

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I
UFR de PHARMACIE

ANNÉE 1994

TITRE DE LA THÈSE

Dégradation du pentachlorophénol par les micromycètes.
Etude particulière des Deutéromycètes.

présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER GRENOBLE I
(arrêté du 30 mars 1992).

Spécialité : " Sciences Pharmaceutiques "

par

Adama Makoum TOE

Thèse soutenue publiquement le 21 Octobre 1994

devant :

Jean VILLARD, Professeur Université Claude Bernard, Lyon 1, rapporteur, **Président du jury**
Georges-André THIAULT, Docteur d'État, Directeur Scientifique PCAS, rapporteur
Françoise SEIGLE-MURANDI, Professeur Université Joseph Fourier, codirecteur de thèse
Jean-Louis BENOIT-GUYOD, Professeur Université Joseph Fourier, codirecteur de thèse
Michèle NÈGRE, Ingénieur de Recherches, Université de Turin

"Il faut qu'**IL** croisse et que je diminue"

Jean 3 : 30

DÉDICACE

A la mémoire de mes parents

A mon épouse

A mes enfants

Aux orphelins du monde entier

Aux générations futures

AVANT-PROPOS

Le présent mémoire est le fruit d'un travail pluridisciplinaire réalisé au sein du Groupe pour l'Étude du Devenir des Xénobiotiques dans l'Environnement (GEDEXE). Les laboratoires constituant ce groupe sont les suivants :

- A l'UFR de Pharmacie de Grenoble (Université J. Fourier) : Laboratoire de Botanique et Cryptogamie, Laboratoire de Biologie Cellulaire et Génétique, Laboratoire de Toxicologie et Écotoxicologie, Laboratoire de Chimie Analytique et de Bromatologie.
- A l'Université de Savoie à Chambéry : Laboratoire de Biochimie Appliquée.

Malgré l'encadrement étroit et l'aide dont j'ai bénéficié au niveau de ces structures, je reste seul responsable des imperfections du présent travail.

Le programme initial de cette thèse a été modifié suite à deux demandes :

- Celle du Ministre Burkinabè des Enseignements Secondaire, Supérieur et de la Recherche Scientifique en 1990 nous proposant d'envisager les études de toxicité et d'écotoxicité des pesticides employés au Burkina-Faso à travers le montage de laboratoires appropriés.

- Celle du Réseau Coton de la Conférence des Responsables de la Recherche Agronomique d'Afrique Francophone (CORAF). Cette institution en octobre 1991, sur la proposition du Burkina-Faso a retenu comme thème prioritaire de recherche les études de toxicité et d'écotoxicité des pesticides employés dans 13 pays d'Afrique Francophone. Ce thème de recherche novateur devrait être abordé à travers l'implantation au Burkina-Faso de Laboratoires Associés de Recherche en Phytopharmacie, en Écotoxicologie et en Toxicologie (LAPET) à vocation régionale. Il m'a été confié la conception du projet. Avec l'aide de mes 2 Directeurs de thèse, nous l'avons réalisé. Le projet LAPET figure en annexe 2. La CORAF est à la recherche de financements pour sa mise en oeuvre. Dans le souci d'être opérationnel dans l'exécution de ce projet, nous avons choisi pour cette thèse une méthodologie simple alliant efficacité et faible coût de revient, reproductible dans les conditions souvent difficiles des pays en voie de développement (faibles moyens matériels, potentiel scientifique limité...) L'utilisation des organochlorés et des herbicides phénoxy-acétiques dans les pays de la CORAF fait du pentachlorophénol un excellent modèle d'étude applicable à ce type de pesticides à risque.

REMERCIEMENTS

A l'issue de ce travail, je voudrais exprimer toute ma gratitude :

- A Monsieur le Professeur J.-L. BENOIT-GUYOD qui après m'avoir donné l'appétit de l'écotoxicologie par ses cours, m'a ensuite guidé et suivi tout au long du présent travail avec une patience et un dévouement hors du commun. Par ailleurs, son savoir faire en informatique m'a été d'un secours fort appréciable à chaque étape de cette thèse. Comment pourrais-je passer sous silence sa grande générosité et sa bienveillance qui ont facilité à la fois la venue et le séjour de ma famille en France ?

- A Madame le Professeur F. SEIGLE-MURANDI pour son encadrement, son savoir faire et l'esprit de recherche qu'elle m'a inculqué. Sa rigueur et sa fermeté ont fini par avoir raison de mes handicaps, de mes hésitations et de mes doutes. Par ses encouragements, elle m'a communiqué la motivation nécessaire et indispensable pendant les périodes de traversée de désert.

- A Madame le Professeur R. STEIMAN, pour son aide inestimable lors de la mise en place des essais et de leur conduite.

- A Mlle P. GUIRAUD et Monsieur S. KRIVOBOK tous deux Maîtres de Conférences. La première pour son concours et surtout pour le bénéfice que j'ai tiré de ses travaux sur les phénoloxydases extracellulaires (POx) et le second pour ses conseils et ses encouragements.

- A Mme L. SAGE, pour sa constante contribution, sa générosité dans la gestion du "patrimoine " et à Mme AZZIZ pour son aide appréciable.

- A l'ensemble du personnel du GEDEXE à Meylan pour son concours et son soutien durant 5 ans.

- A Monsieur le Professeur J. VILLARD pour avoir accepté à la fois les tâches de Président de Jury et de Rapporteur de la thèse.

- A Monsieur G. -A. THIAULT pour avoir accepté la tâche de Rapporteur de la thèse.

- A Madame NÈGRE qui a accepté de se déplacer pour examiner ce travail.

- A tous mes camarades étudiants sans exception et en particulier à : A. KHADRANI ; D. LIÈVREMONT ; B. MUNTALIF ; B. ONOCHIE-OKEKE ; P. RADIX ; M.-H. SICHÉ ; pour leur esprit d'équipe, leur aide et leur amitié, manifestés tout au long de ce travail.

J'exprime aussi toute ma gratitude à mes autorités de tutelle au BURKINA-FASO pour tout l'intérêt qu'elles ont porté à mes études. Je suis particulièrement redevable à :

- Monsieur Mouhoussine NACRO, Ministre des Enseignements Secondaire, Supérieur et de la Recherche Scientifique. Il a très vite compris la portée de mon travail et m'a exhorté à le continuer au Burkina-Faso à travers le montage d'un laboratoire destiné à étudier la toxicité et l'écotoxicité des pesticides à risque employés dans notre pays.

- Monsieur Michel SÉDOGO Directeur Général du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) et Monsieur Célestin P. BÉLEM Directeur de l'Institut d'Études et de Recherches Agricoles (IN.ERA) pour leurs encouragements, leur soutien de tous les instants et leur sollicitude sans cesse renouvelée à mon endroit.

ACTIONS DE GRÂCE

Je te rends grâces **SEIGNEUR** car **TU** m'as pris à ta charge depuis le sein maternel et **TU** m'as porté depuis ma naissance. Je suis trop petit pour toutes les grâces et pour toute la fidélité dont **TU** a usé envers ton serviteur. Qui suis-je **SEIGNEUR**, et qu'est-ce que ma maison pour que **TU** m'aies fait parvenir jusqu'ici ?

SOMMAIRE

	Publications, communications et affiches de Adama TOÉ	2
	Table des matières	4
	Abréviations utilisées	7
	Liste des figures	8
	Liste des tableaux	10
	Introduction générale	12
Chap.1	Mise au point de la méthodologie	22
Chap.2	Évaluation de la biodégradation du PCP par des micromycètes	46
Chap.3	Étude du système de dégradation du PCP par les micromycètes. Étude particulière des Deutéromycètes	82
Chap.4	Évolution de la toxicité en cours de dégradation	106
	Conclusion générale	118
	Références bibliographiques	122
	Annexes	133
	Index des auteurs	144
	Glossaire	148

PUBLICATIONS, COMMUNICATIONS ET AFFICHES

Publications sur le sujet de la thèse

- BENOIT-GUYOD J.-L., SEIGLE-MURANDI F., STEIMAN R., SAGE L. and TOÉ, A. Biodegradation of pentachlorophénol by Micromycetes. III Deutéromycetes, Environ. Tox. Water Quality., 1994, 9, 33-44.
- ONOCHIE-OKEKE B., TOÉ A., BENOIT-GUYOD J.-L., SEIGLE-MURANDI F. and STEIMAN R. Kinetic studies of PCP degradation by selected micromycetes. Proc. IX Simpos. Chim. Antiparas., Piacenza, 11-13 Oct. 1993, 451-460.
- SEIGLE-MURANDI F., TOÉ A., BENOIT-GUYOD J.-L., STEIMAN R. and KADRI M. Disappearance of pentachlorophenol with Deuteromycetes isolated from soil. Chemosphere, 1994 (accepté sous presse).
- STEIMAN R., BENOIT-GUYOD J.-L., SEIGLE-MURANDI F., SAGE L. and TOÉ A. Biodegradation of pentachlorophenol by Micromycetes. II. Yeasts, Ascomycetes and Basidiomycetes. Environ. Tox. Water Quality, 1994, 4, 9, 1-6.
- TOÉ A., KADRI M., STEIMAN R., BENOIT-GUYOD J.-L., SEIGLE-MURANDI F. Interactions entre fongicides et Deutéromycètes isolés des sols. Application au cas du PCP. CR du 22^o Congrès Groupe Français des Pesticides, Dijon, 19-20 Mai 1992, 81-87.
- TOÉ A., STEIMAN R., BENOIT-GUYOD J.-L., SEIGLE-MURANDI F., ANDRÉ Ch. et CHAFAI D. Mise au point d'une méthodologie pour la recherche de souches de micromycètes dégradant le Pentachlorophénol. CR du 20^o Congrès Groupe Français des Pesticides, Aiguebelette, 29-30 Mai 1990, 118-121.

Communications et affiches sur le sujet de la thèse

- SEIGLE-MURANDI F., ONOCHIE-OKEKE B., TOÉ A., STEIMAN R. and BENOIT-GUYOD J.-L. Kinetic studies of PCP degradation by selected micromycetes. IX Simpos. Chim. Antiparas., Piacenza, 11-13 Oct. 1993.
- SEIGLE-MURANDI F., ONOCHIE-OKEKE B., TOÉ A., STEIMAN R. and BENOIT-GUYOD J.-L., Mechanism of disappearance of pentachlorophenol with *Cunninghamella elegans* and *Calcarisporium arbuscula*. 1st SETAC World Congress, Lisbon, March 28-31, 1993.

- SEIGLE-MURANDI F., TOÉ A., BENOIT-GUYOD J.-L., STEIMAN R. and KADRI M. Disappearance of pentachlorophenol with Deuteromycetes isolated from soil. Joint meeting of SETAC Europe and Aquatic ecosystem Health and management society. 21-24 June 1992, Potsdam, Allemagne.
- TOÉ A., KADRI M., STEIMAN R., BENOIT-GUYOD J.-L., SEIGLE-MURANDI F. Interactions entre fongicides et Deutéromycètes isolés des sols. Application au cas du PCP. 22° Congrès Groupe Français des Pesticides, Dijon, 19-20 Mai 1992 (pub. 1992).
- TOÉ A., STEIMAN R., BENOIT-GUYOD J.-L., SEIGLE-MURANDI F., ANDRÉ Ch. et CHAFAI D. Mise au point d'une méthodologie pour la recherche de souches de micromycètes dégradant le pentachlorophénol. 20° Congrès Groupe Français des Pesticides, Aiguebelette, 29-30 Mai 1990, (pub. 1990).

Autres travaux (en cours)

- TOÉ, A. Possibilités de mise en place d'un programme d'intervention sur seuils contre les ravageurs du cotonnier au BURKINA-FASO (INERA, Institut de Recherches Agricoles).
- TOÉ, A., NIBOUCHE, S. Les ravageurs du cotonnier au BURKINA-FASO (INERA, Institut de Recherches Agricoles).
- TOÉ, A., DAKOUO, D. Arrière-effets des herbicides employés en culture cotonnière au BURKINA-FASO (INERA, Institut de Recherches Agricoles).

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	4
ABRÉVIATIONS UTILISÉES	7
LISTE DES FIGURES	8
LISTE DES TABLEAUX	10
INTRODUCTION GÉNÉRALE	12
Généralités sur le pentachlorophénol	15
Spectre d'action -problèmes toxicologiques et écotoxicologiques	15
Structure et caractéristiques physico-chimiques	16
Dégradation du PCP	17
Dégradation du PCP dans le sol	17
Dégradation du PCP dans l'eau	20
CHAPITRE 1. MISE AU POINT DE LA MÉTHODOLOGIE	22
1. 1. Introduction	24
1. 2. Matériel et méthodes	24
1. 2. 1. Microorganismes	24
1. 2. 2. Appareillage et produits utilisés	26
1. 2. 2. 1. Appareillage	26
1. 2. 2. 2. Produits utilisés	26
1. 2. 3. Conditions de culture	26
1. 2. 3. 1. Sélections de souches sur milieux solides	26
1. 2. 3. 2. Sélection de souches en milieu liquide GS	27
1. 2. 3. 3. Facteurs biotiques et abiotiques de la dégradation du PCP	27
1. 2. 3. 4. Évaluation de la consommation du PCP	29
- par mesure de la DO	30
- par CLHP	30
1. 3. Résultats et discussion	32
1. 3. 1. Sélection de micromycètes sur milieu solide	32
1. 3. 2. Consommation du PCP dans un milieu liquide synthétique	32
1. 3. 3. Variations de paramètres	33
1. 3. 4. Facteurs biotiques et abiotiques intervenant dans la disparition du PCP	35
1. 3. 5. Evaluation de la consommation du PCP	38
1. 3. 5. 1. Par mesure de la DO	38
1. 3. 5. 2. Par mesure de la DO et par dosage en CLHP	41
1. 4. Conclusion	45

CHAPITRE 2. ÉVALUATION DE LA BIODÉGRADATION DU PENTACHLOROPHÉNOL PAR LES MICROMYCÈTES 46

2. 1.	Introduction	48
2. 2.	Matériel et méthodes	49
2. 2. 1.	Microorganismes	49
2. 2. 2.	Appareillage et produits utilisés	49
2. 2. 3.	Conditions de culture	49
2. 2. 4.	Production de phénoloxydases	50
2. 3.	Résultats et discussion	51
2. 3. 1.	Ascomycètes, Basidiomycètes et Levures	52
2. 3. 2.	Deutéromycètes	58
2. 4.	Conclusion	80

