d'activation pour la dégradation thermique des plastiques (**Kotoyori, 1972**).

II.1.3. Dégradation chimique des plastiques

La dégradation chimique des additifs, modifie la propriété du polymère et conduit à la fragilisation du polymère (**Duwez et Nysten , 2001**).

II.1.4. Dégradation mécanique des plastiques

La dégradation mécanique est un facteur important pour les plastiques dans les milieux aquatiques. fait référence à sa dégradation sous l'action d'une force extérieure (**Zhang et al., 2021**).

Dans l'environnement, la force externe peut provenir de la collision et de l'abrasion des plastiques et des roches causées par le vent et les vagues (**Zhang et al., 2021**).

Le gel et le dégel des plastiques dans les milieux aquatiques peuvent également entraîner une dégradation mécanique des polymères (**Pal et al., 2018**).

Il produit généralement des particules de plastique plus petites. Ces particules sont classées comme microplastiques. Cependant, la dégradation mécanique ne s'arrête pas si les particules sont dans la gamme de taille des microplastiques (**Zhang et al., 2021**).

Par conséquent, il est susceptible de former des particules plus petites appelées nanoplastiques (**Lambert et Wagner, 2016**).

Dans les deux cas, la dégradation mécanique conduit à une diminution de la taille des particules et par conséquent à une augmentation de la surface des particules de polymère (**Zhang et al., 2021**).

II.2. Biodégradation ou dégradation biotique des plastiques

La biodégradation est le processus par lequel les organismes vivants sont responsables de la dégradation des substances organiques.

La biodégradation peut être obtenue par l'une des manières suivantes (**Gu et al., 2000**) :

- **Aérobic** Lorsqu'il est effectué dans la nature sauvage, produit du dioxyde de carbone et de l'eau en présence d'oxygène.
- **Anaérobic** Lorsqu'il est effectué dans des décharges et des sédiments, produit du dioxyde de carbone, de l'eau et du méthane en l'absence d'oxygène.
- **Semi-aérobic** Lorsqu'elles sont réalisées dans des composts, avec ou parfois sans oxygène.

La dégradation partielle ou primaire de la chaîne polymère conduit à une stabilité temporaire. Elle fait référence à la détérioration des plastiques causés par des organismes. Les organismes peuvent dégrader les plastiques soit physiquement par morsure, mastication ou fragmentation digestive (**Cadee, 2002 ; Dawson et al., 2018 ; Jang et al., 2018 ; Porter et**

al., 2019 ; Cau et al., 2020 ; Mateos-Cardenas et al., 2020) ou biologiquement par des processus biochimiques (Danso et al., 2019).

Les micro-organismes (les bactéries, les champignons) et les insectes, peuvent être majoritairement responsables de la dégradation biologique des plastiques (Crawford et Quinn, 2017).

Les polymères synthétiques sont généralement trop gros pour pénétrer les membranes des micro-organismes en raison de leur taille. La première étape de la biodégradation est le clivage des chaînes latérales ou squelettes polymères et la formation d'unités plus petites (monomères, oligomères) par des enzymes extracellulaires (Gu, 2005).

Dans la plupart des cas, la première étape de dépolymérisation implique l'hydrolyse enzymatique des liaisons amide, ester ou uréthane. Ces molécules plus petites peuvent ensuite être absorbées et métabolisées par des micro-organismes. Bien sûr, l'hydrolyse abiotique peut également produire des intermédiaires, qui sont ensuite métabolisés par des micro-organismes (Müller et al., 2001)

Les plastiques conventionnels ont généralement une capacité de biodisponibilité extrêmement faible en raison de leur nature solide, car seule une très petite fraction de polymère est exposé aux dégradeurs potentiels (Battin et al., 2016).

De plus, les polymères macromoléculaires ne pourraient pas être directement utilisés par les micro-organismes et des enzymes extracellulaires sont nécessaires initialement pour briser les polymères de macromolécules en petits produits moléculaires pour l'absorption cellulaire et la métabolisation ultérieure (Chen et al., 2019).

La dégradation abiotique des plastiques, qui génère des produits de dégradation de faible poids moléculaire et crée des fractures et des pores sur la surface des polymères, peut accélérer les processus de biodégradation (Wu et al., 2019).

La biodégradation est compatible (minéralisation microbienne) par rapport à d'autres techniques de gestion des déchets (Schink et al., 1992).

La biorémédiation est le meilleur moyen de gérer les déchets de manière écologique. Les sites pollués sont en constante augmentation en raison de stratégies de gestion des déchets ; ces déchets proviennent des zones industrielles et des activités communautaires biologiques. Les procaryotes (bactéries) et eucaryotes (champignons, algues et plantes) sont impliqués dans le processus de biorémédiation (Shah et al., 2008).

II.2.1 Dégradation microbienne

Elle est définie comme une activité microbienne dans laquelle les micro-organismes sécrètent des enzymes dégradant les polymères, entraînant la dégradation des polymères **(Kale et al., 2015)**.

Le processus implique des bactéries et des champignons et est capable de dégrader les plastiques naturels et synthétiques. La biodégradation des polymères se produit dans différentes conditions environnementales propices à la dégradation microbienne des matériaux plastiques **(Moharir et Kumar, 2019)**.

En effet, des champignons tels que *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Doratomyces*, *Lecanicillium*, *Cladosporium*, *Thermomyces*, *Verticillium*, *Penicillium*, *Sable Mortierelle*, etc. participent à la biodégradation des biopolymères.

II.2.2. Dégradation enzymatique

Les principaux groupes d'enzymes microbiennes responsables de l'élimination de la plupart des contaminants **nocifs** dans l'environnement sont des hydrolases, des oxydoréductases, des déhalogénases, des oxygénases et des transférases **(Saravanan et al., 2021)**.

Les hydrolases et oxydoréductases de microorganismes sont impliquées dans la dégradation de polluants hydrophobes tels que des additifs plastiques **(Carmen, 2021)**.

Les plastiques peuvent être classés comme hydrolysables ou non hydrolysables en fonction de la présence ou de l'absence de groupes ester ou amide, qui peuvent être attaqués par diverses enzymes hydrolytiques extracellulaires. La dégradation de polymères non hydrolysables tels que le PE, le PP et le PVC par des enzymes extracellulaires peut être plus complexe **(Santo et al., 2013)**.

Il a également été montré que plusieurs enzymes sécrétées par les champignons sont capables de raccourcir la longueur des chaînes polymères PE **(Sanchez, 2019)**.

Les polymères hydrolysables tels que le PET, le PA et le polyuréthane (PUR) sont généralement plus biodégradables en raison des voies de biodégradation existantes, telles que les enzymes hydrolytiques extracellulaires impliquées dans la dégradation de la cellulose et des protéines **(Chen et al., 2019)**.

Des enzymes telles que la cutinase, la lipase, la sérine estérase et la nitro-benzyl-estérase ont également été capable d'hydrolyser le PET, alors que la protéase, la cutinase,

l'amidase et l'hydrolase sont impliquées dans l'hydrolyse du PA (**Guebitz et Cavaco-Paulo, 2008**).

Pendant ce temps, l'estérase et l'hydrolase de polyester de bactéries et de champignons pourraient être responsables l'hydrolyse du PUR (**Akutsu et al., 1998 ; Russell et al., 2011**).



**Chapitre III:
Les champignons**

I. Généralités sur les champignons

Les Champignons, encore appelés "Fungi" (contraction du latin "funus", funéraille, et d'ago", produire) ou mycètes (du grec mukês, champignon), sont aujourd'hui érigés en règne autonome, au même titre que les Procaryotes (Archéobactéries, bactéries, Cyanobactéries), les Protistes, les Végétaux et les Animaux. Leur nombre est évalué à ce jour à environ 80.000 espèces (**Purves et al, 1994 ; Boiron, 2005**).

D'après **Bouchet et al (1999)** et **Boiron (2005)** :

- Ils sont eucaryotes ;
- Ils ont une paroi cellulaire chitineuse ;
- Thallophytes : ils ne possèdent ni feuilles, ni tiges, ni racines. Leur appareil végétatif, ou thalle, est constitué de cellules allongées qui peuvent se présenter de deux façons :
 - Cloisonnées et articulées entre elles, et sont alors appelées hyphes (c'est le cas le plus fréquent);
 - Pas de cloison les séparant les unes des autres. On parle alors de structure coenocytique et de siphon.
- Ils peuvent être pluricellulaire ou unicellulaire (levure). Les filaments ou (hyphes) s'associent pour former le mycélium, ces hyphes restent généralement indifférenciés et inorganisés. Seuls quelques groupes fongiques sont capables de produire certaines structures différenciées de leurs filaments végétatifs (vésicules, chlamydozoïdes, boucles, des corémies ou « synnémas », ou des sclérotés).
- Se reproduisent par des spores, selon un mode asexué et/ou sexué.
- Hétérotrophes : la nutrition carbonée est dépendante de la présence de matières organiques préformées, ce qui conditionne, suivant les circonstances, leur vie saprophytique, parasitaire ou symbiotique.
- Ils exploitent pour cela leur environnement immédiat, absorbant les matières organiques de trois façons différentes :
 - Les champignons saprophytes exploitent la matière organique morte ou en décomposition (feuilles mortes, débris végétaux ou animaux, excréments).

- Les champignons parasites exploitent la matière organique vivante, qu'il s'agisse de végétaux, d'animaux (y compris les hommes).
- D'autres champignons préfèrent la symbiose, association avec un végétal autotrophe, chacun des deux organismes tirant profit de cette association. La symbiose permet parfois de créer des êtres nouveaux, comme les lichens.

II. Les champignons dégradant le plastique

Il existe de nombreuses espèces fongiques qui ont la capacité de dégrader les matières plastiques en molécules plus simples.

Plusieurs travaux ont été réalisés dans ce contexte :

Ibrahim et al ., (2011) ont pu isolé 35 souches fongiques dégradant le plastique à partir des échantillons du sol provenant de différents habitats en Jordanie. Elles ont montré un potentiel varié de dégradation du polyester-polyuréthane (PS-PUR), six de ces isolats (*Fusarium solani*, *Alternaria solani*, *Spicaria spp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus* et *Aspergillus flavus*) ont été sélectionnés sur la base de leurs taux de croissance sur des milieux salins de base modifié avec PS-PUR comme seule source de carbone.

Les isolats ont ensuite été évalués en utilisant 3 méthodes différentes : 1) placage direct ,2) zone claire dans un milieu de gélose à 2 couches et 3) culture liquide sous agitation. Ces isolats ont causé d'importantes pertes de poids dans les blocs PS-PUR dans les cultures agitées, atteignant jusqu'à 100% dans le cas de l'isolat *Fusarium solani*.

La méthode d'essai en boîte de Pétri a révélé une activité de dégradation maximale atteinte par *Aspergillus flavus*, qui a causé 94% de perte de poids des morceaux de PS-PUR.

Cependant, seuls 4 isolats (*Fusarium solani*, *Spicaria spp.*, *Alternaria solani* et *Aspergillus flavus*) ont donnés des résultats positifs de biodégradation, indiqués par des zones claires créées en raison de l'hydrolyse du PS-PUR dans un milieu de culture sur plaque de gélose à 2 couches.