CHAPITRE 3. ÉTUDE DU SYSTÈME DE DÉGRADATION DU PCP PAR LES MICROMYCÈTES. ÉTUDE PARTICULIÈRE DES DEUTÉROMYCÈTES 82

3. 1.	Introduction	84
3. 2.	Matériel et méthodes	85
3. 2. 1.	Microorganismes	85
3. 2. 2.	Appareillage et produits utilisés	85
3. 2. 3.	Conditions de culture et d'ensemencement	86
3. 2. 3. 1.	Ensemencement	86
3. 2. 3. 2.	Production de biomasse morte	86
3. 2. 3. 3.	Production de biomasse lyophilisée de <i>C. arbuscula</i>	86
3. 2. 4.	Extraction et dosage	86
3. 3.	Résultats et discussion	88
3. 3. 1.	Comparaison entre ensemencements massifs et homogénéisés	88
3. 3. 2.	Étude cinétique de la disparition du PCP	93
3. 3. 3.	Étude du mécanisme de la disparition du PCP	95
3. 3. 3. 1.	Chez des Deutéromycètes	95
3. 3. 3. 2.	Avec un Basidiomycète : <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	99
3. 3. 3. 3.	Avec un Zygomycète : <i>Rhizopus arrhizus</i>	99
3. 3. 3. 4.	Comparaisons	103
3. 4.	Conclusion	105

CHAPITRE 4. ÉVOLUTION DE LA TOXICITÉ EN COURS DE DÉGRADATION 106

4. 1.	Introduction	108
4. 2.	Matériel et méthodes	109
4. 2. 1.	Microorganismes	109
4. 2. 2.	Conditions de culture et d'ensemencement	109
4. 2. 3.	Matériel biologique pour l'évaluation de la toxicité	110
4. 2. 4.	Appareillage et produits utilisés	111

4. 3.	Résultats et discussion	111
4. 4.	Conclusion	117
	CONCLUSION GÉNÉRALE	118
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	122
	ANNEXES	133
	Annexe 1.	134
	Annexe 2	136
	INDEX DES AUTEURS	144
	GLOSSAIRE	148

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

AT : Acide tartrique (milieu AT)

CI 50 : Concentrations inhibitrices 50

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

CMPG : Collection Mycologique de la Faculté de Pharmacie de Grenoble

CORAF : Conférence des Responsables de la Recherche Agronomique d'Afrique

DO : Densité optique

FIG. : Figure

GEDEXE : Groupe pour l'Étude du Devenir des Xénobiotiques dans l'Environnement

GS : GAIZY et SLONIMSKI (milieu GS)

LAPET : Laboratoires Associés de Phytopharmacie, d'Écotoxicologie et de Toxicologie

MEA : Milieu à l'extrait de Malt

PCA : Pentachloroanisol

PCP : Pentachlorophénol sous forme phénolique

PCPNa : Pentachlorophénol sous forme de sel de sodium

PDA : Potato Dextrose Agar

POx : Phénoloxydases extracellulaires

UFR : Unité de Formation et de Recherche

Tab. : Tableau

LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Formule développée plane du pentachlorophénol (PCP)
- Figure 2. Composition de la mycothèque CMPG
- Figure 3. Dispositif expérimental pour l'étude cinétique de la disparition du PCP
- Figure 4. Dispositif expérimental pour l'étude cinétique de la disparition du PCP
- Figure 5. Extraction et dosage du PCP en CLHP
- Figure 6. Influence de la quantité de glucose sur la disparition du PCP
- Figure 7. Influence du type d'agitation et du type d'inoculum sur la disparition du PCP
- Figure 8. Disparition du PCP à l'obscurité (a) et à la lumière (b)
- Figure 9. Spectre d'absorption du PCP et du PCPNa
- Figure 10. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L^{-1}) de 5 souches de micromycètes par spectrophotométrie
- Figure 11. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L^{-1}) de 10 souches de micromycètes par mesure de la DO à 320 nm et par CLHP
- Figure 12. Répartition taxonomique des souches utilisées
- Figure 13. Variation du taux de disparition du PCP avec des isolats d'*A. parasiticus*
- Figure 14. Variation du taux de disparition du PCP avec des isolats de *P. aurantiogriseum*
- Figure 15. Répartition des classes de disparition du PCP chez les Deutéromycètes
- Figure 16. Extraction du PCP par acétate d'éthyle et méthanol suivi du dosage en CLHP
- Figure 17. Cinétique de disparition du PCP sur 24 heures avec 2 souches de Deutéromycètes
- Figure 18. Cinétique de disparition du PCP sur 120 heures avec 2 souches de Deutéromycètes
- Figure 19. Disparition du PCP en présence de biomasse vivante de *C. arbuscula*

- Figure 20. Disparition du PCP en présence de biomasse morte de *C. arbuscula*
- Figure 21. Disparition du PCP en présence de biomasse lyophilisée de *C. arbuscula*
- Figure 22. Disparition du PCP en présence de *C. arbuscula*. Comparaison des résultats obtenus avec les différents types de biomasse
- Figure 23. Disparition du PCP en présence de biomasse vivante de *R. arrhizus*
- Figure 24. Disparition du PCP en présence de biomasse morte de *R. arrhizus*
- Figure 25. Disparition du PCP en présence de biomasse lyophilisée de *R. arrhizus*
- Figure 26. Disparition du PCP en présence de *R. arrhizus*. Comparaison des résultats obtenus avec les différents types de biomasse
- Figure 27. Voies de dégradation du PCP par les micromycètes

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques du PCP
- Tableau 2. Souches fongiques cultivées sur pentachlorophénol. Résultats de la littérature
- Tableau 3. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L^{-1}) de 5 souches de micromycètes dans 2 milieux de culture par mesure de la DO à 320 nm
- Tableau 4. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L^{-1}) de 10 souches de micromycètes par mesure de la DO à 320 nm et par CLHP
- Tableau 5. Disparition du PCP et production de POx par les Ascomycètes
- Tableau 6. Disparition du PCP et production de POx par les Basidiomycètes
- Tableau 7. Disparition du PCP et production de POx par les Levures
- Tableau 8. Taux moyens de disparition du PCP par classe de micromycètes
- Tableau 9. Disparition du PCP et production de POx par les Agonomycètes et les Cœlomycètes
- Tableau 10a. Disparition du PCP et production de POx par les Dématiacées
- Tableau 10b. Variation du taux de disparition du PCP chez quelques Dématiacées
- Tableau 11a. Disparition du PCP et production de POx par les Mucédinacées
- Tableau 11b. Variation du taux de disparition du PCP chez quelques Mucédinacées
- Tableau 12a. Disparition du PCP et production de POx par *Aspergillus* et *Penicillium* (Mucédinacées).
- Tableau 12b. Variation du taux de disparition du PCP chez quelques souches de *Penicillium*
- Tableau 13. Disparition du PCP et production de POx par les Tuberculariales
- Tableau 14. Évaluation de la disparition du PCP par 990 souches de micromycètes. Nombre de souches par tranche de pourcentage de dégradation
- Tableau 15. Nombre de souches constituant chacune des classes de disparition du PCP
- Tableau 16. Souches de Deutéromycètes utilisées

- Tableau 17. Comparaison entre ensemencements massif et homogénéisé avec 10 souches de Deutéromycètes
- 17a. Résultats avec *E. purpurascens*
 - 17b. Résultats avec *C. arbuscula* (souche 1)
 - 17c. Résultats avec *Coniothyrium sp* (souche 1)
 - 17d. Résultats avec *Coniothyrium sp* (souche 2)
 - 17e. Résultats avec *O. echinulatum*
 - 17f. Résultats avec *C. arbuscula* (souche 2)
 - 17g. Résultats avec *A. parasiticus*.
 - 17h. Résultats avec *A. roseum*
 - 17i. Résultats avec *P. cyaneum*
 - 17j. Résultats avec *M. gramineum*
- Tableau 18. Disparition du PCP avec la biomasse vivante de *C. arbuscula*
- Tableau 19. Disparition du PCP avec la biomasse morte de *C. arbuscula*
- Tableau 20. Disparition du PCP avec la biomasse lyophilisée de *C. arbuscula*
- Tableau 21. Disparition du PCP avec la biomasse vivante de *R. arrhizus*
- Tableau 22. Disparition du PCP avec la biomasse morte de *R. arrhizus*
- Tableau 23. Disparition du PCP avec la biomasse lyophilisée de *R. arrhizus*
- Tableau 24. Micromycètes utilisés avec leur taux de disparition du PCP obtenu lors du screening
- Tableau 25. Taux d'*Artemia salina* immobilisées par des dilutions de milieu de culture contenant du PCP (mg L^{-1}) en présence de différentes souches de micromycètes
- Tableau 26. Évolution de la toxicité sur *Artemia salina* des milieux de culture contenant du PCP (mg L^{-1}) en présence de différentes souches de micromycètes : CI_{50} obtenus aux temps 0 h, 48 h et 120 h
- Tableau 27. Taux d'*Artemia salina* immobilisés par des dilutions de milieu de culture de *P. cyaneum* en l'absence de PCPNa

INTRODUCTION GÉNÉRALE

"L'AVEUGLE TÊMÉRITÉ ET LA PEUR OUTRÉE PRODUISENT LES MÊMES EFFETS QUAND LE PÉRIL N'EST PAS CONNU". CARDINAL DE RETZ

Gérer la peur ou gérer les risques ? La question est d'actualité en cette fin de siècle de grande révolution industrielle où la chimie a joué un rôle de premier plan dans l'accroissement spectaculaire de la puissance technologique de l'homme. Mais elle a hélas introduit des substances nuisibles dans l'environnement avec des effets dommageables sur la santé humaine, la production agricole et les écosystèmes naturels. Ainsi l'industrie chimique moderne et l'agriculture moderne sont respectivement les seconde et troisième sources de pollution après la production d'énergie (RAMADE, 1977). Si l'accroissement de la production agricole est en partie imputable à l'emploi des molécules organiques de synthèse qui limitent la prolifération des ennemis des plantes (TISSUT *et al.*, 1979), c'est aussi dans ce domaine que sont apparus les premiers "effets pervers" de l'industrie chimique. La lutte chimique a révélé des inconvénients graves et a conduit à des impasses dues notamment à :

- L'apparition de lignées résistantes à des doses de plus en plus fortes de produits (BUELOW et MUELLER, 1988).
- La prolifération de certains ravageurs due à la suppression de leurs ennemis naturels (DELORME *et al.*, 1987).
- L'accroissement de la nuisibilité d'espèces considérées auparavant comme étant sans importance économique (FOURNIER, 1988).
- Aux graves problèmes de pollution liés à la persistance de produits ou de résidus toxiques (FOURNIER et BONDEREF, 1983). Sur ce dernier point les pesticides organochlorés : DDT, lindane, chlorophénols (dont le pentachlorophénol)... se sont révélés les plus dangereux et ce à cause de leur forte tendance à la bioaccumulation et à la biomagnification (PAASIRVITA *et al.*, 1980). Un autre problème majeur vient noircir ce tableau en ce qui concerne les chlorophénols lors de leur fabrication : celui de la production de dimères toxiques telles que les dibenzo-p-dioxines, dibenzofurannes, diphenyl-éthers, chlorophényl-phénols (SCHWETZ *et al.*, 1974). A ce sujet, on peut rappeler l'accident de SEVESO en Italie en 1976, qui s'est produit lors de la fabrication du 2,4,5-trichlorophénol par hydrolyse alcaline du tétrachlorobenzène qui a donné naissance à des dioxines.

Il est également important de souligner que les herbicides phénoxy-acétiques donnent par dégradation qu'elle soit biologique ou physico-chimique les chlorophénols correspondants (BENOIT-GUYOD *et al.*, 1984a). En Finlande ils ont représenté 24 % de la pollution par les chlorophénols (PAASIVIRTA, 1978).

Parmi les chlorophénols, le pentachlorophénol (PCP) est de loin le plus dangereux. Il présente de ce fait un intérêt certain pour une étude de biodégradabilité et de traitabilité des pesticides à grand risque, aussi nous l'avons choisi pour notre travail.

Nous nourrissons aussi l'espoir que les connaissances acquises nous aideront à aborder les études de toxicité et d'écotoxicité des pesticides employées en Afrique de l'Ouest Francophone (voir à cet effet le projet LAPET annexe 2). Dans cette zone de l'Afrique, les organochlorés et les herbicides phénoxy-acétiques sont encore largement utilisés. Les organochlorés le sont essentiellement dans la lutte contre les vecteurs de maladie et les acridiens. Selon SMITH et LOSSEV (1985) cités par RAPPE (1992) 103 pays en voie de développement ont utilisé 65 000 tonnes de produits (dont 45 % de DDT et 28 % de HCH) par an de 1981 à 1984. Contre le péril acridien au Sahel et au Maghreb de 1987 à 1988 les 2 produits les plus employés ont été les organochlorés (dieldrine et lindane) (RAPPE, 1992).

Quant à l'utilisation des herbicides phénoxy-acétiques, si le 2,4,5-T jadis abondamment utilisé n'est plus officiellement commercialisé, le 2,4-D l'est en culture irriguée (riziculture, culture de canne à sucre) et en culture pluviale (sur maïs, riz et sorgho) (CLUZEAU, 1993 ; THOMSON, 1993).

Le PCP en tant qu'organochloré et en tant que donneur potentiel de certains produits de dégradation communs avec les herbicides phénoxy-acétiques constitue à cet égard pour nous la "cible appropriée".

Généralités sur le pentachlorophénol

Spectre d'action, problèmes toxicologiques et écotoxicologiques

Le pentachlorophénol sous forme phénolique (PCP) ou sous forme de sel de sodium (PCPNa) a été abondamment utilisé comme fongicide dans la protection du bois et des produits dérivés du bois. Il possède également des propriétés herbicides, défoliantes, insecticides, molluscides, algicides et bactéricides (BEVENUE et BECKMAN, 1967 ; KAUFMAN, 1978 ; AHLBORG et THUNBERG, 1980 ; PIGNATELLO *et al.*, 1983). A cause de ce large spectre d'action et de son faible prix de revient, des quantités importantes de PCP ont été employées (5.10^4 tonnes/an aux USA)(CROSBY, 1981). Comme conséquence de cette abondante utilisation et de sa lente biodégradation dans l'environnement (RAO, 1978 ; CROSBY, 1981 ; ROCHKIND *et al.*, 1986), le PCP a été détecté dans les tissus humains (DOUGHERTY, 1978) et animaux (PARKER *et al.*, 1980). De nombreux écosystèmes terrestres et aquatiques sont aussi contaminés (PAASIVIRTA *et al.*, 1983 ; NIIMI et CHO, 1983 ; PIGNATELLO *et al.*, 1985).

Ainsi divers problèmes toxicologiques et écotoxicologiques engendrés par la fabrication et l'emploi du PCP sont apparus. Ce xénobiotique et certains de ses produits de dégradation inhibent la phosphorylation oxydative et leur toxicité n'est pas limitée à quelques espèces (CSERJESI, 1967). Les chlorophénols dans leur ensemble sont considérés comme des substances hautement toxiques (DOJLIDO, 1979). Cette toxicité a été mise en évidence sur le poisson : *Lebistes reticulatus*, sur crustacé : *Daphnia magna*. Certains métabolites du PCP obtenus par dégradation bactérienne au laboratoire se sont révélés toxiques pour les embryons et les larves du poisson Zèbre : *Brachydanio rerio* (NEILSON *et al.*, 1984). Lors d'études d'intoxications chroniques sur rats, bien qu'on n'ait pas observé une fréquence accrue des cancers (SCHWETZ *et al.*, 1978 ; WAGNER, 1983) on a néanmoins relevé des signes d'embryotoxicité et de fœtotoxicité. Chez l'homme l'intoxication aiguë, très occasionnelle entraîne la mort par arrêt cardiaque (CHAPMAN et ROBSON, 1965). Quant à l'intoxication chronique elle provoque une atteinte pulmonaire, des conjonctivites, des dermatites, des désordres dans le métabolisme des porphyrines, des corps gras, des hydrates de carbone ainsi que des lésions neurologiques (BAADER et BAUER, 1951 ; JIRASEK *et al.*, 1976).

Structure et caractéristiques physico-chimiques

Le PCP est un pesticide organochloré synthétisé au 19^{ème} siècle. Les nombreux problèmes toxicologiques et écotoxicologiques ci-dessus mentionnés sont dus *pro parte* à la structure (Formule Fig. 1) et aux caractéristiques physico-chimiques du PCP (Tab. 1).

Le nombre d'atomes de chlore élevé dans la molécule est une des raisons principales. Il est maintenant prouvé que plus un xénobiotique possède d'atomes de chlore, plus difficile sera sa biodégradation avec son corollaire, l'accumulation dans les chaînes trophiques et une persistance accrue dans l'environnement (LIU *et al.*, 1982).

Les propriétés physiques quant à elles aussi jouent un rôle clef dans le devenir de la molécule. Elles déterminent notamment sa mobilité dans l'air ou l'eau, sa capacité à être plus ou moins adsorbée. Si le PCP peut être considéré comme relativement volatil à température ambiante, son sel de sodium ne l'est pas. Le PCP est soluble dans la plupart des solvants organiques mais peu dans l'eau. A pH 2,7, seulement 1% du PCP est ionisé tandis qu'à 6,7, pH de la plupart des eaux naturelles, il est ionisé à 99%. Dans l'eau de mer (pH 8,1) la forme non ionique de PCP existe seulement à raison de 0,1%.

Le spectre d'absorption du PCP dépend aussi du pH. Son maximum se situe vers 300 nm dans les solvants organiques ou à pH 5. En solution alcaline (pH supérieur à 10) son sel de sodium présente un maximum à 248 nm et un à 323 nm, tandis qu'à pH 7,3 (99% sous forme ionique) le maximum se trouve à 320 nm (BEVENUE et BECKMAN, 1967 ; WONG et CROSBY, 1981).

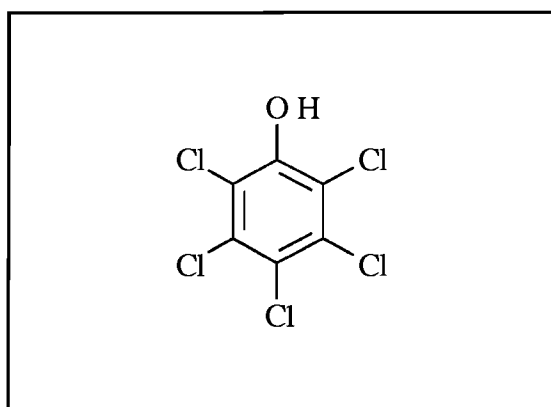


Figure 1. Formule développée plane du pentachlorophénol (PCP).

Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques du PCP.

masse moléculaire	266,34 (b)
point de fusion	190-191°C
point d'ébullition (754 mmHg)	309-310°C
densité (d 422)	1,978
tension de vapeur	1,6. 10 ⁻⁴ mmHg (25°C) 1,2. 10 ⁻³ mmHg (100°C)
pKa	5,3
solubilité dans l'eau (selon le pH)	20 à 80 mg L ⁻¹
solubilité dans le méthanol à 20-30°C	570 à 650 g L ⁻¹
solubilité du sel de sodium dans l'eau	33 g/100 g
coefficient de partage octanol-eau	6400 (c)
réfraction moléculaire	53,5

Dégradation du PCP

Comme tout xénobiotique, le PCP se dégrade sous l'influence de divers processus : chimiques, physico-chimiques et microbiologiques. Des méthodes analytiques employant la spectrométrie de masse, couplée ou non à la chromatographie gaz-liquide, fournissent des identifications précises concernant les impuretés ou métabolites éventuels du PCP (DOUGHERTY et HETT, 1978). La dégradation du PCP a été beaucoup étudiée dans les compartiments sol et eau de l'environnement.

Dégradation du PCP dans le sol

La dégradation du PCP dépend largement du type de sol. Il se dégrade plus facilement dans un sol submergé ou anaérobie que dans un sol humide aérobie (KAUFMAN, 1978). Ce phénomène serait dû au fait que durant l'incubation aérobie d'un sol, les résidus liés à la matière organique sont concentrés dans la fraction d'acide humique alors que l'incubation anaérobie produit une même distribution de résidus parmi toutes les fractions organiques (BOLLAG et LOLL, 1983). Les résidus seraient plus liés à l'acide humique dans un sol aérobie que dans un sol anaérobie. D'autres travaux tendent à montrer que les microorganismes anaérobies offriraient une meilleure aptitude à la dégradation que les microorganismes aérobies (LEISINGER, 1983).

La dégradation du PCP dans les conditions anaérobies serait accélérée par les hautes températures. Le genre *Flavobacterium* est capable de supprimer le PCP du sol dans une fourchette de températures comprise entre 24 et 35°C (CRAWFORD et MOHN, 1985).

La quantité et la qualité de la matière organique affectent la persistance du PCP dans le sol. Dans un sol où la minéralisation de la matière organique est totale, la dégradation du PCP est plus rapide que dans un sol où elle l'est moins (IDE *et al.*, 1972).

La dégradation du PCP dans le sol est aussi liée à la présence de microorganismes : champignons, bactéries (WATANABE, 1977). Il est considéré comme un composé particulièrement résistant à la dégradation par ces derniers et son activité toxique sur eux est bien connue. Plusieurs travaux font néanmoins état de la dégradation du PCP par des bactéries (KLECKA et GIBSON, 1981 ; SUZUKI, 1977 ; EDGEHILL et FINN, 1982 ; NEILSON *et al.*, 1983 ; ALLARD *et al.*, 1985 ; CRAWFORD et MOHN, 1985 ; SABER et CRAWFORD, 1985 ; APAJALAHTI *et al.*, 1986). Les bactéries intervenant dans cette biodégradation appartiennent aux genres : *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* et *Rhodococcus*.

Bien que le PCP ait été initialement utilisé comme fongicide, sa métabolisation par les micromycètes a été peu étudiée et concerne seulement quelques genres appartenant aux Basidiomycètes et aux Deuteromycètes (Tab. 2).

Tableau 2. Souches fongiques cultivées sur pentachlorophénol. Résultats de la littérature.

Espèces :	Concentration essayée (mg/l)	Dégradation	Référence :
<i>Cephaloascus fragans</i>	7	non	Cserjesi, 1967.
<i>Ceratocystis pilifera</i>	4	non	Cserjesi, 1967.
<i>Chætomium globosum</i>	18	non	Cserjesi, 1967.
<i>Fusarium sp.</i>	20	75% (a)	Kwasniewska, 1981.
<i>Graphium sp.</i>	4 et 8	non	Cserjesi, 1967.
<i>Mycena avenacea</i>	100	88,5%	Kremer <i>et al.</i> , 1992
<i>Penicillium sp.</i>	4	non	Cserjesi, 1967.
<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	1	50%	Mileski <i>et al.</i> , 1988
<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	10	42%	Mileski <i>et al.</i> , 1988
<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	100	22%	Mileski <i>et al.</i> , 1988
<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	500	7%	Mileski <i>et al.</i> , 1988
<i>Phanerochæte sordida</i>	250-400 µg/g de sol	88-91%	Lamar et Dietrich, 1990.
<i>Rhizoctonia praticola</i>	non donnée	(b)	Bollag et Loll, 1983
<i>Rhodococcus chlorophenolicus</i>			Apajalahti <i>et al.</i> , 1986
<i>Trametes versicolor</i>	non donnée	(c)	Lyr, 1962 Konishi et Inoue, 1972.
<i>Trichoderma harzianum</i>	7	65%	Cserjesi, 1967.
<i>Trichoderma harzianum</i> (autre souche)	10	35%	Cserjesi, 1967.
<i>Trichoderma sp.</i>	non donnée	oui	Duncan et Deverall, 1964.
<i>Trichoderma virgatum</i>	7	40%	Cserjesi, 1967.
<i>Trichoderma virgatum</i> (autre souche)	10	95%	Cserjesi, 1967.
<i>Trichoderma virgatum</i> (autre souche)	10	75%	Cserjesi et Johnson, 1972.
<i>Trichoderma viride</i>	10	95%	Cserjesi, 1967.
Association de : <i>Aspergillus sydowii</i> , <i>Penicillium sp.</i> et <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	20	50%	Curtis <i>et al.</i> , 1972.

(a) Dégradation sous l'action de la tyrosinase.

(b) Incorporation dans les acides humiques sous l'action de la laccase.

(c) Dégradation sous l'action de la laccase.

Ces dernières années, une étude détaillée portant sur le potentiel de biodégradation du PCP par le champignon de la pourriture blanche (*P. chrysosporium*) a été entreprise (MILESKI *et al.*, 1988 ; LAMAR *et al.*, 1990 ; LAMAR et DIETRICH, 1990 ; LIN *et al.*, 1990). Plus récemment des études ont porté sur *Mycena avenacea* (KREMER *et al.*, 1992). La première voie de la métabolisation du PCP par les microorganismes est sa métabolisation en pentachloroanisole (CSERJESI *et al.*, 1972). Les autres voies sont : la déhalogénéation réductive, l'hydroxylation et l'ouverture du cycle (KAUFMAN, 1978 ; ENGELHARDT *et al.*, 1986) .

Dégradation du PCP dans l'eau

Dans un cours d'eau continuellement contaminé par le PCP, la photolyse du PCP à la surface de l'eau est le premier mécanisme de dégradation avant que la microflore aquatique ne prenne la relève (PIGNATELLO *et al.*, 1983). Cette photolyse diminue avec la profondeur à cause de l'atténuation de la lumière. Selon les conditions d'ensoleillement, 5 à 28% de la concentration initiale en PCP sont détruits par photolyse. Le PCP subit une déhalogénéation afin de donner les isomères tétra, tri, ou dichlorophénols (HAMADMAD, 1967).

Sous l'effet de la lumière solaire, le PCP et ses sels en solution aqueuse voient les atomes de chlore déplacés par des groupes hydroxyles. Il en résulte des molécules telles que tétrachlorohydroquinone, tétrachlorocatéchol et tétachlororésorcinol facilement oxydées à l'air en quinones comme le chloranil, déchloré à son tour ultérieurement. Les quinones formées subissent alors une dégradation en acide dichloromaléique jusqu'au dioxyde de carbone et eau après quelques jours (WONG et CROSBY, 1981). Les solutions aqueuses de PCP absorbent fortement dans la région des 320 nm et peuvent donc absorber des photons énergétiques dans l'UV. HIATT *et al.*, (1960) ainsi que MITCHELL (1961) mentionnent les premiers la photodécomposition tandis que KUWAHARA *et al.*, (1966a et b) isolent plusieurs produits après irradiation d'une solution aqueuse à 2% de pentachlorophénate de sodium. Par ailleurs une basse concentration en O₂ accroît la persistance du PCP (BOYLE *et al.*, 1980).

Comment donc concilier de telles nécessités d'utilisation (spectre d'action large, efficacité sur cible visée, faible prix de revient) et les risques encourus en ce qui concerne le PCP ?

L'écotoxicologie permet d'évaluer ces risques et de les gérer en proposant dans quelles conditions un tel produit potentiellement dangereux mais néanmoins utile voire indispensable peut être employé avec le minimum de risques pour l'homme et son

environnement.

L'écotoxicologie cherche aussi à réparer les torts qui ont été faits à l'environnement par un mauvais usage de l'arme chimique. Dans ce but, elle fait appel aux méthodes d'études de la biodégradabilité et de la traitabilité des substances. Notre travail se situe dans ce contexte et porte sur l'évaluation de la biodégradation du PCP par des micromycètes en vue d'éventuelles dépollutions *in situ* et du traitement d'effluents en réacteur. Il comporte les principaux axes suivants :

- Une introduction donnant quelques généralités sur le pentachlorophénol et les problèmes qu'il engendre.
- Des essais préliminaires en vue de mettre au point une méthodologie appropriée à l'évaluation de la biodégradation.
- L'évaluation de la biodégradation de souches de micromycètes en vue d'une sélection de souches performantes.
- Une étude du système de dégradation du PCP par les micromycètes. Étude particulière de quelques souches performantes de Deutéromycètes.
- Une étude de l'évolution de la toxicité en cours de dégradation.
- Enfin une discussion et une ouverture ayant valeur de conclusion.

Puisse ce travail contribuer à réparer les torts qui ont été faits à l'environnement par un mauvais usage de l'arme chimique !