Dans l'ensemble, ces résultats ont permis d'identifier les nouveaux champignons dans les habitats jordaniens qui jouent un rôle clé dans la dégradation du PS-PUR.

Selon **Saenz et al.,(2019)** la biodégradation fongique du plastique (LDPE) a été testé en utilisant les champignons *Aspergillus niger* et *Aspergillus terreus* afin d'augmenter la

vitesse de dégradation sans co-substrat ni traitement photothermique , dans des conditions nutritionnelles minimales en ajoutant seulement le saccharose comme source de carbone.

En effet, 30 % de perte de poids ont été obtenus par *A. niger* et *A. terreus* qui ont été isolés d'une mangrove équatorienne. Les preuves de fissures et de croissance de la biomasse sur les échantillons de surface en LDPE ont montré le potentiel des deux espèces de champignons à croître avec des faibles concentrations de nutriments.

Par ailleurs **Srikanth et al., (2022)** ont prouvé que certains champignons contribuent à la dégradation des différentes formes de polymères en sécrétant certaines enzymes, c'est-à-dire la cutinase, la lipase et les protéases. Les enzymes lignocellulolytiques, et la présence de certains ions pro-oxydants peut provoquer une dégradation efficace.

L'oxydation ou l'hydrolyse par l'enzyme crée des groupes fonctionnels qui améliorent l'hydrophilie des polymères, et par conséquent dégradent le polymère à haut poids moléculaire en un polymère de faible poids moléculaire. Cela conduit à la dégradation des plastiques en quelques jours.

Certaines espèces bien connues qui montrent une dégradation efficace du plastique sont *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus nomius*, *Penicillium griseofulvum*, *Bjerkandera adusta*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Cladosporium cladosporioides*, etc., et certains autres champignons saprophytes, tels que *Pleurotus abalones*, *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus* et *Pleurotus eryngii* qui contribue également à la dégradation des plastiques en poussant sur eux.

Srikanth et al., (2022) ont ajouté : Certaines études indiquent que la dégradation des plastiques était plus efficace lorsque la photodégradation et les mécanismes thermo-oxydatifs sont impliqués simultanément dans la biodégradation et peuvent ainsi la rendre plus rapide et plus facile.

Ekanayaka et al., (2022) ont donné une liste de tous les champignons dégradant le plastique enregistrés jusqu'à présent sur la base de la littérature concernant les principaux groupes fongiques composé de 395 souches.

Les principaux groupes fongiques dégradant le plastique se trouvent dans onze classes des embranchements : les Ascomycètes (Dothideomycetes, Eurotiomycètes, Léotiomyètes, Saccharomycètes et Sordariomycètes), les Basidiomycètes (Agaricomycètes, microbotryomycètes, trémellomycètes, tritirachiomycètes et ustilaginomycètes), et les

Mucoromycètes (Mucoromycètes). Plus précisément le taxon des Eurotiomycètes regroupe le plus grand nombre de dégradeurs de plastique du règne des champignons.

III Dégradation microbienne des polymères synthétiques

- Le Polyuréthane (PUR)

Les Champignons Comme *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus Tubingensis*, *Candida Ethanolica*, *Candida Rugosa*, *Cladosporium Asperulatum*, *Cladosporium Pseudocladosporioine*, *Tenuissum Tenuissum*, *Cladosporium Montecillanum*, *Penicillium Chrysogenum*, et *Fusarium Solani* contribuent de manière significative dans ladégradation de PUR (**Danso et al., 2019**).

- Le Polyéthylène (PE)

La présence de microorganismes dégénéralents de polyéthylène (PE) est rapportée dans les boues activées, le sol, l'eau de mer et le compost (**Montazer et al., 2020**).

Les genres fongiques tels que *Aspergillus*, *Cladosporium*, et *Pénicillium* sont impliqués dans la dégradation de PE (**Resetpo et al., 2014**).

- Le Polystyrène (PS)

Les Champignons de pourriture blanche tels que *Pleurotus Ostreatus*, *Phanerochate Chryso sporium*, et *Tramètes versicolor* ainsi que les champignon de la pourriture brune *Gloeophyllum Trabeum* sont impliqués dans la dépolymérisation du PS avec la lignine (**Danso et al., 2019**).

- Le Chlorure de polyvinyle (PVC)

Plusieurs champignons tels que *Aspergillus Niger*; *Aspergillus Sydowii*, *Lentinus Tiginus*, et *Phanerochète chryso sporium* sont impliqués dans le métabolisme du PVC (**Ali et al., 2014**).



**Matériel
ET
Méthodes**

I. Le Site de prélèvement

Afin de réaliser notre travail ; le lieu de nos prélèvements c'était deux grottes de Ain Fezza (Tlemcen)

- ❖ **Station 1 « Ghar Sokhrane »** : Grotte non explorée
- ❖ **Station 2 « Ghar Beni Aâd »** : Elle est caractérisée par une longueur de 700 m, et une profondeur qui dépasse 18 m, située à 7 Km du sud est du chef-lieu de la commune de **Aïn Fezza**.

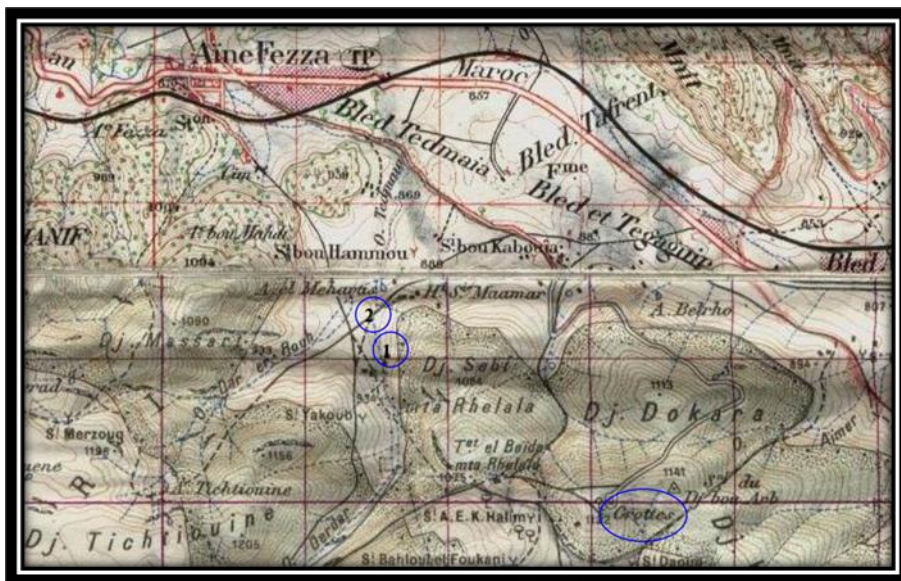


Figure 2: Situation des stations de prélèvements.

1. Ghar Sokhrane. 2. Ghar Beni Aâd.

Carte d'état-major : Terny





Echelle : 1/50000

Source : Parc National de Tlemcen.

II. Prélèvement :

Les échantillons ont été prélevés en 2004 et conservés.

Tableau 2: Origine des échantillons

origine des échantillons	
E1 : Ghar sokhran	 A photograph of a sample labeled E1, consisting of dark, irregular fragments in a clear plastic bag with a white paper tag.
E2 : Ghar sokhran	 A photograph of a sample labeled E2, consisting of dark, irregular fragments in a clear plastic bag with a white paper tag.
E3 : Ghar sokhran	 A photograph of a sample labeled E3, consisting of dark, irregular fragments in a clear plastic bag with a white paper tag.
E4 : Ghar beni Aaad	 A photograph of a sample labeled E4, consisting of light brown, irregular fragments in a clear plastic bag with a white paper tag.

III. Isolement des champignons

III.1. Milieux d'isolement

Afin de réaliser l'isolement de la microflore des échantillons, deux milieux de culture ont été utilisés, le premier c'est le milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar).

Afin d'éviter toutes contaminations bactériennes, le PDA utilisé est acidifié jusqu'à 4,5 à 5 en utilisant 1ml de l'acide lactique à 25% pour un flacon de 200 ml de PDA (Abdelkhalek M. 2017).

Le deuxième milieu utilisé MEA (Malt Extract Agar) qui est un milieu favorable pour la culture des levures et des moisissures. Ce dernier n'est pas acidifié.

III.2. La mise en culture :

1 g de chaque échantillon de sol a été additionné à 9 ml d'eau physiologique et ensuite été homogénéisé, pendant 30 s à l'aide d'un agitateur magnétique

À l'aide d'une pipette Pasteur, une goutte de 1ml de chaque suspension a été prélevée et étalée à l'aide d'un râteau, sur toute la surface de la boîte de Pétri coulée (2 boîtes PDAA et une boîte de MEA).

Sur les boîtesensemencées, le numéro de l'échantillon, la dilution ainsi que la date d'ensemencement ont été indiquées.

L'incubation a été effectuée à 25°C pendant 7 à 15 jours (**Botton et al., 1990**)

III.3. Purification et conservation :

Les souches isolées ont été purifiées par repiquage sur le même milieu d'isolement. Les souches pures ont été repiquées sur le même milieu coulé en pente dans des tubes à vis, puis conservés à 4°C.

III.4. Identification

Les souches pures ont été caractérisées par, leurs aspects cultureux et morphologiques.

III.4.1. Les caracteres culturaux

Ils ont été déterminés par le diamètre des colonies, la couleur, la forme et la sécrétion des pigments diffusible.

III.4.2. Les caracteres morphologiques

Ils ont été déterminés par deux méthodes :

- ❖ **La technique de microculture** : Elle consiste à cultiver les moisissures sur des lames menées de petits carrés de PDAA solidifié et les couvrir par des lamelles, ensuite les conditionner dans une chambre stérile et humide et les incuber à 25°C pendant 3 à 5 jours. Après l'incubation, on effectue les observations des lames grâce à un microscope au grossissement $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$ (Fig. 3).
- ❖ **La technique de Scotch** : C'est une technique simple consiste à prélever la souche cultivée sur la boite à l'aide d'un morceau de scotch transparent et le coller directement sur une lame stérile (l'ajoute de Bleu de Méthylène pour améliorer l'observation) ; ensuite l'observation se fait directement sur la lame à l'objectif $\times 40$.