CHAPITRE 1

MISE AU POINT DE LA
MÉTHODOLOGIE

- 1. 1. INTRODUCTION

- 1. 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES
 - 1. 2. 1. Microorganismes
 - 1. 2. 2. Appareillage et produits utilisés
 - 1. 2. 1. 1. Appareillage
 - 1. 2. 2. 2. Produits utilisés
 - 1. 2. 3. Conditions de culture
 - 1. 2. 3. 1. Sélections de souches sur milieux solides
 - 1. 2. 3. 2. Sélection de souches en milieu liquide GS
 - 1. 2. 3. 3. Facteurs biotiques et abiotiques de la dégradation du PCP
 - 1. 2. 3. 4. Évaluation de la consommation du PCP
 - par mesure de la DO
 - par CLHP

- 1. 3. RESULTATS ET DISCUSSION
 - 1. 3. 1. Sélection de micromycètes sur milieu solide
 - 1. 3. 2. Consommation du PCP dans un milieu liquide synthétique
 - 1. 3. 3. Variations de paramètres
 - 1. 3. 4. Facteurs biotiques et abiotiques intervenant dans la disparition du PCP
 - 1. 3. 5. Evaluation de la consommation du PCP
 - 1. 3. 5. 1. Par mesure de la DO
 - 1. 3. 5. 2. Par mesure de la DO et par dosage par CLHP

- 1. 4. CONCLUSION

1. 1. INTRODUCTION

La recherche de souches de micromycètes dégradant le PCP a nécessité la réalisation d'études préliminaires en vue de définir une méthodologie appropriée permettant de bien évaluer la biodégradation.

Ces études préliminaires ont comporté :

- Une étude de sélection de souches sur milieux solides.
- Une étude de sélection de souches en milieu liquide.
- Une étude de variation de paramètres.
- Une étude des facteurs abiotiques et biotiques intervenant dans la dégradation du PCP.
- Une évaluation de la consommation du PCP par des souches de micromycètes sélectionnées.

Les informations fournies par ces essais préliminaires devraient permettre d'entreprendre l'évaluation de la biodégradation du PCP par 989 souches de micromycètes. Étant donnée l'importance de ce screening, la méthodologie mise au point devait allier rapidité, efficacité et simplicité d'exécution tout en étant d'un prix de revient faible.

1. 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. 2. 1. Microorganismes

Toutes les souches fongiques utilisées appartiennent à la mycothèque CMPG (Collection Mycologique de la Faculté de Pharmacie de Grenoble) qui comporte environ 1060 souches (Fig. 2) et qui appartiennent pour la plupart aux *Fungi imperfecti*. Elles ont été isolées de substrats divers (sol, bois, végétaux etc.) (SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1980 ; SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1981 ; DE HOOG *et al.*, 1985 ; GAMS *et al.*, 1990) et sont entretenues sur milieu gélosé (1,5%) à base d'extrait de malt (1,5%) (milieu MEA) ou sur milieu à base de pomme de terre : Potato Dextrose Agar (PDA) à + 4°C. Les précultures de réactivation des souches sont effectuées sur boîtes de Pétri sur ces mêmes milieux pendant 8 jours à + 24°C. L'inoculum est en général constitué de mycélium et de spores en ensemencement massif sauf dans le cas de variation de certains paramètres.

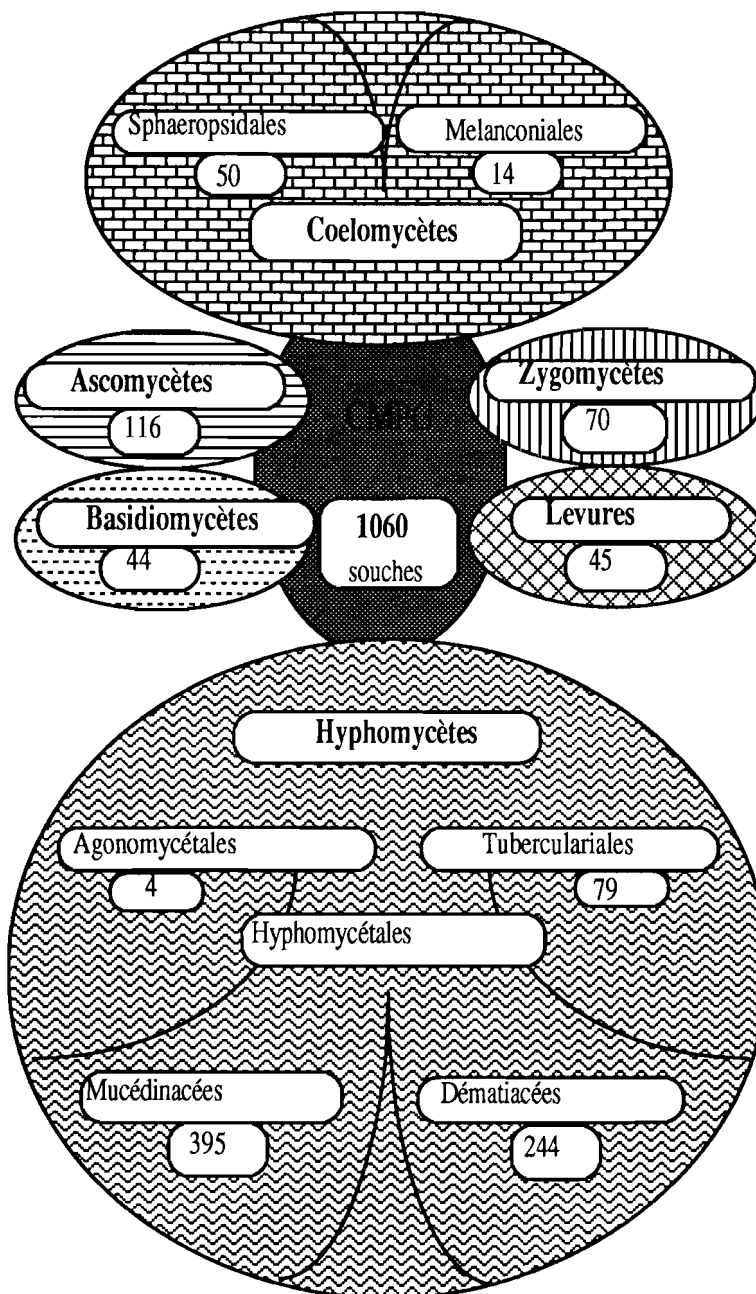


Figure 2. Composition de la mycothèque CMPG.

1. 2. 2. Appareillage et produits utilisés

1. 2. 2. 1. Appareillage

- Spectrophotomètre UV-Visible Philips SP7-500 Pye Unicam.
- Système de Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) Shimadzu équipé d'une pompe LCA, soit d'un injecteur manuel soit d'un injecteur automatique (Shimadzu SIL-9A) et d'un détecteur UV (SPD6A).

La colonne a un diamètre intérieur de 4 mm x 300 mm de longueur, remplie de μ -Bondapack C₁₈. Intégrateur Shimadzu CR 3A, Chromatopac.

1. 2. 2. 2. Produits utilisés

- PCPNa : il est fourni par JANSSEN (BEERSE, BELGIQUE).
- Les autres produits chimiques sont fournis par PROLABO (PARIS).
- Milieux de culture : les différents éléments des milieux de culture sont fournis par PROLABO à l'exclusion de l'agar qui provient de la Coopération Pharmaceutique Française (MELUN) et l'extrait de malt de DIFAL (Villefranche sur Saône).

1. 2. 3. Conditions de culture

1. 2. 3. 1. Sélections de souches sur milieux solides

Deux milieux solides différents (agar 1. 5%) sont utilisés pour les études préliminaires : le milieu à l'extrait de malt (MEA) (1. 5%) et le milieu synthétique de GALZY et SLONIMSKI (1957) (GS) à pH 4,5 sans glucose. Ces milieux sont stérilisés à l'autoclave pendant 20 mn à 121°C. Le PCP (100 g L⁻¹) est dissous dans l'éthanol, stérilisé par filtration à travers un filtre Millipore (taille des pores, 0,22 μ m) et ajouté au milieu de culture avant inoculation. Les premières études sont réalisées avec une concentration finale de PCP variant de 0,1 à 1 g L⁻¹. Puis 100 souches appartenant à différents groupes taxonomiques sont cultivées avec une concentration finale de 0,5 g L⁻¹.

1. 2. 3. 2. Sélection de souches en milieu liquide GS

Les souches sélectionnées après la culture sur milieu solide sont cultivées en milieu GS liquide à pH 4,5 avec du glucose à 5 et 10 g L⁻¹. Les cultures sont conduites dans des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml contenant 50 ml de milieu. Après stérilisation, le milieu est inoculé avec le mycélium et les spores en ensemencement massif ou avec les spores seuls. Selon les expériences réalisées les cultures sont agitées (180 tours/mn en agitation orbitale ou magnétique). L'ajout du PCP a lieu après 2 jours de culture à une concentration finale de 1 g L⁻¹. La consommation du PCP est évaluée après 8 jours de culture (soit 6 jours avec PCP). Toutes les répétitions de cette expérience comprennent aussi des témoins extraits au temps T₀ et des témoins photodégradation (T_{ph}). La température est de +24°C, l'intensité lumineuse de 1200 lux avec une photopériode de 12h par jour. Chaque essai est réalisé en triple exemplaire.

1. 2. 3. 3. Facteurs biotiques et abiotiques de la dégradation du PCP

La souche utilisée dans cet essai est *Phoma glomerata*. Cette souche a été choisie d'une part pour sa bonne consommation du PCP et d'autre part pour la bonne résistance de ses spores au PCP (MESPLONT, 1989 ; SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1990). L'inoculum est ensemencé dans des fioles d'Erlenmeyer contenant 25 ml de milieu GS avec 5g de glucose L⁻¹. Le glucose est nécessaire pour permettre un développement du champignon avant l'ajout du PCP. La culture est conduite à + 24° sous éclairage de 4800 lux (12h/24h) en condition agitée. L'ajout du PCP se fait à 100 mg L⁻¹ après 3 jours de culture. Les prélèvements sont faits aux temps : T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆, T₇, T₈ et T₁₂ par rapport à l'ajout du PCP.

Dispositif expérimental (Fig. 3).

Cet essai compare 2 facteurs principaux à 2 niveaux de facteurs secondaires chacun. En combinant facteurs principaux et secondaires on obtient les conditions opératoires suivantes :

- Abiotique lumière (AL), qui permet d'évaluer la dégradation abiotique due à la lumière et à l'oxydation par l'air.
- Abiotique obscurité (AO), qui permet d'évaluer la dégradation due à l'oxydation par l'air seul.
- Biotique lumière (BL), qui permet d'évaluer la dégradation du PCP par *Ph. glomerata* à la lumière.
- Biotique obscurité (BO), qui permet d'évaluer la dégradation du PCP par *Ph. glomerata* à l'obscurité.

Chaque traitement est constitué de 12 fioles d'Erlenmeyer. Les fioles des traitements AO et BO sont entourées de 2 couches de papier aluminium qui assurent une absence totale de lumière (Fig. 3b). Dans cet essai l'évaluation de la biodégradation est faite par CLHP après extraction à l'acétate d'éthyle.

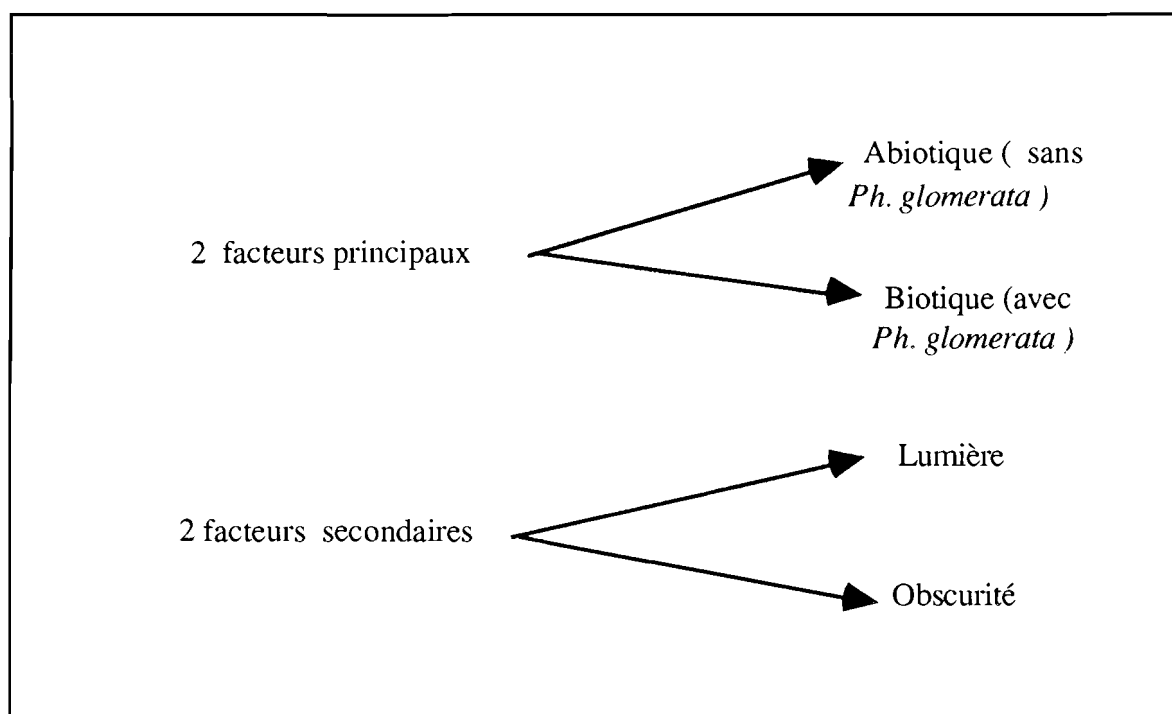


Figure 3. Dispositif expérimental pour l'étude en cinétique de la disparition du PCP dans différentes conditions.

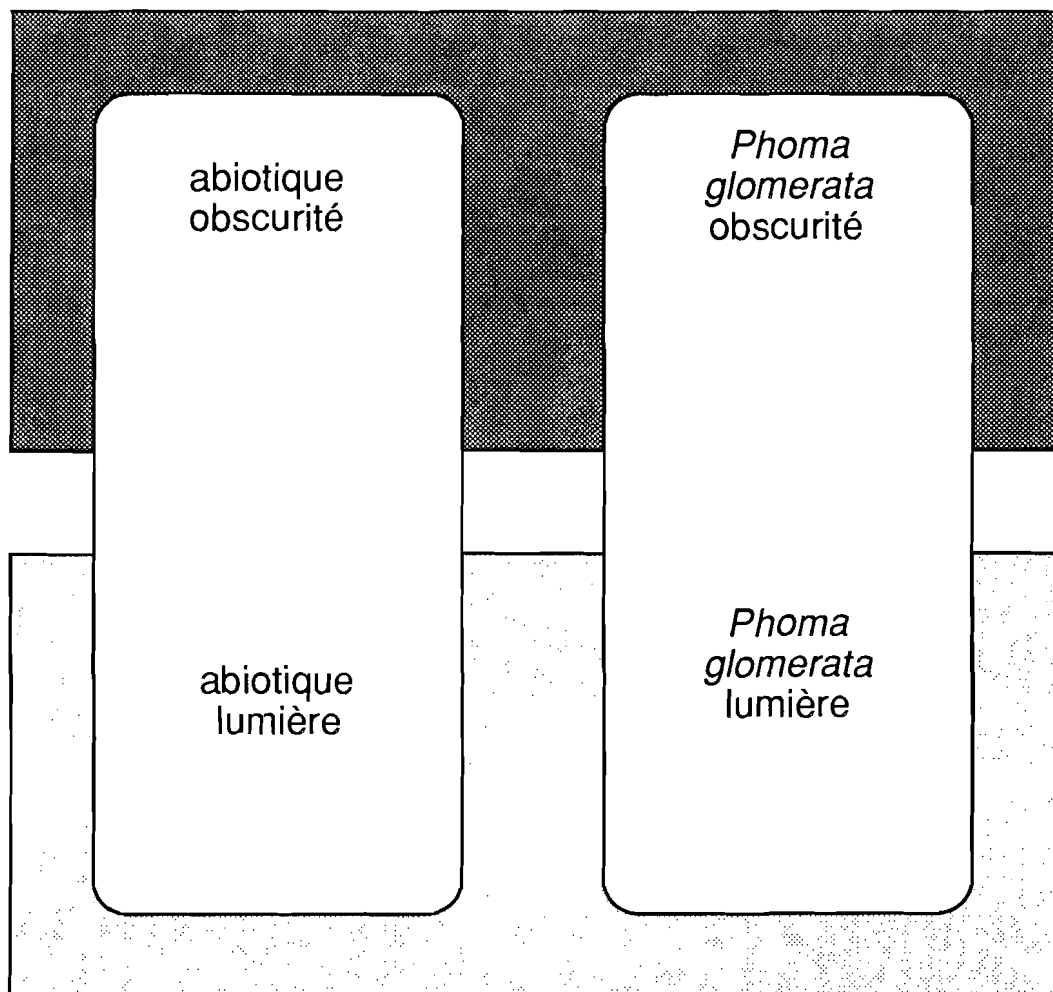


Figure 4. Dispositif expérimental pour l'étude en cinétique de la disparition du PCP.

1. 2. 3. 4. Evaluation de la consommation du PCP

Les cultures sont conduites à +24°C sous éclairage de 1200 lux (12h/24) en condition agitée (agitation orbitale 180 tours/mn). 2 milieux de culture sont utilisés :

- Le milieu de GALZY et SLONIMSKI (1957) à 5 g de glucose L⁻¹.
- Le milieu à l'acide tartrique (milieu AT) décrit par FENN et KIRK, 1979 ; ANDER *et al.*, 1980. Dans ce milieu, l'acide tartrique a remplacé l'acide diméthylsuccinique.

L'ajout du PCP sous forme de sel de sodium (PCPNa) se fait à 100 mg L⁻¹ après 3 jours de culture. Les précultures et les dosages sont effectués à J+3 et à J+7 après l'addition du PCPNa.

L'évaluation de la consommation du PCP est faite par mesure de DO et par CLHP.

- Mesure de la densité optique (DO) : à pH alcalin, le PCP a une absorbance caractéristique à 320 nm (STANLAKE et FINN, 1982). En alcalinisant progressivement la solution de PCPNa, nous avons déterminé que la DO ne variait plus à partir d'un pH ≥ 11. Chaque échantillon est donc alcalinisé jusqu'à pH ≥ 11 par ajout de NaOH et est ensuite filtré sur de la gaze pour éliminer le mycelium. Le filtrat est ensuite dilué au 1/2 dans de l'eau distillée. La lecture de la DO se fait à 320 nm. La concentration en PCP est obtenue en utilisant une droite d'étalonnage dont l'équation est déterminée ($r = 0,998$). Cette droite d'étalonnage exprime la concentration en fonction de la DO comme suit :

$$Y = ax + b$$

$$Y = \text{concentration}$$

$$x = \text{DO}$$

- Analyse par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).

Conditions chromatographiques

Phase mobile : méthanol-eau distillée (90-10) à pH 4,5 (par ajout d'acide phosphorique à 1%). Débit du solvant : 1 ml/mn. Longueur d'onde de détection : 230 nm. D'après l'observation des spectres UV des produits de dégradation potentiels du PCP la plupart présentent une forte absorption entre 200 et 240 nm.

Sensibilité : 0,02 DO

Purge périodique de la colonne par du méthanol à un débit de 1ml/mn.

Extraction

L'extraction du PCP du milieu de culture est faite par de l'acétate d'éthyle (3 fois) après acidification préalable avec du HCl 6N jusqu'à pH=2. Les 3 phases organiques sont

réunies et passent sur du Na_2SO_4 anhydre avant d'être évaporées sous courant d'azote. Le résidu sec est ensuite dissous dans du méthanol. Ce schéma d'extraction se trouve résumé sur la Fig. 5.

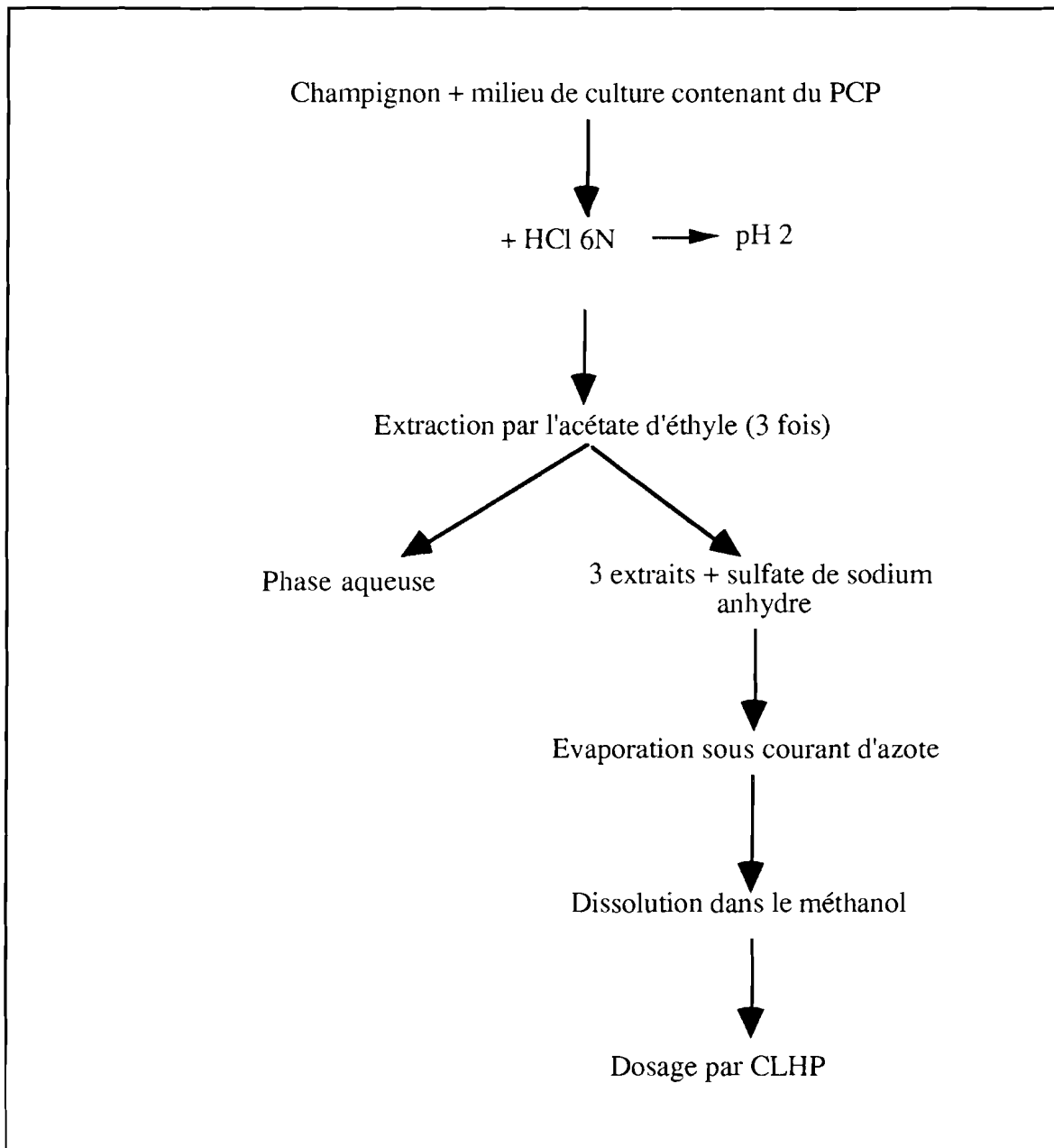


Figure 5. Extraction et dosage du PCP par CLHP.

Dosage

Nous déterminons la concentration du PCP restant dans le milieu de culture, par étalonnage interne. Le programme de l'intégrateur, sur la base du temps de rétention et de la surface de pic calcule la concentration restante en PCP pour les différents échantillons. La concentration en PCP est une fonction de la surface de pic comme suit :

$$y = ax + b$$

$$y = \text{concentration}$$

$$x = \text{surface de pic.}$$

Pour l'étude des métabolites dans le cas de l'essai d'évaluation de la biodégradation, nous avons aussi utilisé un échantillon étalon mélangé comprenant les principaux métabolites du PCP. La connaissance de leur temps de rétention permet d'avoir de premières indications quant à la nature des métabolites formés.

1. 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. 3. 1. Sélection de micromycètes sur milieu solide

Le but de ce travail était de trouver des souches de micromycètes capables de consommer le PCP. Les premières études sont conduites sur milieux solides avec 0, 5g L⁻¹ de PCP. L'essai de toxicité sur MEA montre que le PCP est très toxique puisque toutes les souches essayées sont inhibées hormis *Fusarium moniliforme*. L'essai de consommation avec le PCP comme seule source de carbone sur milieu GS solide confirme ces résultats. Cependant à pH acide, le PCP précipite dans le milieu de culture rendant blanchâtre et opaque la gélose et pour certaines souches il y a apparition d'une zone claire autour de l'inoculum ce qui signifie que le PCP a disparu de cette zone.

1. 3. 2. Consommation du PCP dans un milieu liquide synthétique

50 micromycètes sélectionnés sont cultivés dans le milieu liquide GS, avec 10 g L⁻¹ de glucose et 1 g L⁻¹ de PCP. La photodégradation atteint 25% après 6 jours de culture.

Dans le souci d'évaluer la biodégradation dont les champignons sont responsables, nous avons chaque fois pris en compte la photodégradation. Pour l'ensemble des souches le taux de biodégradation n'est pas élevé mais nous pensons qu'il a dû être influencé par la concentration du PCP (1 g L^{-1}) comme l'ont constaté MILESKI *et al.*, 1988. Ces auteurs ont montré que la biodégradation du PCP par *Phanerochaete chrysosporium* était de 50% avec une concentration de 1 mg L^{-1} alors qu'elle n'était que de 7% avec une concentration de 500 mg L^{-1} . Ceci peut être interprété comme la conséquence de la toxicité du PCP qui augmente quand la concentration augmente.

Nous avons obtenu les meilleurs résultats avec les Zygomycètes (taux de biodégradation moyen de 25%). Le PCP n'est pas dégradé par les levures (0,5%). Parmi les Deutéromycètes, les Tuberculariales dégradent peu (7%). Parmi les Mucédinacées, certaines souches sont très sensibles au PCP, d'autres dégradent de 10 à 15%. La même observation est faite avec les Dématiacées.

1. 3. 3. Variations de paramètres.

En nous basant sur les résultats précédents, 12 souches ont été sélectionnées pour étudier 3 paramètres :

- La concentration en glucose (5 à 10 g L^{-1}).
- Le type d'agitation (agitation magnétique ou orbitale).
- Le type d'inoculum (spores ou mycelium+spores).

Les figures 6 et 7 résument l'essentiel des résultats.

La meilleure dégradation est obtenue avec la concentration en glucose à 5 g L^{-1} (Fig. 6). Nous notons comme STEIMAN *et al.*, (1989) que l'accroissement de la concentration en glucose réprime la dégradation du PCP. La seconde observation concerne le type d'agitation des cultures. Une agitation de type orbital favorise la dégradation du PCP pour la moitié des souches (Fig. 7). La dernière observation concerne l'inoculum (Fig. 7). Les spores de la moitié des souches sont très sensibles au PCP et une culture de 48h avant l'ajout du PCP ne paraît pas assez longue pour le développement d'une biomasse capable de faire face à l'effet toxique du PCP. Cette observation a déjà été mentionnée par MILESKI *et al.*, 1988. Une concentration \geq à 4 mg L^{-1} empêche la croissance quand les cultures sont inoculées uniquement avec les spores de *P. chrysosporium*. Cette action toxique peut toutefois être contournée si on permet aux cultures de développer une

biomasse avant l'ajout du PCP. La différence entre les souches appartenant au même groupe taxonomique n'est pas claire. Les 4 souches appartenant aux Zygomycètes ont développé une biomasse et cependant seule *Syncephalastrum racemosum* a été inhibée quand les cultures ont été lancées avec les spores. Les mêmes observations ont été faites avec les Deutéromycètes. Quand les cultures sont inoculées avec les spores, le développement d'un amas mycélien semble nécessaire mais un autre facteur doit être élucidé pour expliquer les différences de sensibilité observées entre les souches.