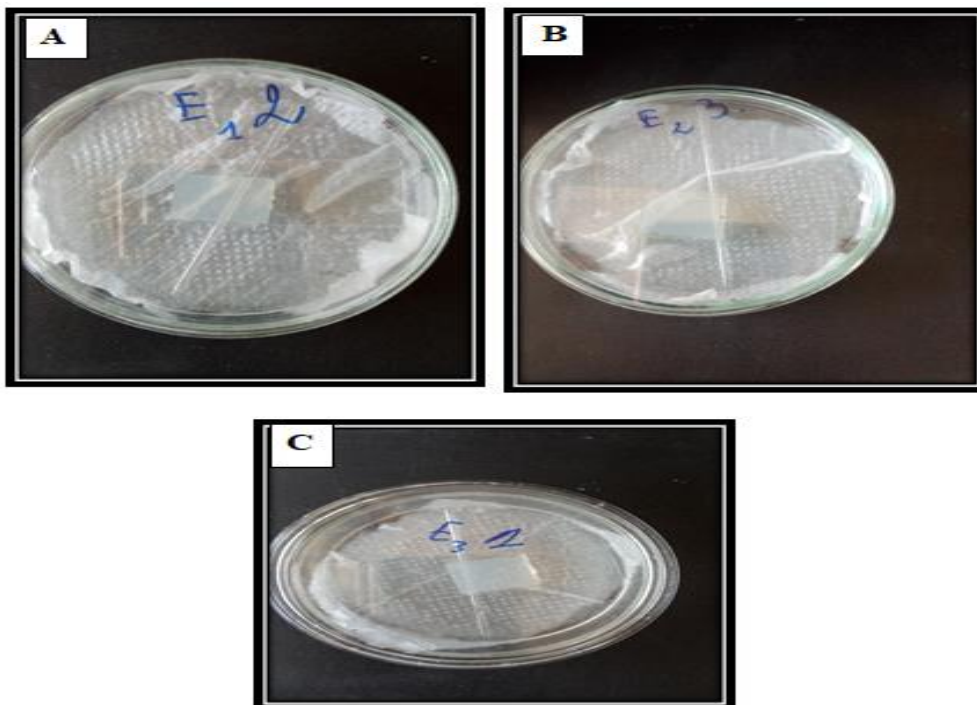


Figure 3: La microculture. A: E12 ; B: E23 ; C: E31.

IV. Tests de biodégradation du plastique par les champignons isolés

IV. 1. Dégradation du plastique en milieux liquide

Afin de réaliser ce test, des sachets en plastique commercial (sachets de congélation) ont été utilisés. Selon la bibliographie, ils sont de type LDPE.

Ils ont été coupés en petit morceaux de 2 cm². Ensuite, 10 morceaux ont été placés dans chaque flacon de 250 ml contenant 100 ml du milieu Czapek liquide (**Saenz et al., 2019 modifié**).

Après stérilisation de l'ensemble à l'autoclave pendant 20 min à 120°C. Les souches fongiques sélectionnées ont été inoculées. Un contrôle : (+) sans champignons et avec plastique, un contrôle : (-) sans plastique et sans champignons.

Les flacons ont été recouverts par papier Aluminium afin d'éviter la photodégradation du plastique.

L'incubation a été réalisée dans une étuve à 25°C pendant 45 jours.

IV.2. Test de confirmation

Quatre boîtes de pétri ont été coulées avec le milieu PDA, ensuite un morceau de plastique a été pris à partir de chaque flacon et posé sur la surface des boîtes.

Les boîtes ont été incubées pendant 7 jours à 25 °C.



Résultats
Et
Discussion

I. Résultats

I.1. Résultats d'isolement

Les résultats d'isollements des échantillons prélevés à partir du sol de la grotte de Beni Aâd et Ghar Sokhran sont représentés dans la figure (4) et le tableau (4).

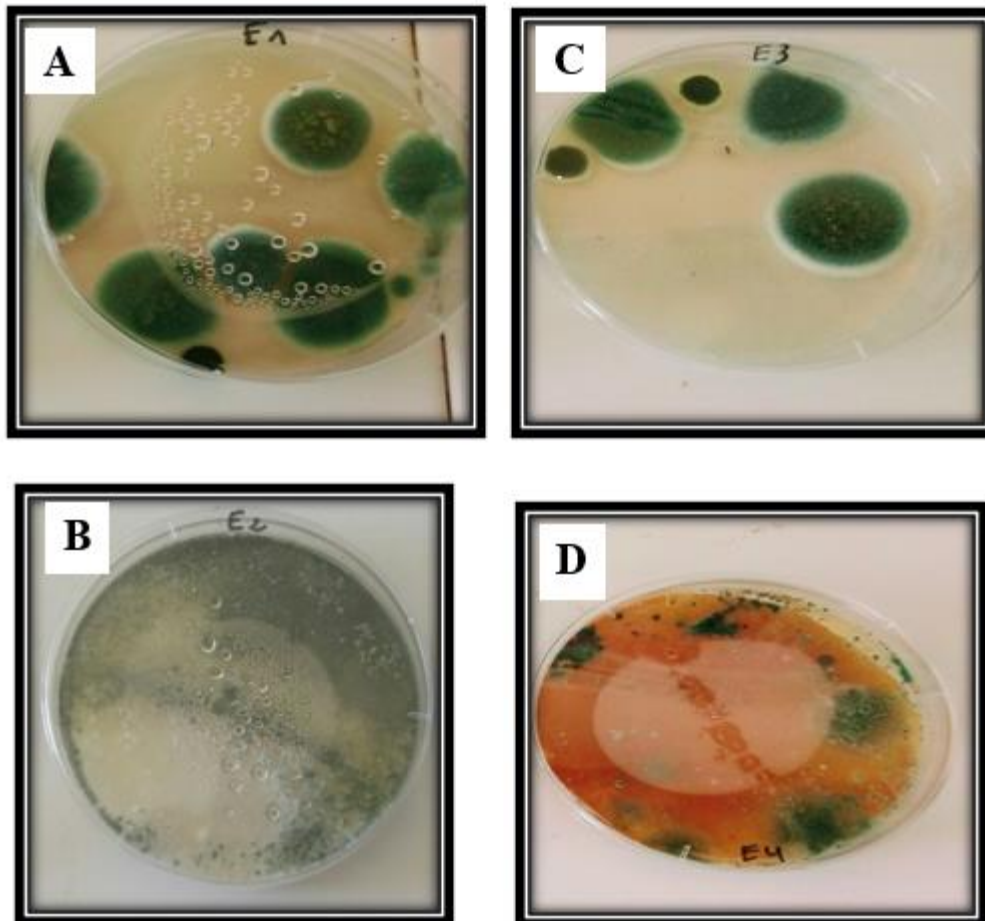


Figure 4: Résultats d'isolement des moisissures. (A): E1; (B): E2; (C): E 3 ; (D) :E4

Tableau 3: Les résultats d'isolement des moisissures

Échantillons	nombre de Colonies	Souche	Couleur	Présence de pigment diffusible
E₁	6	E ₁ 2	Bleu verdâtre à bordures blanches	vert
E₂	1	E ₂ 3	verte envahissante	absent
E₃	2	E ₃ 1	Bleu verdâtre à bordures blanches 2	rouge
E₄	1		verte envahissante	absent

D'après la figure (4) et le tableau (3), on constate que les échantillons du sol ont montré une biodiversité moins importante :

- Concernant les échantillons E₁ et E₃, on a révélé la présence des colonies appartient au genre *Penicillium*.
- Alors que les résultats d'isolement d'échantillon E₂ et E₄ ; montre la présence des colonies appartient au genre *Trichoderma*.

I.2.Résultats de purification

Les colonies obtenues subissent une purification en réalisant des repiquages successifs sur PDA coulées en boîte de Petri. Ensuite, sont incubées pendant une semaine à 30°C (Fig.5).

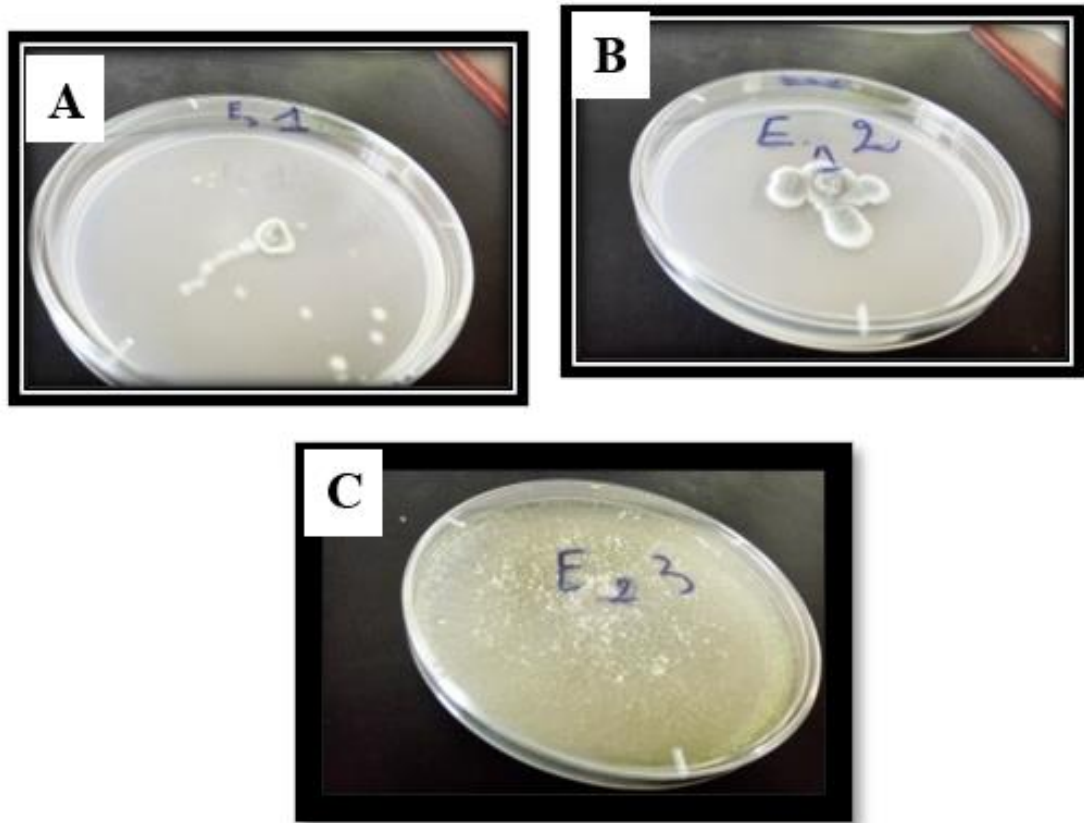


Figure 5: Résultats de purification des souches fongiques sélectionnées sur les boîtes

A :*Penicillium* ; **B** : *Penicillium* ; **C** : *Trichoderma*

Les souches pures doivent être ensemencées sur PDA inclinées en tube puis incubées pendant 7 jours à 30°C. Après leur croissance, ils ont été conservés à 4°C (Fig.6) .

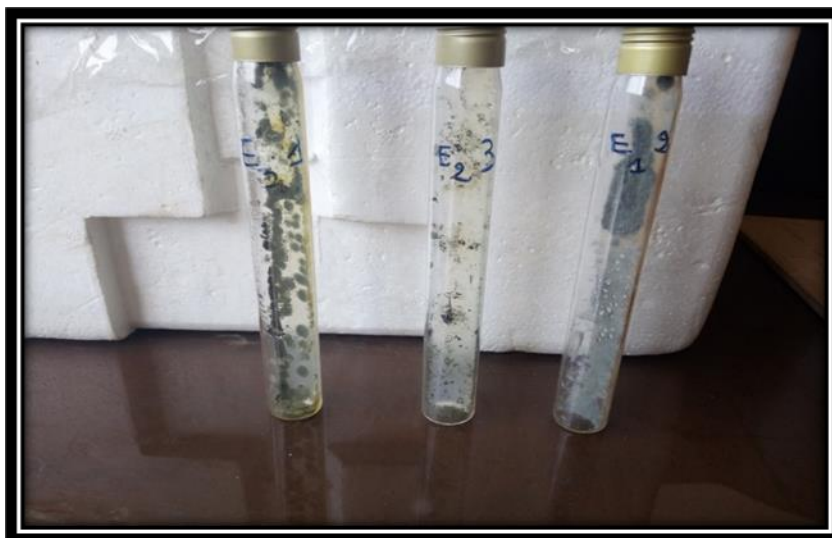


Figure 6: Les souches fongiques conservées sur tube après purification.