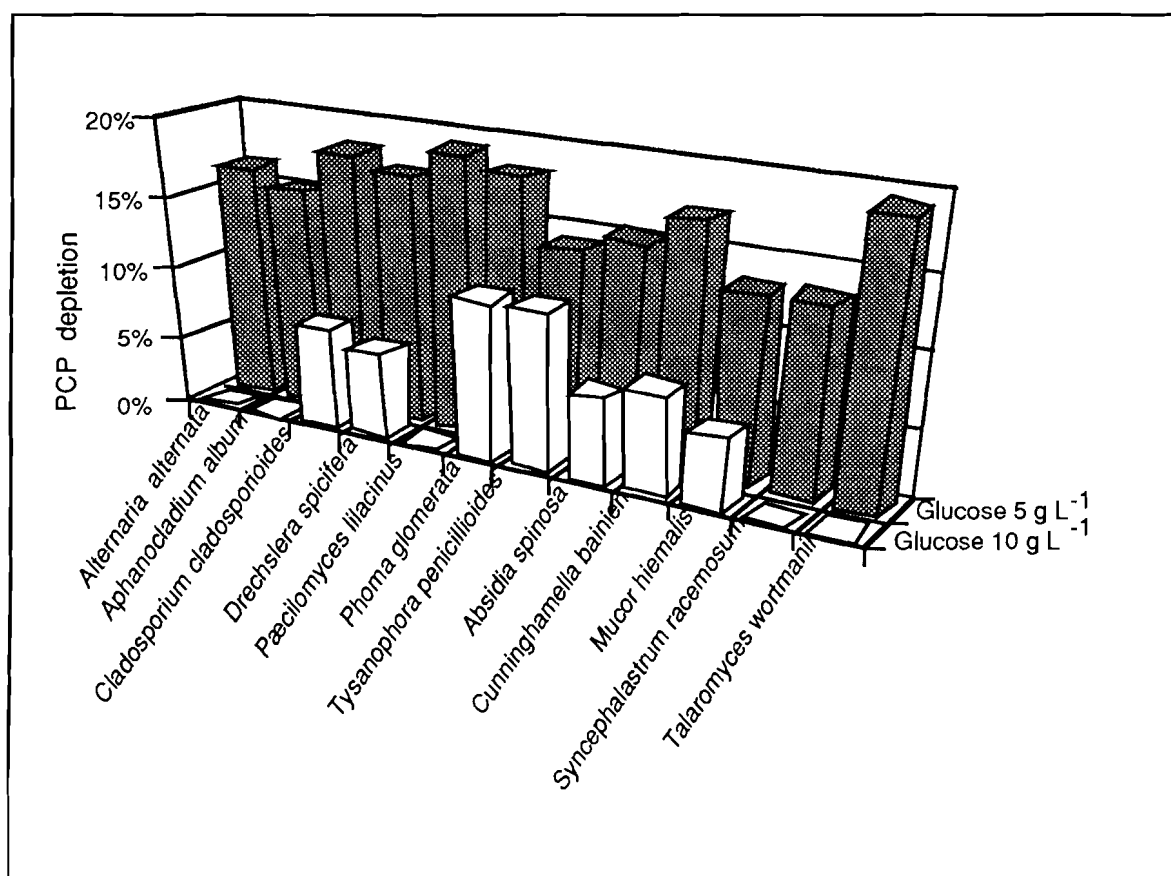


Figure 6. Influence de la quantité de glucose sur la disparition du PCP.

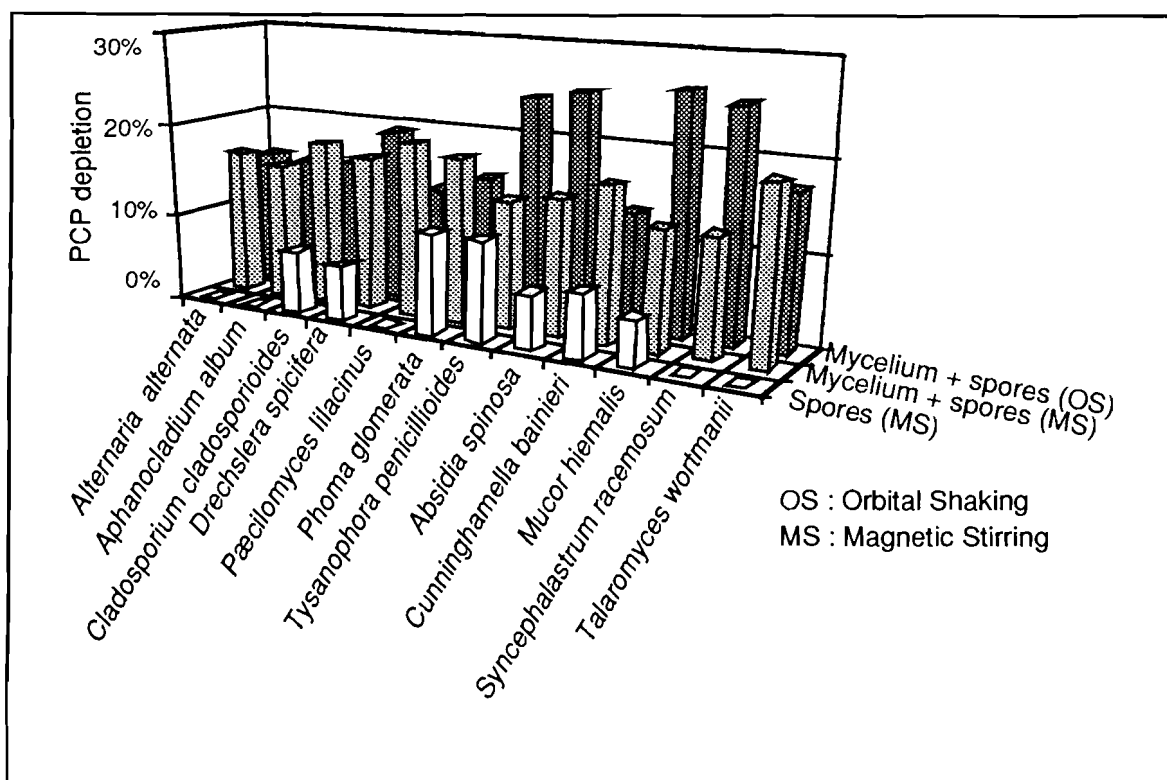


Figure 7. Influence du type d'agitation et du type d'inoculum sur la disparition du PCP.

1. 3. 4. Facteurs biotiques et abiotiques intervenant dans la dégradation du PCP.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de dégradation par rapport à la concentration initiale en PCP au temps T_0 .

Quant le *P. glomerata* est à l'obscurité (Fig. 8a) la dégradation du PCP était de 14% 24h après l'addition du PCP. Elle augmente lentement jusqu'à 31% au 12^{ème} jour. Nous avons déterminé la part due à la dégradation abiotique *i. e* à l'oxydation par l'air et l'agitation du milieu. Elle n'est pas négligeable et atteint 8% au 12^{ème} jour. En soustrayant la dégradation abiotique de la dégradation totale, il apparaît que la dégradation opérée par le champignon a lieu uniquement durant les 3 premiers jours. La dégradation abiotique seule pourrait alors expliquer l'augmentation de la dégradation durant les jours suivants.

Quand le *P. glomerata* est cultivé à la lumière (Fig. 8b), la dégradation est plus forte qu'à l'obscurité. Elle est de 22% le 1^{er} jour et augmente pour atteindre 36% le 2^{ème} jour. Le 12^{ème} jour elle atteint 50 %. Comme à l'obscurité, nous avons déterminé la part due à la dégradation abiotique. Elle est élevée et atteint 25% après 12 jours. Elle pourrait expliquer l'augmentation de la dégradation après le 2^{ème} jour.

Nous pouvons dire que *Ph. glomerata* est capable de dégrader efficacement et rapidement le PCP, mais par la suite il devient sensible à sa toxicité. Il est inhibé dans sa croissance dès le 2^{ème} ou 3^{ème} jour après sa culture avec le PCP aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière. Par ailleurs la capacité biodégradante du *P. glomerata* s'exprime mieux à la lumière qu'à l'obscurité. Deux raisons pourraient expliquer cela :

- L'effet bénéfique de la lumière sur le champignon permettant à ce dernier d'optimiser sa croissance.
- La valeur intrinsèque de la photodégradation.

La photolyse du PCP dans une solution aqueuse exposée à la lumière peut être importante (CROSBY *et al.*, 1972 ; CROSBY et WONG, 1976 ; PIGNATELLO *et al.*, 1983). En présence de champignon cette photodégradation pourrait être atténuée ou inhibée par une très grande croissance du champignon (les organes du champignon limitant la pénétration de la lumière dans le milieu), mais ce n'est pas le cas avec *Ph. glomerata*.

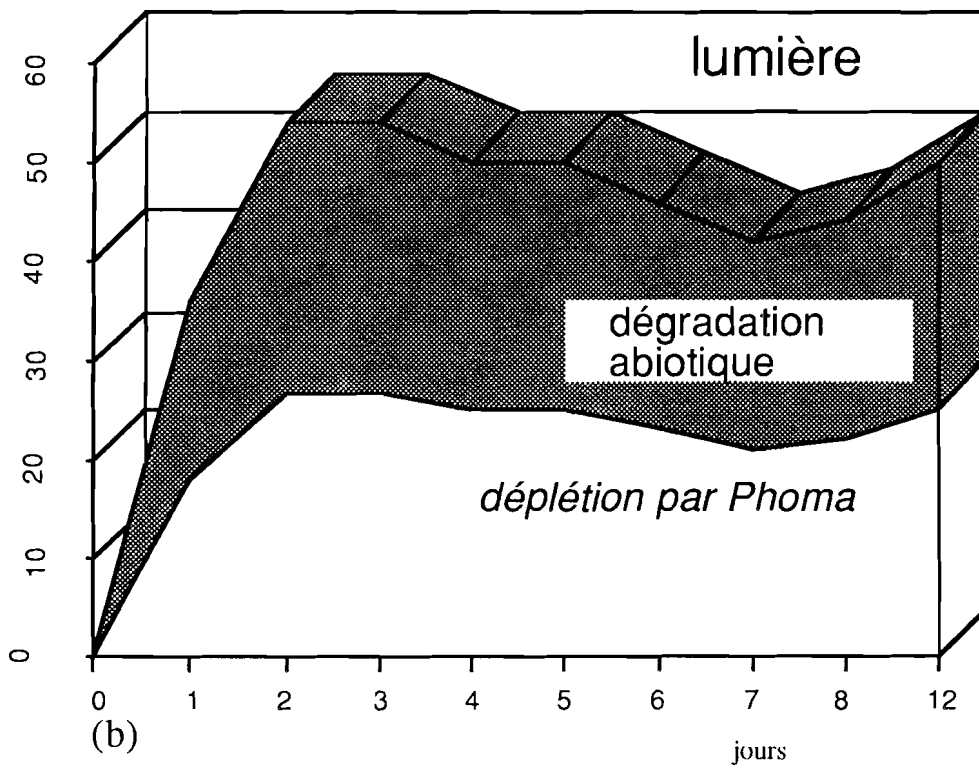
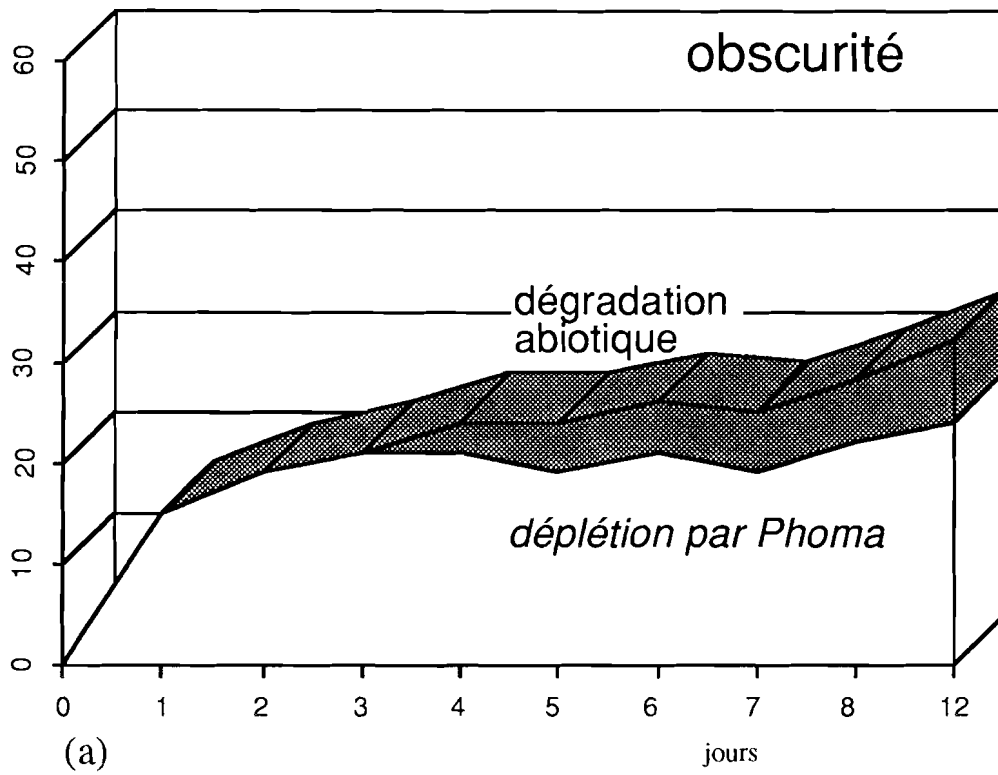


Figure 8. Disparition du PCP à l'obscurité (a) et à la lumière (b).

1. 3. 5. Evaluation de la consommation du PCP

1. 3. 5. 1. Par mesure de la DO

- Comparaison de la DO du PCP et du PCPNa à 320 nm et à $\text{pH} \geq 11$.

Le PCPNa a une absorbance caractéristique à 320 nm (STANLAKE et FIN, 1982) ce qui le distingue du PCP à la même longueur d'onde (Fig. 9). Ceci nous permet donc de doser nos échantillons contenant le PCPNa à 320 nm. En alcalinisant progressivement la solution du PCPNa, nous avons déterminé que la DO ne variait plus à partir du $\text{pH} \geq 11$.

- Influence du milieu de culture sur l'évaluation de la capacité biodégradable du PCPNa par mesure de la DO.

Bien que cette étude ait été entreprise avec une vingtaine de souches, nous ne présentons que les résultats obtenus avec 5 souches choisies de façon aléatoire.

En comparant la biodégradation obtenue avec ces 5 souches sur les 2 milieux de culture, on constate qu'elle est en général plus élevée en milieu GS qu'en milieu AT. (Tab. 3 ; Fig. 10). La capacité biodégradable mesurée par DO est influencée par la composition du milieu de culture et dans le cas présent le milieu GS paraît mieux convenir à l'expression de cette capacité biodégradable.

La DO de certains échantillons (témoin photodégradation ; *Ph. glomerata*) est supérieure à la DO initiale, ce qui exprimée en PCPNa, donne une augmentation apparente de la concentration. Nous nous sommes alors interrogés sur la validité de cette méthode classique et nous la comparons à celle de l'extraction suivie du dosage par CLHP (Tab. 4 ; Fig. 11).

Tableau 3. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L^{-1}) de 5 souches de micromycètes dans 2 milieux de culture par mesure de la DO à 320 nm.

	Milieu GS		Milieu TA	
	J + 3	J + 7	J + 3	J + 7
Témoin photodégradation	104	113	108	110
<i>Dreschlera spicifera</i>	86	71	126	68
<i>Fusarium moniliforme</i>	61	61	90	89
<i>Pæcilomyces lilacinus</i>	64	42	83	89
<i>Phoma glomerata</i>	129	130	118	124
<i>Thysanophora penicilloides</i>	68	85	110	103

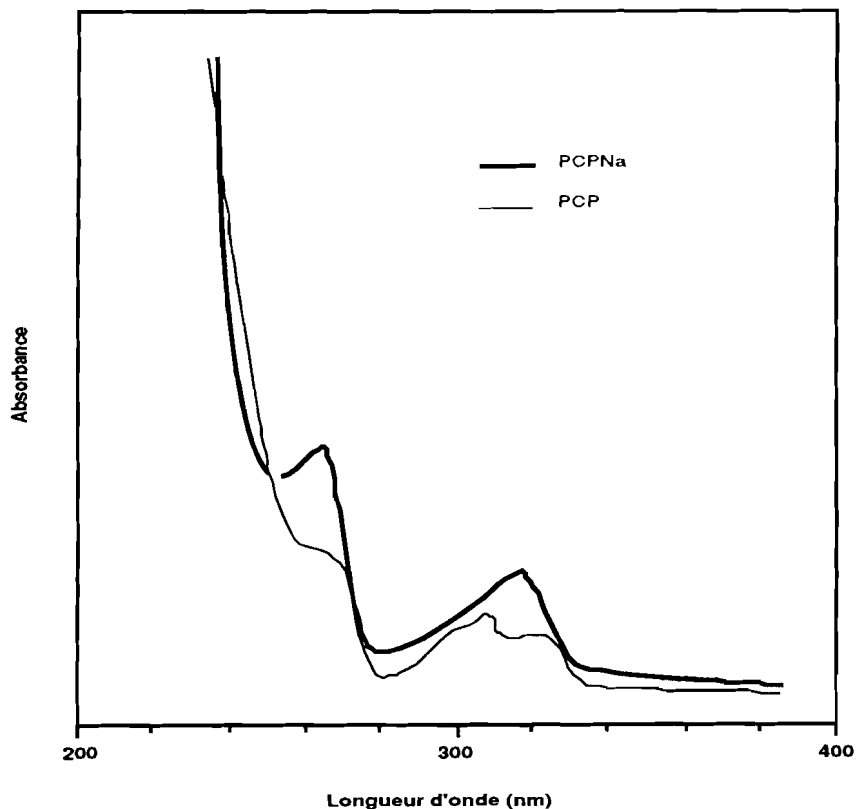


Figure 9. Spectre d'absorption du PCP et du PCPNa.

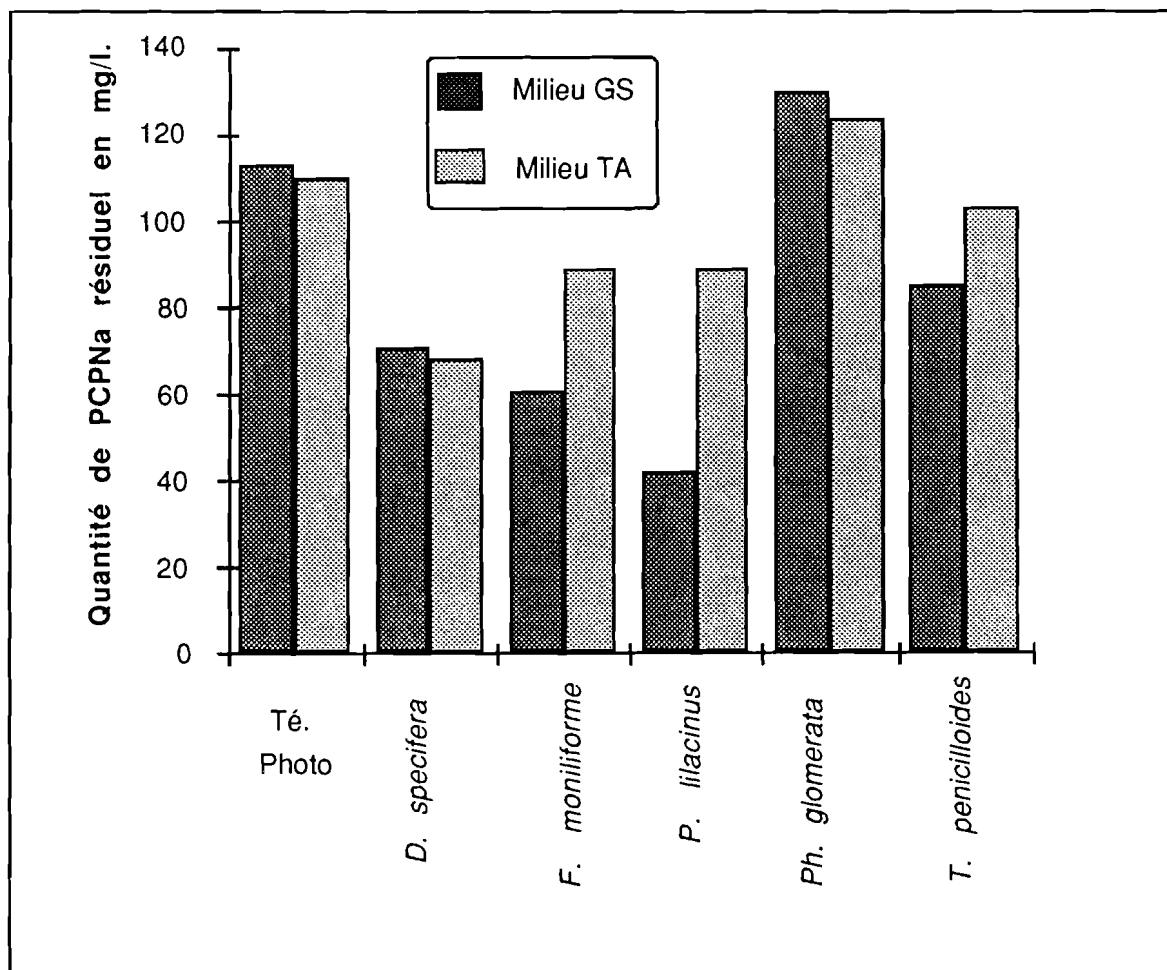


Figure 10. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L^{-1}) de 5 souches de micromycètes par spectrophotométrie.

1. 3. 5. 2. Par mesure de la DO et par dosage par CLHP

Bien que cette étude ait porté sur 70 souches de micromycètes, nous ne présenterons que les résultats des 10 souches ayant les meilleurs taux de dégradation par CLHP. La capacité biodégradante est exprimée par la quantité de PCP restant après 7 jours de culture.

En classant les souches par ordre croissant de PCP résiduel, (Tab. 4 et figure 11) il y a pour certaines d'entre elles une bonne corrélation entre les résultats obtenus par CLHP et par spectrophotométrie, la quantité de PCP résiduelle est proche. C'est notamment le cas des souches suivantes :

Syzygites megalocarpus
Cylindrocarpon candidum
Chætomium convolutum
Aspergillus ustus
Eupenicillium sp.

Pour d'autres la corrélation est médiocre :

Epicoccum nigrum
Botrytis cinerea
Penicillium cyaneum
Penicillium restrictum

Enfin pour la souche *Penicillium griseofulvum* il n'y a aucune relation et classée en 10 par CLHP, elle est classée dernière (72^{ème}) par spectrophotométrie.

Tableau 4. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L⁻¹) de 10 souches de micromycètes par mesure de la DO à 320 nm et par CLHP.

	Chromatographie		Spectrophotométrie		Différence (mg/l)
	PCP mg/l	Rang	PCP mg/l	Rang	
<i>Syzygites megalocarpus</i>	20	1	21	2	1
<i>Cylindrocarpon candidum</i>	24	2	28	8	4
<i>Chaetomium convolutum</i>	29	3	29	9	0
<i>Epicoccum nigrum</i>	32	4	25	1	-7
<i>Botrytis cinerea</i>	32	5	39	23	7
<i>Aspergillus ustus</i>	36	6	38	27	2
<i>Penicillium cyaneum</i>	38	7	27	6	-10
<i>Penicillium restrictum</i>	38	8	25	6	-13
<i>Eupenicillium sp.</i>	38	9	42	39	4
<i>Penicillium griseofulvum</i>	38	10	141	72	103

L'évaluation directe de la capacité biodégradante du PCPNa par mesure de la DO peut être perturbée d'une part par la présence de produits intermédiaires de dégradation et d'autre part par des éléments du milieu de culture. Cette perturbation se manifeste aussi sur la photodégradation. Une diminution de la DO à 320 nm correspond sans doute possible à une dégradation, mais dans le cas contraire, une diminution de la DO du PCPNa peut être masquée par la présence de produits de dégradation absorbant à 320 nm plus que le PCPNa.

Plusieurs métabolites ont été identifiés lors de la dégradation du PCP par les micromycètes : tétrachlorophénol, tétrachlorocatéchol, tétrachlororésorcinol, tétrachlorohydroquinone, polychloroanisoles (KAUFMAN, 1978).

Nous avons vérifié que le pentachloroanisole n'absorbe pas à 320 nm. En revanche, certains métabolites parmi lesquels les phénols et les diphénols absorbent à 320 nm et éventuellement plus que le PCP lui-même si bien que l'on observe une DO supérieure à la DO de départ, ce qui conduit à une sous-évaluation de la capacité biodégradable. Le dosage par CLHP après extraction par solvant permet de mieux séparer les produits et de faire un dosage spécifique du PCP. En faisant varier le rapport méthanol/eau du solvant d'élution on obtient de premières indications quant à la nature des différents métabolites présents.

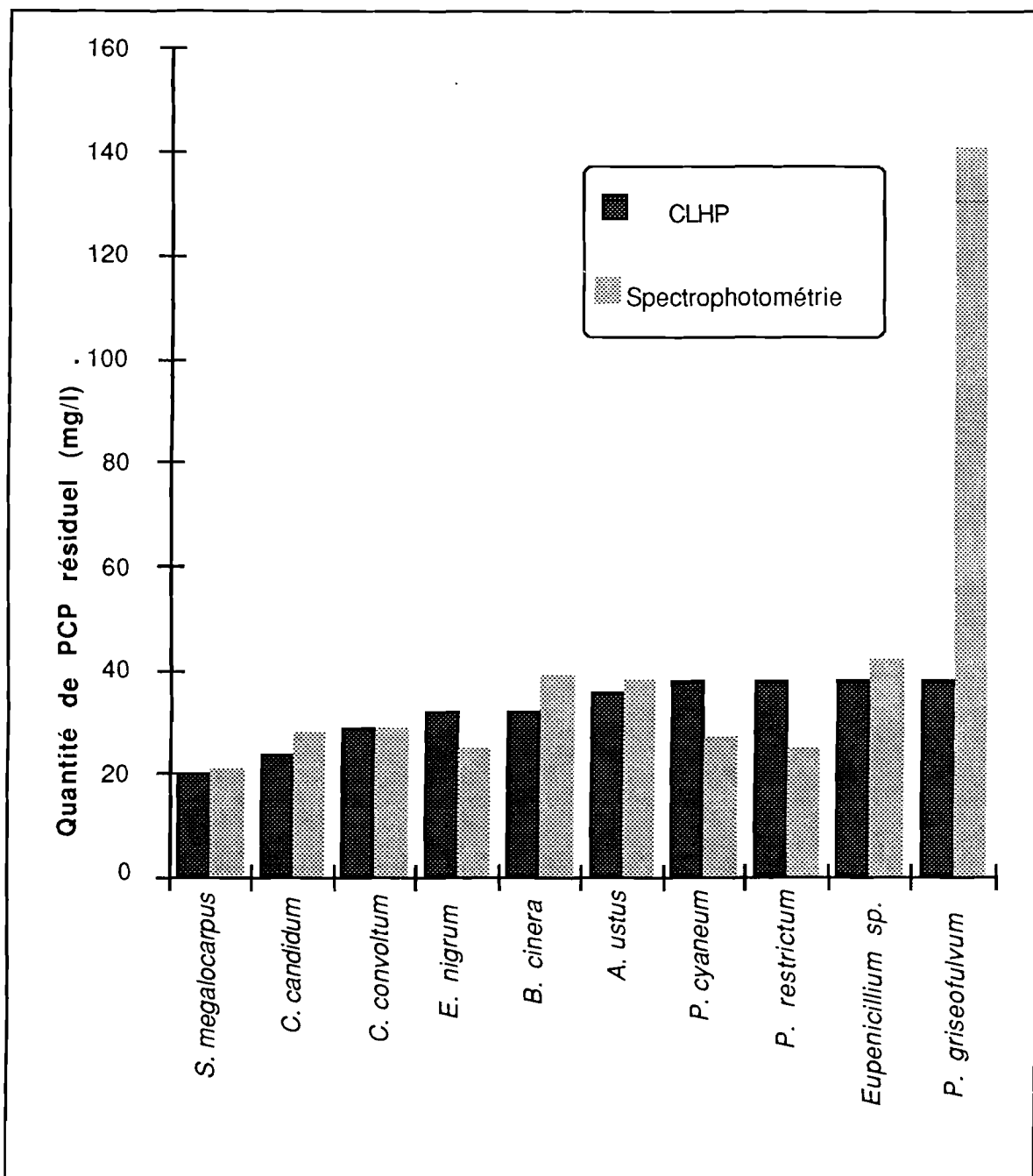


Figure 11. Évaluation de la capacité biodégradante pour le PCPNa (100 mg L^{-1}) de 10 souches de micromycètes par mesure de la DO à 320 nm et par CLHP.