La purification à partir des échantillons de sol permet d'éclaircir les moisissures et ces compartiments (le mycélium ainsi les spores) isolés, pour obtenir des souches fongiques pures, qui va faciliter après, l'identification macroscopique et microscopique.

I.3.Résultats d'identification

L'identification des souches de champignons s'est basée sur l'étude macroscopique et microscopique. L'identification de ces souches étant basée essentiellement sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères cultureux et la morphologie microscopique selon **Botton (1990)** ; **Guiraud (1998)** ainsi que celles de **Chabasse et al. (2002)**.

I.3.1.Identification macroscopique

D'après **PITT (1991)**, l'examen macroscopique est basé sur une détermination des diamètres de la prolifération des colonies, la couleur, la forme, la sécrétion des pigments diffusibles et la vitesse de croissance des colonies. Ces observations se font à l'œil nu et la loupe binoculaires.

L'identification macroscopique à révéler la présence de 2 genres : *Penicillium* et *Trichoderma*

- ***Penicillium* :**

Selon (**Tabuc , 2007**) , Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt, Sabouraud). Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. Après 2 jours d'incubation, on observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons verts, vert bleu, vert gris, vert jaune, gris-bleu, mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose ou rouge , avec une sécrétion des pigments diffusibles (Fig.5).

- ***Trichoderma* :**

D'après (**Cournut ,1984 ; Landreau , 2001 ; Kubicek et al .,2003**) , *Trichoderma* isolées sur PDA , répartis en boites montrant une croissance rapide et extensive , avec un aspect laineux de couleur blanche au départ , puis verte avec le temps . Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle.

Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogénèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite (Fig.5).

I.3.2. Identification microscopique

L'identification microscopique des champignons repose sur l'observation au microscope optique et l'observation au microscope binoculaire (Chabasse, 2002).

L'utilisation de la technique de scotch et la microculture nous a permis de confirmer l'identification macroscopique.

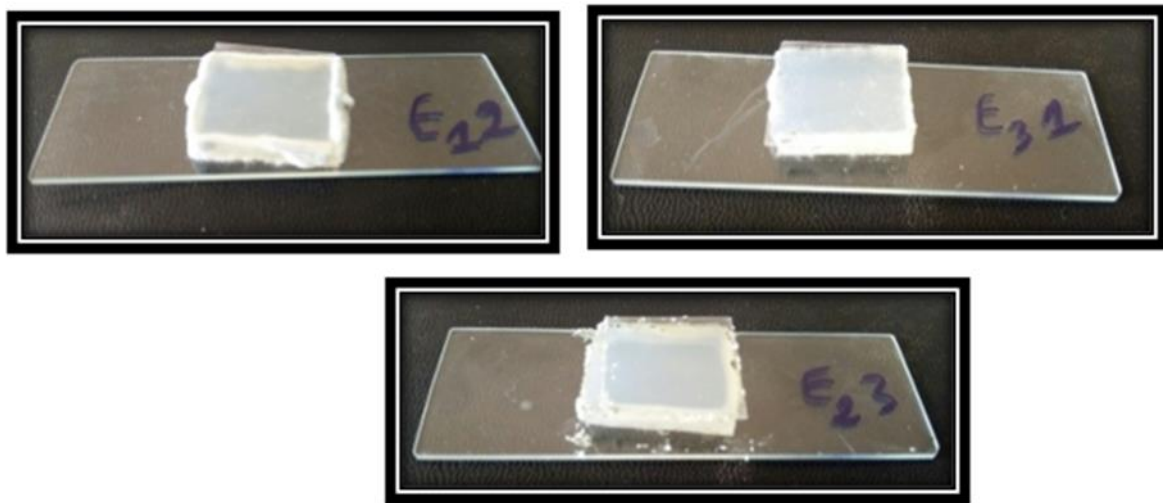


Figure 7:: Résultats de la microculture après l'incubation

- ***Penicillium* :**

Au point de vue morphologique, les individus du genre *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle cloisonné porte les conidiospores simples ou ramifiés se terminant par un pénicille. Les conidiospores peuvent être groupés en faisceaux lâches ou rassemblés en corémies (colonne de conidiophore). Les phialides donnent naissance aux spores qui se positionnent alors en chaînes (Gauthier, 2016) (fig.8).

- ***Trichoderma* :**

La souche *Trichoderma* sous microscope optique a un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés et parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. À leur tour, les phialides portent les spores (phialospores ou bien conidies).

La morphologie des espèces de *Trichoderma* est très proche. Ils ont été considérés pendant plusieurs années comme étant une seule souche : *Trichoderma viride* (Bissy ,1939) (fig.8).

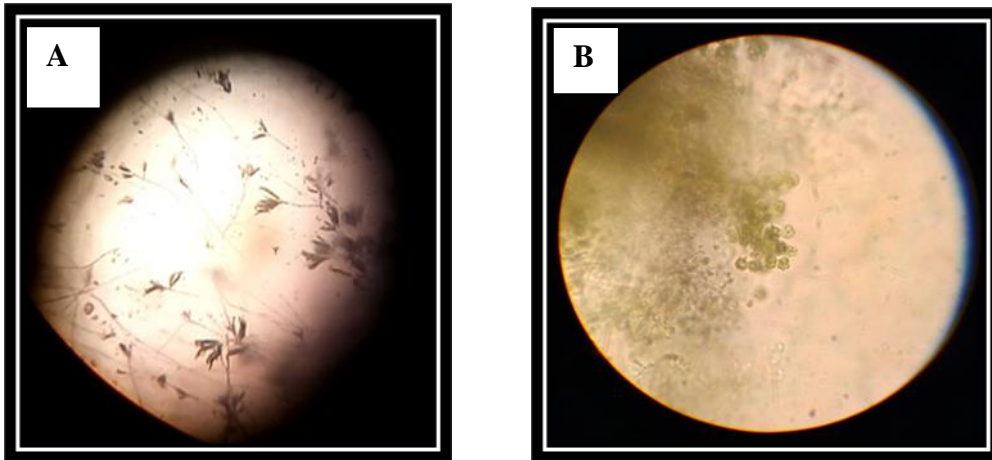


Figure 8: Aspect microscopique des souches isolées (Gr×10)

A : Penicillium ; B :Trichoderma

I.4.Résultats du test de biodégradation sur milieu liquide

Après 45 jours d'incubation, une croissance des souches a été observée au niveau des flacons contenant le milieu Czapek, par rapport au contrôle positif (fig.9)

I

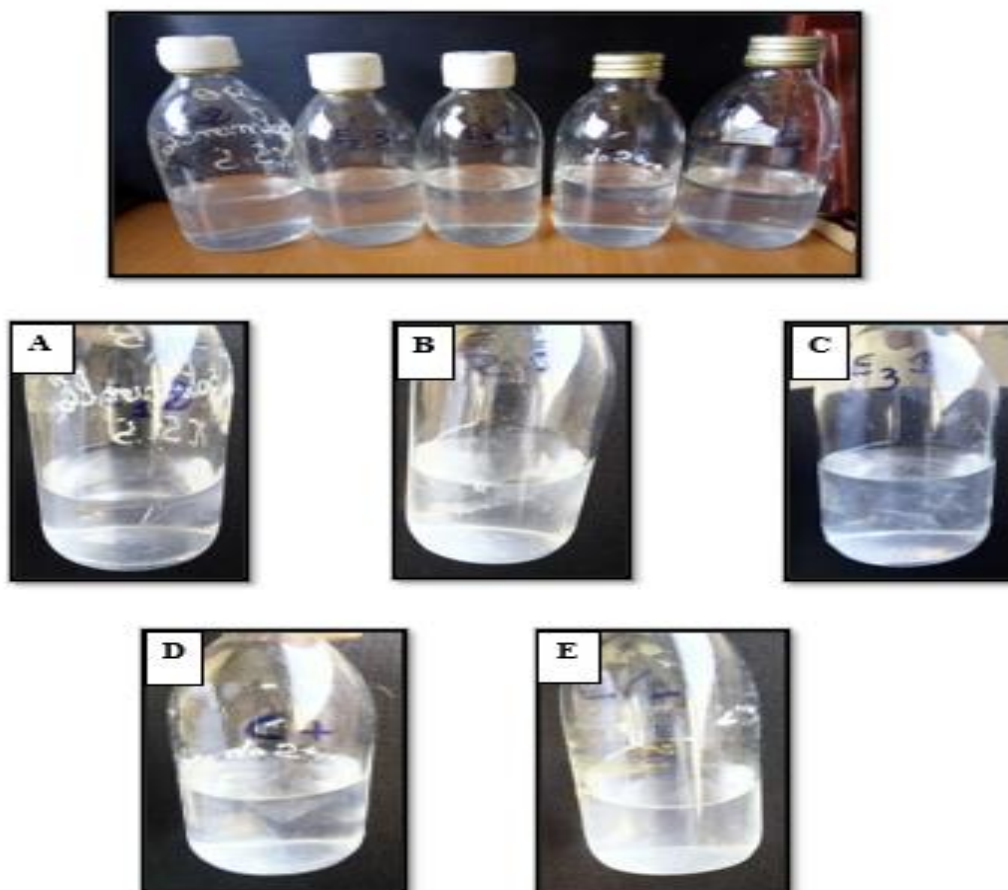


Figure 9: Résultats de test de biodégradation de plastique sur milieu liquide.

(A) : E₁₂ : *Penicillium sp.* ; (B) : E₂₃ : *Trichoderma* ; (C) : E₃₁ : *Penicillium sp.* ;

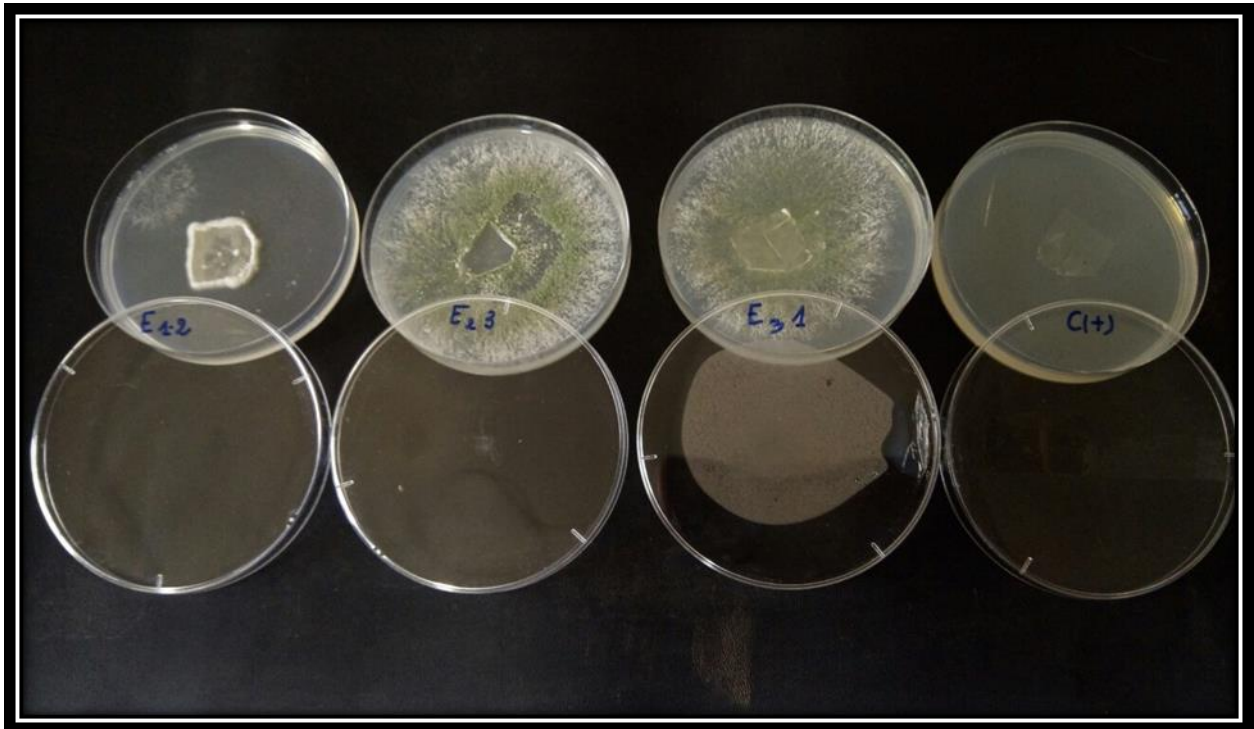
(D) : C (+) : control négatif ; (E) : C (-) : control positif

I.5.Résultats de confirmation

I.5.1. Observation macroscopique

Après 3 jours d'incubation, on a révélé le développement des champignons sur toutes les boîtes (fig07). Concernant les souches E₃₁ et E₂₃, leur croissance était intense par rapport à E₁₂.

Le control (+) n'a donné aucune trace de croissance.



Après 7 jours, les souches E₃₁ et E₂₃ ont envahi toute la surface du milieu. Cependant la souche E₁₂ a été contaminé (fig.10)

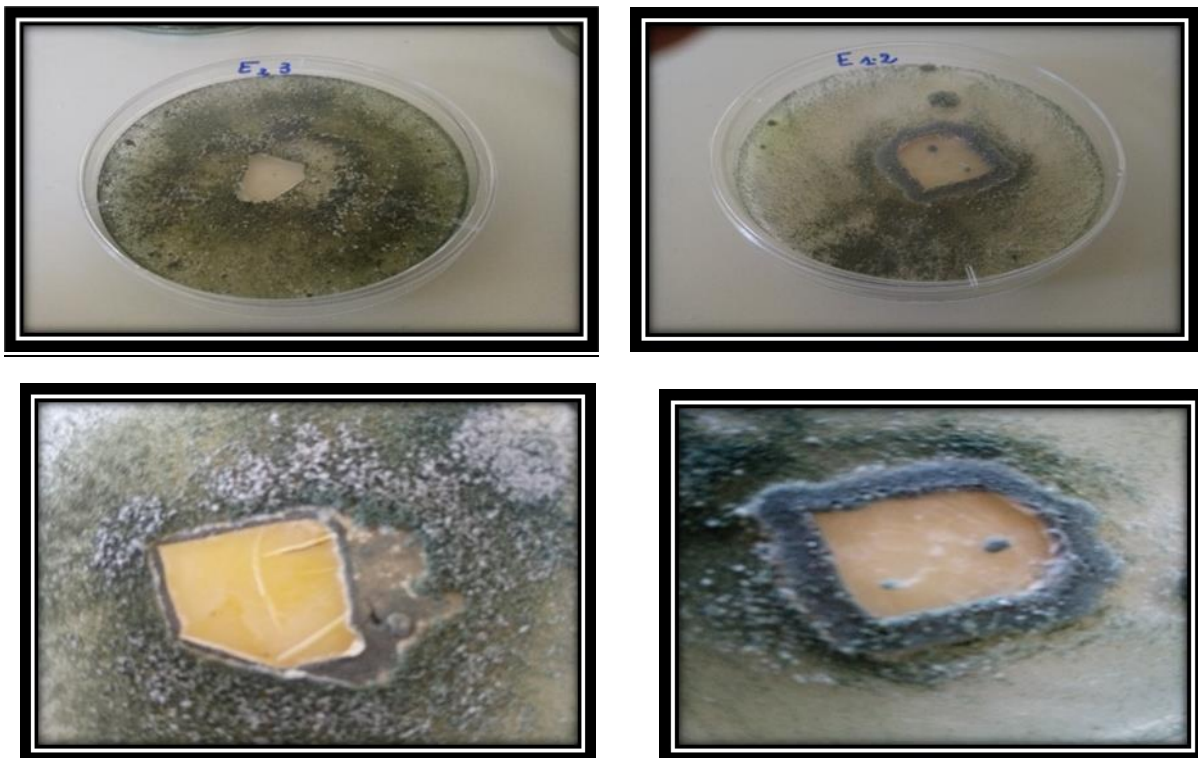
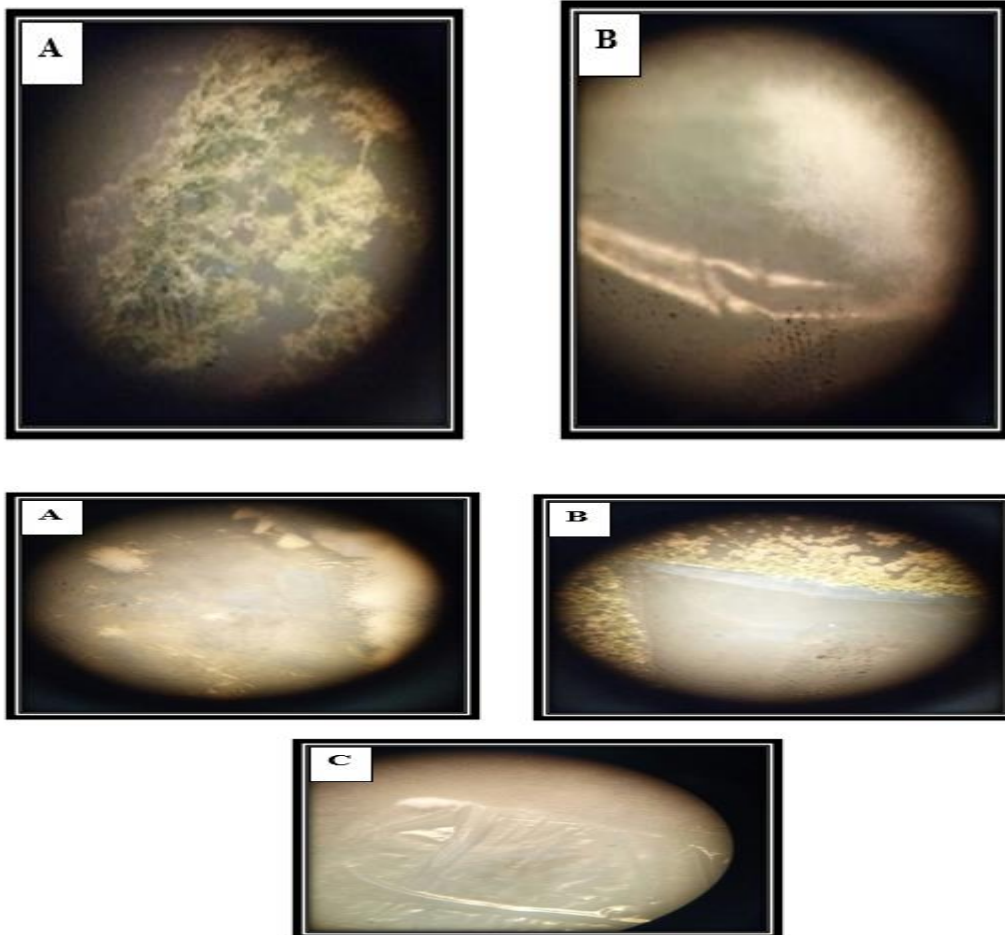


Figure 10: Aspect macroscopique du test de confirmation après 7 jours d'incubation

1.5.2. Observation microscopique

Observation au microscope binoculaire des moisissures isolées sont représentées en figures.



(A) :E₁2 : *Penicillium sp.* ; (B) : E₂3 : *Trichoderma* ; (C) :E₃1 : *Penicillium sp.*

Figure 11: Aspect microscopique de test de confirmation par microscope binoculaire.

II. Discussion

Les champignons ont développé des adaptations très diverses, de telle sorte qu'on les trouve dans pratiquement tous les milieux du monde. Les plus répandues sont les *Penicillium* et *Trichoderma*. On les trouve sous tous les climats et sous toutes les latitudes (**Florent, 1993 ; Tachenon, 1999**).

Alvarez-rodriguez et al. (2003) ; et Boiron, 1996 ont déclaré que *Penicillium* et *Trichoderma*, sont des souches autochtones, habituellement isolées à partir de la plupart des terrains. Et que le genre *Penicillium* est présent d'une façon constante dans la microflore de différentes régions dans le monde.

D'après **Botton et al.(1990)**. L'identification reste l'opération la plus difficile dans le domaine de la mycologie, elle a pour but de classer les souches fongiques par genres et espèces selon les critères d'identification. Elle est basée sur les deux aspects : microscopiques et macroscopiques. Dont l'aspect macroscopique permet de connaître : les caractères culturels, la couleur des colonies, la présence ou l'absence de l'exsudat et d'une odeur. Alors que l'aspect microscopique révèle les organes de fructification et la couleur des spores.

Les souches de *Penicillium* et *Trichoderma* ont un pouvoir de dégradation du plastique et au même temps antagonistes contre les champignons phytopathogène .

D'après **Munir et al.(2018)** la biodégradation du LDPE a été évaluée sur la base de la perte de poids et de la réduction de la résistance à la traction de film traité par rapport au film non traité. La croissance des isolats fongiques a été observée sur la surface du film de LDPE ;ils ont supposé que les champignons ont modifié le film en sécrétant des enzymes de dégradation et utilisé le polyéthylène pour leurs croissance.

L'isolat PS2 de *Penicillium* sp est un candidat potentiel pour dégrader le LDPE .La réduction de la perte de poids du LDPE a été observée après 90 jours de période d'incubation car la biodégradation est généralement proportionnelle à la perte de poids du polymère. *Penicillium* sp. Isolat PS2 a montré 0,36 % de perte de poids après 90 jours de période d'incubation tandis que le contrôle n'a montré aucune perte de poids (**Anuradha De Silva et al, 2019**) .

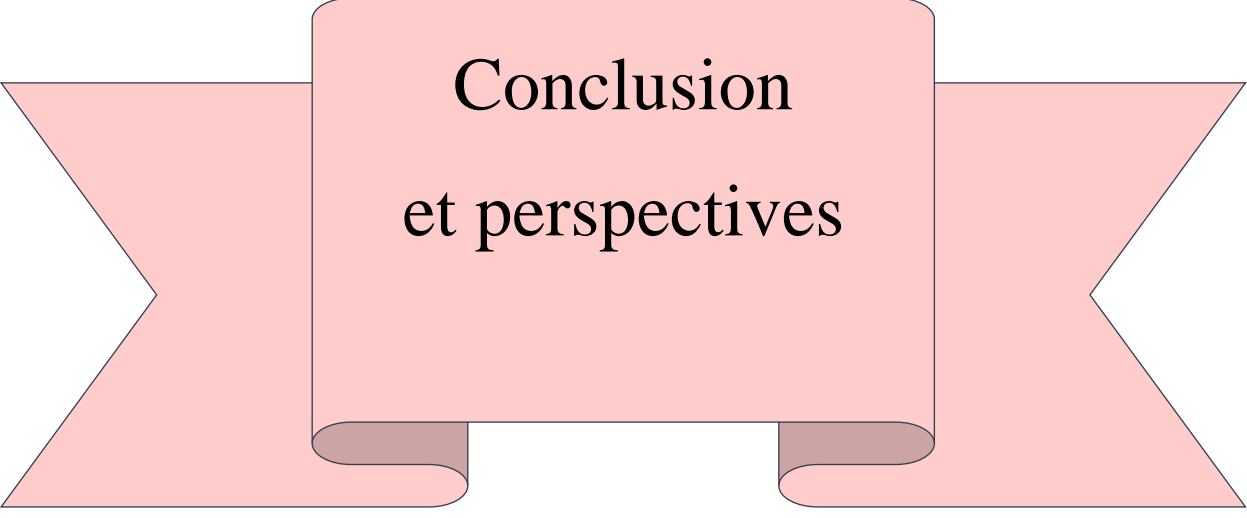
Selon **Nowak et al. (2012)** , *Penicillium funiculosum* et *P. ochrochloron* ont montrés 0 ,15 % et 0 ,06 % de perte de poids des films LDPE et 0,02 % de perte de poids montré par *Trichoderma viride* .

Selon **Bruner et al. (2018)** , *Penicillium griseofulvum* a montré une capacité de dégradation de PU (polyuréthane) et pas de dégradation de PE (polyéthylène) , après au moins trois semaine de croissance , des halos étaient visibles dans le test de dégradation du PU et pas de croissance ni halos étaient visibles autours de l'inoculum dans le test de biodégradation de PE. Les champignons *Penicillium* et *Trichoderma* dégradant le PU ont montré une activité d'uréase .

Yamada-Onodera et al. (2001) ont identifié un champignon, *Penicillium simplicissimum*, qui pourrait dégrader le polyéthylène haut densité non traité.

Seneviratne et al. champignons étaient considérés comme ayant la plus grande capacité de dégradation du LDPE parce qu'ils sécrètent des protéines hydrophobes et se lier à la surface du polymère. En outre, **Kim et Rhee** les champignons ont poussé beaucoup plus vite que les bactéries dans le sol.

D'après munir et al. (2018) Les isolats fongiques (RH03 et RH06) ont été testés pour leur capacité de dégrader le LDPE. Un film de LDPE (1 cm x 4 cm) a été placé dans une préculture du milieu MSMA .La croissance des isolats a été observée après 45 jours d'incubation à température ambiante ($26 \pm 2^{\circ}\text{C}$), elle était beaucoup plus lente par rapport aux champignons cultivés sur l'agar dextrose sabouroud.



**Conclusion
et perspectives**

Les plastiques sont devenus des objets d'usage courant dans notre vie quotidienne, mais leur accumulation dans l'environnement provoque un grand problème de pollution.

La dégradation des polymères plastiques se fait via plusieurs mécanismes biotiques et abiotiques : physique, chimique et biologique (biodégradation) par les différents microorganismes, plus précisément dans notre recherche la mycoremédiation : peut-être une stratégie efficace pour lutter contre ce problème.

La présente étude est faite dans le but de la mise en évidence de la capacité des champignons provenant des grottes de **Beni Aad** et **Ghar Sokhran** à dégrader les polymères plastiques.

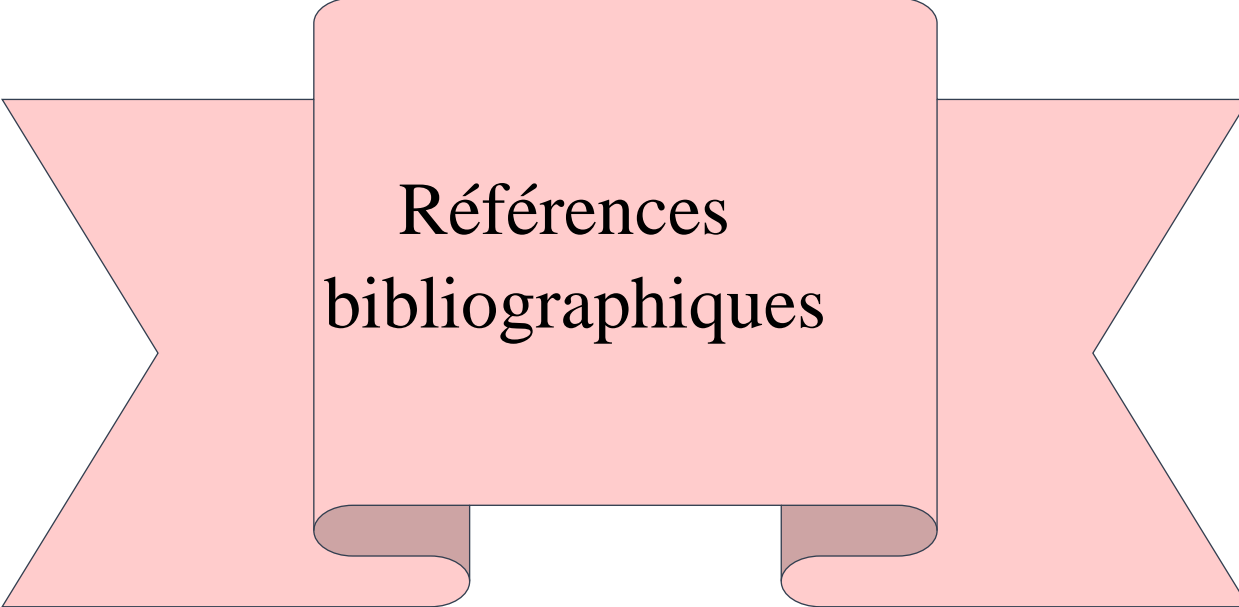
Après l'identification macroscopique et microscopique ; les isolats obtenus appartiennent aux genres *Penicillium* et *Trichoderma*.

En effet, les deux souches de champignons isolés *Penicillium* et *Trichoderma* ont montrés une croissance que ce soit au niveau des boites de pétri contenant le milieu PDA et les morceaux de plastiques ou bien au niveau des flacons contenant le milieu Czapek, ce qui confirme la capacité de ces espèces à dégrader le plastique de type LDPE.

Les résultats obtenues par le test de biodégradation ont été confirmé par une culture dans des boites de pétri contenant le milieu PDA et les morceaux de plastique .

Et comme perspective, nous proposons :

- refaire le test de biodégradation a une durée plus longue
- L'utilisation d'autres techniques pour la réalisation du test de biodégradation
- tester la capacité des souches isolées *Penicillium* et *Trichoderma* à dégrader le plastique dans le sol.



Références
bibliographiques

- **Abdul-Latif, M.Y.Ong, S.Nomanbhay, B. Salman, P.L.Show**, Estimation Of carbondioxide (CO₂) reduction by utilization of algalbiomassbio plastic in Malaysia using carbonemission pinchan alysis (CEPA), *Bioengineered*11 (2020)154e164.
- **ABDELKHALEK M. (2017)** Isolement des microorganismes (actinomycètes et moisissures) producteurs de substances antimicrobiennes à partir de la grotte Kaws – Honaine.). Mémoire de master Université aboubek belkaid - Tlemcen -
- **Ahmed T, Shahid M, Azeem F, Rasul I, Shah AA, Noman M, Hameed A, Manzoor N, Manzoor I, Muhammad S.** Biodegradation of plastics: current scenario and futurs prospects for environmental safety (2018) .*Environmental Science and Pollution Research* 25 :7287–7298.
- **Ali, M.; Ahmed, S.; Javed, I.; Ali, N.; Atiq, N.; Hameed, A.; Robson, G.** Biodegradation of Starch Blended Polyvinyl Chloride Films by Isolated Phanerochaete chrysosporium PV1. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2014, 11, 339–348.
- **Alvarez – Ropdriguez m.L., Lopez-ocana L., Lopez C., Rodriguez N.E. MartinezM.J., Larriba G & Coque J-J.R. (2002).** Cork taint of wines: role of filamentousfungi isolated from rock in the function of 2, 4, 6- Trichloroanisol by O methylation of 2, 4, 6 – Trichlorophenol. *Applied and Environmental Microbiology.* 68 (12): 5860-5869
- **Andrady Al** (2011) Microplastics in the marine environment. *Mar Pollut Bull* 62 (8):1596–1605. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.
- **Andrady AL, Pegram JE, Song Y (1993)** Studies on enhanced degradable plastics.
- **Andrady, A.L., Hamid, H.S., Torikai, A., 2003.** Effects of climate change and UV-B on materials. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2 (1), 68e72.
- **Andrady, A.L., 2015. In: Bergmann, M., Gutow, L., Klages, M. (Eds.),** *Marine Anthropogenic Litter.* Springer International Publishing, Cham, pp. 57e72.
- **Battin, T.J., Besemer, K., Bengtsson, M.M., Romani, A.M., Packmann, A.I., 2016.** The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nat. Rev. Microbiol.* 14, 251.
- **Benedict, C.V.; Cook, W.J.; Jarrett, P.; Cameron, J.; Huang, S.J.; Bell, J.P.** Fungal Degradation of Polycaprolactones. *J. Appl. Polym. Sci.* 1983, 28, 327–334. [CrossRef]
- **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.

- **Boudet, A.** (2003). « Voyage au cœur de la matière plastique (les microstructures des polymères) », éd. CNRS, Paris.
 - **Boiron P.** (1996). Organisation et biologie des champignons. Édition Nathan.p:13-19-69-79.
 - **Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy PH, Larpent JP, Reymond P, Sanglier JJ, Vayssier Y et Veau P** (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. 2meEd. Masson. 426p
 - **Bouchet P H, Guignard J L, Villard J** (1999). Les champignons, Mycologie fondamentale et appliquée. Ed. Masson : Paris. 194 p.
 - **Boiron P** (2005). Mycologie. Thèse soutenue dans d'autre université
 - **BORLOO JEAN-LOUIS**, 2009.Bleu des engagements du Grenelle de la Mer. le plan politique
 - **Brunner I, Fischer M, Ruthi J, Stierli B, Frey B** (2018).Ability of fungal isolated from plastic debris floating in the shoreline of a lake to degrade plastics .PLOS ONE 13(8):e 0202047. <https://doi.org/10.1371/Journal.pone.0202047>
- (**Braun D, Bazdanea E. In : Nass LI, Heiberger CA**, 1986, editors. Encyclopaedia of PVC, 2nd Ed., vol. 1. New York : Marcel Dek
- **Cau, A., Avio, C.G., Dessi, C., Moccia, D., Pusceddu, A., Regoli, F., Cannas, R., Follesa, M.C.,** 2020. Benthic Crustacean digestion can modulate the environmental fate of microplastics in the deep sea. Environ. Sci. Technol. 54 (8), 4886e4892.
 - **Cadee, G.C.,** 2002. Seabirds and floating plastic debris. Mar. Pollut. Bull. 44 (11), 1294e1295.
 - **Chen, X., Xiong, X., Jiang, X., Shi, H., Wu, C.,** 2019. Sinking of floating plastic debris caused by biofilm development in a freshwater lake. Chemosphere 222, 856e864.
 - **Cournut B.,**1989.Le genre Trichoderma hyphomycete .Th: Pharmacie : Marseille :77p
 - **Crawford, C.B., Quinn, B.,** 2017. In: Crawford, C.B., Quinn, B. (Eds.), Microplastic Pollutants. Elsevier, pp. 57e100
 - **Dawson, A.L., Kawaguchi, S., King, C.K., Townsend, K.A., King, R., Huston, W.M., Bengtson Nash, S.M.,** 2018. Turning microplastics into nanoplastics through digestive fragmentation by Antarctic krill. Nat. Commun. 9 (1), 1001.

- **Danso, D., Chow, J., Streit, W.R., 2019.** Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 85 (19).
- **Duwez AS, Nysten B (2001).** Mapping aging effects on polymer surfaces: specific detection of additives by chemical force microscopy. *Langmuir* 17(26):8287–8292. doi:10.1021/la0113623.
- **Da Luz, J.M.R.; da Silva, M.d.C.S.; dos Santos, L.F.; Kasuya, M.C.M.** Plastics Polymers Degradation by Fungi. In *Microorganisms*; IntechOpen: Vienna, Austria, 2019.
- **Environnement et changement climatique Canada (2020).** Evaluation Scientifique de la pollution plastique. Gouvernement du Canada. <https://www.canada.ca/content/dam/eccc>
- **Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Gibson, M.I., Christie-Oleza, J.A., (2019).** Distribution of plastic polymer types in the marine environment ; A meta-analysis. *J. Hazard. Mater.* 369, 691–698.
- **Ekanayaka, A.H.;Tibpromma, S.; Dai, D.; Xu, R.;Suwannarach, N.; Stephenson, S.L.;Dao, C.; Karunarathna, S.C (2022).** AReview of the Fungi ThatDegradePlastic. *J. Fungi* , 8,772. <https://doi.org/10.3390/jof8080772>.
- **Eubeler JP, Zok S, Bernhard M, Knepper TP (2009).** Environmental biodegradation of synthetic polymers I. Test methodologies and procedures. *TrAC Trends Anal Chem* 28(9):1057–1072. doi:10.1016/j.trac.2009.06.007.
- **Esmaili A, Pourbabaee AA, Alikhani HA, Shabani F and Esmaili E.(2013)** PloS ONE.
- **Florent J (1993).** Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêts industriels. Éd. Lavoisier Tec et Doc. 612 p.
- **Guiraud, J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod. Chapitre, Milieu et réactif.P :522. ISBN : 2 10 003666 1-Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L. Brun S. and Penn P. (2002). Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt médical. Labo Analy de biomédicale.

- **Gauthier a. (2016).** Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux U.F.R. Des Sciences pharmaceutiques.
- **Guiraud, J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod. Chapitre, Milieu et réactif. P :522. ISBN : 2 10 003666 1-Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L . Brun S. and Penn P. (2002). Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt médical. Labo Analy de biomédicale.
- **Guebitz, G.M., Cavaco-Paulo, A., 2008.** Enzymes go big: surface hydrolysis and functionalisation of synthetic polymers. Trends Biotechnol. 26 (1), 32e38
- **Geyer, R., Jambeck., J. R. & Law., K. L. Production.,2017** use, and fate of all plastics ever made. *Sci. Adv.* 3, 178-185p.
- **Gu, J.D., Ford, T.E., Mitchell, R., 2000.** Microbial Corrosion of Metals. The Uhlig Corrosion Handbook, seconded. , pp.915e927.
- **Gu J-G, Gu J-D (2005).** Methods currently used in testing microbiological degradation and deterioration of a wide range of polymeric materials with various degree of degradability: a review. *J Polym Environ* 13(1):65–74. doi:10.1007/s10924-004-1230-7.
- **Goltapeh, E. M., Danesh, Y. R., et Varma, A. (2013).** Fungi as Bioremediators (Soil Biology, 32) (2013e éd., Vol. 489). Springer.
- **Gonda, K.; Jendrossek, D.; Molitoris, H.-P.** Fungal Degradation of the Thermoplastic Polymer Poly-β-Hydroxybutyric Acid (PHB) under Simulated Deep Sea Pressure. In *Life at Interfaces and Under Extreme Conditions*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2000; pp. 173–183
- **Ibrahim, Ibrahim N.; Maraqa, Anwar; Hameed, Khalid M.; Saadoun, Ismail M.; and Maswadeh, Hamzah M. (2011).** Assessment of potential plastic-degrading fungi in Jordanian habitats," *Turkish Journal of Biology*: Vol. 35: No. 5, Article 3. <https://doi.org/10.3906/biy-0901-9>
Available at <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol35/iss5/3>
- **Jang, M., Shim, W.J., Han, G.M., Song, Y.K., Hong, S.H., 2018.** Formation of microplastics by polychaetes (*Marphysa sanguinea*) inhabiting expanded polystyrene marine debris. *Mar. Pollut. Bull.* 131 (Pt A), 365e369.
- **Jarerat, A.; Tokiwa, Y.** Degradation of Poly (L-lactide) by a Fungus. *Macromol. Biosci.* 2001, 1, 136–140. [CrossRef]
- **J.K.Anuradha De Silvia., G.A.U.Jayasekera , and C .M Nanayakkara (2019).** Identification of potential fungal degraders of low density polyethylene (LDPE). *Jsc EUSL* vol .10 ; No.2 ; p 1-10. <https://doi.org/10.4038/jsc.vj012.20>

- **Kathiresan, K.** Polythene and Plastics-Degrading Microbes from the Mangrove Soil. *Rev. Biol. Trop.* 2003, 51, 629–633.
- **Kamweru, P.K., Ndiritu, F.G., Kinyanjui, T.K., Muthui, Z.W., Ngumbu, R.G., Odhiambo, P.M., 2011.** Study of temperature and uvwavelength range effects on degradation of photo-irradiated polyethylene films using DMA. *J. Macromol. Sci., Part B: Physics* 50 (7), 1338e1349.
- **Kotoyori, T., 1972.** Activation energy for the oxidative thermal degradation of plastics. *Thermochim. Acta* 5 (1), 51e58.
- **Kale SK, Deshmukh AG, Dudhare MS, Patil VB (2015).** Microbial degradation of plastic: a review. *J Biochem Technol* 6(2):952–961.
- **Kim DY and Rhee YH (2003)** *Appl. Micro. Biotech*
- **kubicek,C.P.,Bisset,J.,Druzhinina,I., KullinigGradinger, C.etSzakacs,G.2003 .** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma sp.*; a case study on south–east Asian isolates. *Fungal genet. Biol.*, 38(3)310-319.
- **Lambert S, Wagner M (2016).** Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere* 161:510–517. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.07.042.
- **Landreau A., 2001.** Metabolites dune souche de *Trichoderma koningii oudemans* isolée du milieu marin: etude chimique, biologie et risques pour les coquillages en culture .201pgal *Genet Biol.*, 38(3):310-319.
- **Laila, M.D.** The Potential of Fungi Isolated from *Pleurotus ostreatus* (Oyster Mushroom) Baglog to Degrade Plastics. Ph.D Thesis, Universitas Andalas, Padang, Indonesia, 2021.
- **Liu, K., Wang, X.H., Wei, N., Song, Z.Y., Li, D.J., 2019.** Accurate quantification and transport estimation of suspended atmospheric microplastics in megacities: implications for human health. *Environ. Int.* 132, 10.
- **Mateos-Cardenas, A., O’Halloran, J., van Pelt, F.N.A.M., Jansen, M.A.K., 2020.** Rapid fragmentation of microplastics by the freshwater amphipod *Gammarus duebeni* (Lillj.). *Sci. Rep.* 10 (1).
- **Melina Sáenz, Tamara Borodulina, Linda Diaz, Carlos Banchon. 2019.** Minimal Conditions to Degrade Low Density Polyethylene by *Aspergillus terreus* and *niger*. *Journal of Ecological Engineering.* Volume 20, Issue 6, July 2019, pages 44–51 <https://doi.org/10.12911/22998993/108699>

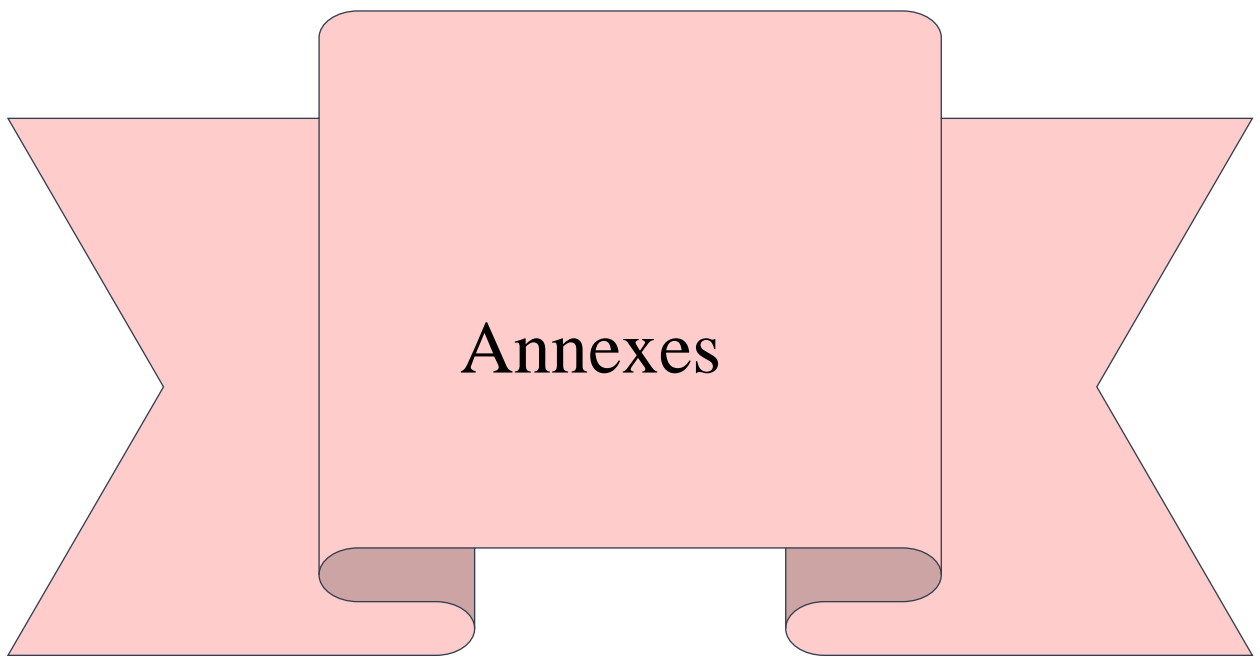
- **Müller R-J (2015).** Biodegradation behaviour of polymers in liquid environments. In: Bastioli C (ed) Handbook of biodegradable polymers. Rapra Technology Limited, Billingham, pp 33 55.
- **Müller R-J, Kleeberg I, Deckwer W-D (2001).** Biodegradation of polyesters containing aromatic constituents. J Biotechnol 86(2).
- **Munir, E.; Harefa, R.; Priyani, N.; Suryanto, D.** Plastic Degrading Fungi *Trichoderma viride* and *Aspergillus nomius* Isolated from Local Landfill Soil in Medan; IOP Publishing: Bristol, UK, 2018; Volume 126, p. 01 2145.
- **Nakei, M.D.** Isolation and Identification of Plastics—Degrading Microorganisms from Soils of Morogoro, Tanzania. Ph.D. Thesis, Sokoine University of Agriculture, Morogoro, Tanzania, 2015.
- **Nimchua, T.; Punnapayak, H.; Zimmermann, W.** Comparison of the Hydrolysis of Polyethylene Terephthalate Fibers by a Hydrolase from *Fusarium oxysporum* LCH I and *Fusarium solani* f. sp. pisi. Biotechnol. J. Healthc. Nutr. Technol. 2007, 2, 361–364
- **Nowak Bozena , Pajak Jolanta , Karcz Jagna (2012) .** Biodegradation of pre-aged modified polyethylene films . Wiv kazmiruk (ed) , Scanning Electron Microscopy ,p 643- 670.
- **O’Brine, T., Thompson, R.C., 2010.**Degradation of plastic carrier bags in the marine environment. Mar.Pollut. Bull.60, 2279–2283.
- **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.
- **Pal, P., Pandey, J.P., Sen, G., 2018.** In: Thakur, V.K. (Ed.), Biopolymer Grafting. Elsevier, pp. 153e203.
- **Pathirana, R.; Seal, K.** *Gliocladium Roseum* (Bainier), a Potential Biodeteriogen of Polyester Polyurethane Elastomers; John and Wiley and Sons: Hoboken, NJ, USA, 1983.
- **Peterson, J.D., Vyazovkin, S., Wight, C.A., 2001.** Kinetics of the thermal and thermo-oxidative degradation of polystyrene, polyethylene and poly(propylene). Macromol. Chem. Phys.

- **Pitt, J.I. (1991).** A Laboratory Guide to Common Penicillium Species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Food Research Laboratory, N.S.W., Australia. Press, New York.
- **Pirsaheb, M., Hossini, H., Makhdoumi, P., 2020.** Review of microplastic occurrence and toxicological effects in marine environment: experimental evidence of inflammation. *Process Saf. Environ. Protect.* 142, 1e14.
- **PlasticsdThe Facts 2019.** An Analysis of European Latest Plastics Production, Demand and Waste Data. *PlasticsEurope*. Available online:review.
- **Porter, A., Smith, K.E., Lewis, C., 2019.** The sea urchin *Paracentrotus lividus* as a bioeroder of plastic. *Sci. Total Environ.* 693.
- **Purves WK, Orians GH et Heller HC (1994).** Le monde vivant. *Traité de biologie.* Sciences/ Flammarion. 1224p
- **Rajmohan KV, Ramya C, Viswanathan MR, Varjani S (2019)** Plastic pollutants : effective waste management for pollution control and abattement. *Curent Opinion Environ Sci Health* 12:72–84. [https:// doi.org/ 10. 1016/j. coesh. 2019. 08. 006](https://doi.org/10.1016/j.coesh.2019.08.006)
- **Rani, A.; Singh, P.** Screening of Polyethylene Degrading Fungi from Polyethylene Dump Site. *Int. J. Chem. Tech. Res.* 2017, 10, 699–704.
- **Raaman, N.; Rajitha, N.; Jayshree, A.; Jegadeesh, R.** Biodegradation of Plastic by *Aspergillus* spp. Isolated from Polythene Polluted Sites around Chennai. *J. Acad. Indus. Res.* 2012, 1, 313–316.
- **Restrepo Flórez JM, Bassi A, Thompson MR (2014).** Microbial degradation and deterioration of polyethylene-a review. *Int Biodeterior Biodegrad* 88:83–90
- **Remini, B. (2005).** *La problématique de l'eau en Algérie (4807e éd., Vol. 162).* Office des publications universitaires.
- **Russell, J.R., Huang, J., Anand, P., Kucera, K., Sandoval, A.G., Dantzler, K.W., Hickman, D., Jee, J., Kimovec, F.M., Koppstein, D., Marks, D.H., Mittermiller, P.A., Núñez, S.J., Santiago, M., Townes, M.A., Vishnevetsky, M., Williams, N.E., ~ Vargas, M.P.N., Boulanger, L.-A., Bascom-Slack, C., Strobel, S.A., 2011.** Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 77 (17), 6076e6084.
- **Sanchez, C., 2019.** Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: an overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnol. Adv.* 107501.

-
- **Santo, M., Weitsman, R., Sivan, A., 2013.** The role of the copper-binding enzyme *laccase e* in the biodegradation of polyethylene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 84, 204e210.
 - **Savoldelli, J., Tomback, D., Savoldelli, H., 2017.** Breaking down polystyrene through the application of a two-step thermal degradation and bacterial method to produce useable by products. *Waste Manag.* 60, 123–126. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.04.017>.
 - **Sauders JH, Frisch KC.** 1964. *Chemistry and Technology, Part II, Technology. Polyurethanes.* New York : Interscience Publishers. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.067>
 - **Schink B, Janssen PH, Frings J (1992).** Microbial degradation of natural and of new synthetic polymers. *FEMS Microbiol Rev* 103(2/4):311–316.
 - **Seneviratne G, Tennkoon NS, Weerasekara MLMAW and Nandasena KA (2006)** *Curr Sci.*
 - **Shah AA, Hasan F, Akhter JI, Hameed A, Ahmed S (2008).** Degradation of polyurethane by novel bacterial consortium isolated from soil. *Anal Microbiol* 58(3):381–386.
 - **Singh, B., and Sharma, N. (2008).** Mechanistic implications of plastic degradation. *Polym. Degrad. Stab.* 93, 561–584. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008.
 - **Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, M., Han, G.M., Jung, S.W., Shim, W.J., 2017.** Combined effects of UV exposure duration and mechanical abrasion on microplastic fragmentation by polymer type. *Environ. Sci. Technol.* 51 (8), 4368–4376.
 - **Sowmya, H.; Ramalingappa, B.; Nayanashree, G.; Thippeswamy, B.; Krishnappa, M.** Polyethylene Degradation by Fungal Consortium. *Int. J. Environ. Res.* 2015, 9, 823–830.
 - **Soumya, S.; Nair, B.R.** Antifungal Efficacy of *Capsicum Frutescens* L. Extracts against Some Prevalent Fungal Strains Associated with Groundnut Storage. *J. Agric. Technol.* 2012, 8, 739–750.
 - **Syranidou, E., Karkanorachaki, K., Amorotti, F., Repouskou, E., Kroll, K., Kolvenbach, B., Corvini, PF-X., Fava, F., Kalogerakis, N., 2017.** Développement de consortiums marins indigènes sur mesure pour la dégradation des films de

polyéthylène naturellement altérés. PloS One 12, e0183984.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183984>.

- **Syranidou, E., Sudhakar, M., Priyadarshini, C., Doble, M., Sriyutha Murthy, P., Venkatesan, R., 2008.** Marine bacteria mediated degradation of nylon 66 and 6. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 60, 144–151.
- **PHS, (2011).** Bois Durci. *In* The Plastics Historical Society. Plastics Historical Society (PHS) (2010). An Introduction to Plastics. In Plastics Historical Society. <http://www.plastiquarian.com/userfiles/file/plasticbook.pdf>
- **Tabuc, C. (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse présentée pour obtenir le titre de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest .Spécialité : pathologie, mycologie, génétique et nutrition. 190p
- **Thompson, R. C., Moore, C. J., Saal, F. S. vom & Swan, S. H., 2009.** Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 2153–2166.
- **Thompson R.C, Lsen y Mitchell R.P, Davis A, Rowland S,J, John.A.W.G, Mccingle D, Russelle A.E., 2004-** Lost at Sea: where is all the plastic, *Science*, 304, 838.
- **Tolinsky, M. (2011).** Plastics and Sustainability 269 p. Salem, Scrivener Publishing,.
- **Turenc, O. (2012).** Biopolymers. In Dunford, N. T., Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing (chap. 11, p. 267-293). Stillwater, John Wiley & Sons.
- **Watanabe, K. (2001).** Microorganisms relevant to bioremediation, *Curr. Opinion Biotechnol.*, 12(3) : 237-241.
- **Wu, X., Pan, J., Li, M., Li, Y., Bartlam, M., Wang, Y., 2019.** Selective enrichment of bacterial pathogens by microplastic biofilm. *Water Res.* 165, 114979.
- **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
- **Zhang k , Hamidian A H, Tubi A, Zhang Y, James K.H. Fang, Wu C , Paul K.S. (2021)** Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment .*Lam Environmental Pollution* 274 , 116554.
- <https://escaleverte.ca>



Annexe 1

Composition de milieu PDA : Potatoes Dextrose Agar.

- Poudre 21g.
- Eau distillée 500ml.

Mode d'emploi

Préparation de milieu PDA

Préparé 21g de poudre PDA dans 500 ml d'eau distillée, chauffer et bien mélanger avec l'agitation, après cela, nous remplissons deux flacons de 250ml avec ce mélange obtenu, les milieux seront portés à une cocote minute pour une stérilisation à température 120°C pendant 20min pour éviter la contamination bactérienne, le milieu PDA est acidifié en lui ajoutant 1ml d'acide lactique (25%), après solidification du milieu on va couler 2 boîtes de pétri.

Annexe 2

Composition de milieu MEA : Malt Extract Agar.

- Poudre 6.84g.
- Eau distillée 200ml.

Mode d'emploi

Préparation de milieu MEA

Préparé 6.84g de poudre MEA dans 200ml d'eau distillée, chauffer et bien mélanger avec l'agitation après cela, nous remplissons un seul flacon de 250ml avec ce mélange obtenu, les milieux seront portés à une cocote minute pour une stérilisation à température 120°C pendant 20min pour éviter la contamination bactérienne, après solidification du milieu on va couler aussi 2 boîtes de pétri.

Annexe 3

Composition de milieu Czapex :

- NaNO_3 :3g
- MgSO_4 :0,5g
- KCl : 0,5g
- KH_2PO_4 :1,5g
- FeSO_4 :0,01g