1. 4. Conclusion

Le but de ces essais préliminaires était la mise au point d'une méthodologie appropriée à l'évaluation de la biodégradation du PCP. Ainsi l'extraction du PCP par solvant suivie du dosage par CLHP s'est montrée plus fiable que la mesure de la DO par spectroscopie UV-Visible. la 1ère méthode permet de mieux séparer les produits et de faire un dosage spécifique du PCP. Elle est donc retenue pour l'évaluation de la biodégradation du PCP par les micromycètes. Mais la bonne expression de la capacité biodégradante est tributaire de facteurs biotiques, abiotiques et des conditions de culture des micromycètes :

- Elle s'exprime mieux à la lumière qu'à l'obscurité (avec *Ph. glomerata* la photodégradation atteint 25% après 12 jours de culture).
- Le milieu synthétique liquide GS est plus approprié que le milieu liquide AT et les milieux solides GS et MEA.
- La concentration du glucose dans le milieu de culture est importante. Les meilleurs taux de dégradation sont obtenus avec 5 g L⁻¹ de glucose.
- Une agitation de type orbital favorise la biodégradation du PCP ainsi qu'un inoculum constitué de spores + mycelium en ensemencement massif.
- Une concentration de 100 mg L⁻¹ de PCP paraît convenir à l'expression de la capacité biodégradante.

Toutes ces informations seront donc consignées dans notre protocole d'évaluation de la biodégradation du PCP par les micromycètes. C'est ce protocole qui sera utilisé pour la suite de nos travaux.

CHAPITRE 2

ÉVALUATION DE LA BIODÉGRADATION DU PCP PAR LES MICROMYCÈTES

- 2. 1. Introduction

- 2. 2. Matériel et méthodes
 - 2. 2. 1. Microorganismes
 - 2. 2. 2. Appareillage et produits utilisés
 - 2. 2. 3. Conditions de culture
 - 2. 2. 4. Production de phénoloxydases

- 2. 3. Résultats et discussion
 - 2. 3. 1. Ascomycètes, Basidiomycètes et Levures
 - 2. 3. 2. Deutéromycètes

- 2. 4. Conclusion

2. 1. Introduction

Le tableau 2 montre que peu de travaux ont porté sur la métabolisation du PCP par les micromycètes bien que ce xénobiotique ait été initialement employé comme fongicide. Une telle lacune prive la communauté scientifique internationale d'informations indispensables à la résolution des problèmes engendrés par l'utilisation du PCP. Le présent travail voudrait suppléer à ce manque et vise 2 objectifs :

- Premièrement, évaluer la biodégradation du PCP par un grand nombre de micromycètes (989 souches) en vue de trouver des souches performantes capables de le métaboliser.
- Deuxièmement, chercher à comprendre le processus de cette biodégradation par l'étude des systèmes enzymatiques susceptibles d'intervenir. A cet effet, nous avons entrepris d'établir une relation entre la biodégradation du PCP et la production de phénoloxydases extracellulaires grâce aux travaux réalisés au laboratoire CMPG sur la production de ces enzymes par les micromycètes qui font l'objet de la présente étude (SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1990 ; GUIRAUD, 1992 ; GUIRAUD *et al.*, 1992). Les phénoloxydases (POx) sont des enzymes très répandues dans la nature, chez les plantes et les microorganismes. Ce groupe d'enzymes constitué par les laccases, les peroxydases et les tyrosinases, est produit par de nombreux champignons décomposant le bois, en particulier ceux du groupe des pourritures blanches (DAVIDSON *et al.*, 1938 ; SUNDMAN et NASE, 1971 ; HARKIN et OBST, 1973 ; LEONOWICZ et GRZYWNOWICZ, 1981 ; ARORA et SANDHU, 1985). Ces enzymes jouent un rôle clef dans la biodégradation de la lignine, ceci a surtout été étudié chez *Phanerochaete chrysosporium* et son anamorphe *Sporotrichum pulverulentum* (ANDER et ERIKSSON, 1976 ; 1978 ; LIWICKI *et al.*, 1985 ; UMEZAWA, 1986 ; UMEZAWA *et al.*, 1986 ; KAWAI *et al.*, 1987 ; MIKI *et al.*, 1987 ; SREBOTNIK *et al.*, 1988). Pour d'autres auteurs, les POx sont impliqués dans la biodégradation des chlorophénols dont le PCP (KONISHI et INOUE, 1972 ; LYR, 1963 ; MILESKI *et al.*, 1988).

Nous avons scindé ce travail en 2 parties :

- La 1^{ère} porte sur les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les levures
- La 2^{ème} porte sur les Deutéromycètes

2. 2. Matériel et méthodes

2. 2. 1. Microorganismes

989 souches appartenant à la mycothèque CMPG sont utilisées dans cette étude. Les Deutéromycètes sont largement représentées avec 784 souches appartenant à 123 genres. Les Ascomycètes 116 souches appartenant à 38 genres, les Basidiomycètes 44 souches appartenant à 34 genres et les Levures 45 souches appartenant à 11 genres (Fig. 12).

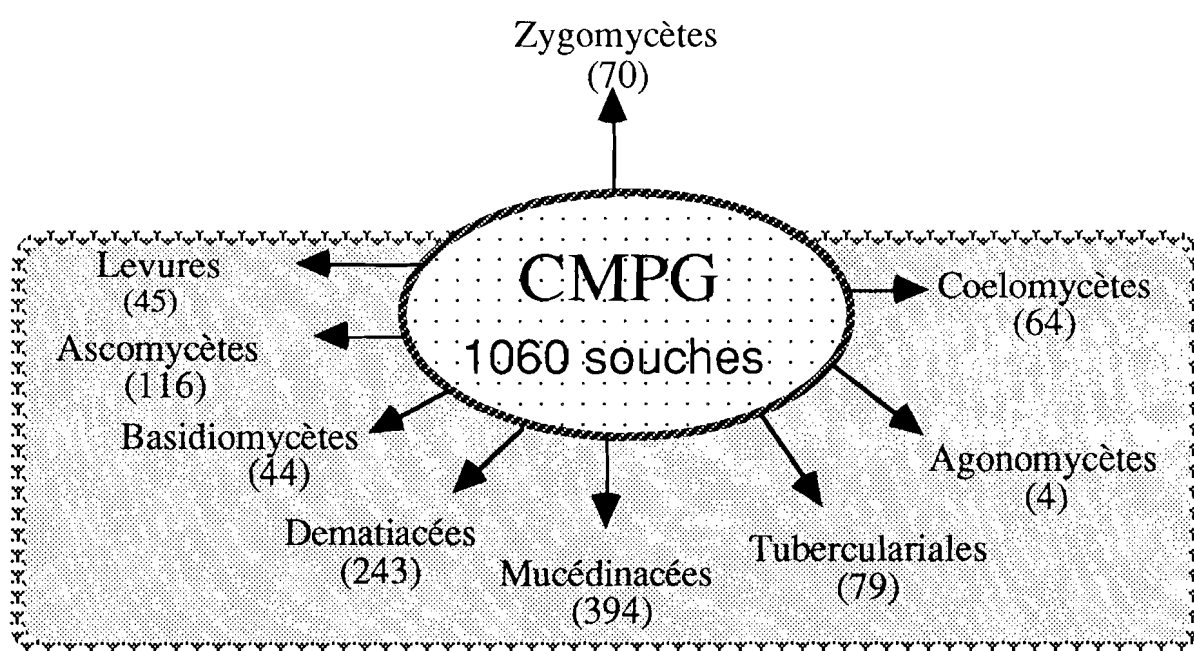


Figure 12. Répartition taxonomique des souches utilisées.

2. 2. 2. Appareillage et produits utilisés

Ils sont les mêmes que ceux indiqués au chapitre 1. 2. 2. hormis l'utilisation du spectrophotomètre.

2. 2. 3. Conditions de culture

Elles sont les mêmes qu'au chapitre 1. 2. 3. 2. avec les exceptions suivantes :

- Le milieu GS liquide est utilisé avec uniquement 5 g L⁻¹ de glucose.

- L'inoculum est toujours constitué de mycelium plus spores.
- L'ajout du PCP a lieu après 2 jours de culture à une concentration finale de 100 mg L⁻¹. La consommation du PCP est évaluée par CLHP après 7 jours de culture (soit 5 jours en présence de PCP) comme au chapitre 1. 2. 3. 4. (Fig. 3).

2. 2. 4. Production de phénoloxydases

Ces enzymes sont recherchées au moyen de réactifs permettant le développement d'une réaction colorée. Les formules et les colorations de ces différents réactifs figurent en annexe 1. Les réactifs sont ajoutés sur le champignon après que celui-ci ait été cultivé sur milieu MEA (1,5%) pendant 12 jours à 24°C. Les cultures sont éclairées par des lampes Philips TL 40-100 lux avec une photopériode de 12 h sur 24.

Les réactifs utilisés sont les suivants :

- Réactifs préconisés pour les laccases (KAARIK, 1965 ; ANDER et ERIKSSON, 1976) :

Acide gallique, alpha-naphtol, pyrogallol, benzidine, gaïacol, ortho-anisidine, en solution 0,1 M dans l'éthanol à 95%.

- Réactifs R-56 préconisés pour les laccases (DAGRON, 1985) :

Amidopyrine	1,15 g
N-N diéthylaniline	0,20 g
Acide benzoïque	0,25 g
Alcool éthylique 95°	10,00 ml

- Réactifs pour les laccases et les peroxydases (HARKIN *et al.*, 1974) :
Syringaldazine en solution à 0,1 % dans l'éthanol à 95 %. Utilisé seul, ce réactif permet de détecter les laccases. Dans le cas où la réponse est négative, l'addition de H₂O₂ en solution aqueuse à 0,03% permet la mise en évidence d'une éventuelle activité peroxydasique.
- Réactifs pour les tyrosinases (ANDER et ERIKSSON, 1976) :
Tyrosine, para-crésol, en solution 0,1 M dans l'éthanol à 95°.

Les solutions alcooliques de ces réactifs sont déposés sur les cultures à raison de 4 à 6 gouttes à l'aide de pipettes Pasteur. Trois boîtes de Pétri sont nécessaires pour chaque souche pour effectuer tous les tests.

La lecture des réactifs est faite après 24 heures, sauf pour la syringaldazine qui réagit, en général, après 15 à 20 minutes et dont la coloration s'estompe ensuite. Chaque souche est testée en double exemplaire.

L'ajout de réactifs n'est pas la seule méthode utilisable. Ils peuvent aussi être incorporés dans le milieu de culture (GUIRAUD, 1991).

2. 3. Résultats et discussion

Les résultats concernant la consommation du PCP sont donnés en pourcentage de disparition. La photodégradation après 5 jours de culture dans le milieu synthétique liquide est pris en compte pour le calcul du taux de disparition du PCP.

Quant à la production de POx, elle est évaluée par une note allant de 0 à 4 selon l'intensité de la réaction colorée. Un index POx (somme des réponses individuelles données par chaque réactif) est établi pour chaque souche. Nous avons ensuite défini les 4 classes suivantes sur la base de cet index :

-non	pas de POx
-faible	faible production de POx (moins de 2,5)
-moyenne	production moyenne de POx (entre 2,5 et 10)
-forte	production élevée de POx (10 et plus)

Dans le souci d'établir une éventuelle corrélation entre la disparition du PCP et la production de POx, les coefficients de corrélation entre ces 2 variables sont calculés pour chaque genre et espèces représentées par plus de 5 souches. Les résultats qui paraissent les plus importants sont présentés dans les tableaux 5 à 14.

2. 3. 1. Ascomycètes, Basidiomycètes et Levures

Les données relatives à la disparition du PCP ainsi que la production de POx extracellulaires figurent aux tableaux 5 à 7. Ces résultats obtenus sont très différents selon les groupes taxonomiques.

Les Ascomycètes (Tab. 5) donnent des résultats hétérogènes avec un taux moyen de disparition du PCP de 39,7%. Les meilleurs taux de disparition du PCP sont obtenus aussi bien avec des souches produisant des POx extracellulaires qu'avec celles ne les produisant pas. Cette remarque peut s'observer aisément avec les souches suivantes :

Emericella nidulans
Emericella variegata var. *variegata*
Neurospora sitophila
Othia spireæ
Pyronema omphalodes
Sclerotinia sclerotiorum
Sporormiella minimoides
Tricophæa abundans

Les Basidiomycètes (Tab. 6) donnent un taux moyen de disparition du PCP de 31,7%. Ils ont en général une forte production de POx (22 souches sur 44) mais seulement 3 de ces forts producteurs de POx obtiennent une bonne disparition du PCP. Ce sont :

Chondrostereum purpureum
Trametes spp.
Tyromyces fissilis

A l'antipode de ces forts producteurs de POx on constate que la souche *Dichomitus squalens* qui a une faible production de POx fournit le meilleur taux de disparition du PCP.

Les Levures (Tab. 7). La plupart des souches appartenant à ce groupe ne produisent pas ou produisent très peu de POx avec cependant une exception pour 2 souches de *Cryptococcus* qui ont une forte production de POx. La disparition du PCP est très faible (avec un taux moyen de 13,2%) hormis 2 souches de *Rhodotorula* qui ont un taux moyen de 40 et 44%. Mais ces 2 souches ne produisent pas de POx.

Tableau 5. Disparition du PCP et production de POx par les Ascomycètes.

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>Achætomium strumarium</i>	26	Forte	<i>Emericella variegata</i> var. <i>variegata</i>	77	Faible
<i>Ascodesmis microscopica</i>	20	Faible	<i>Endomyces fibuliger</i>	24	Faible
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	10	Forte	<i>Eupenicillium baarnense</i>	0	Non
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	10	Forte	<i>Eupenicillium brefeldianum</i>	75	Non
<i>Chætomidium fimeti</i>	69	Faible	<i>Eupenicillium brefeldianum</i>	53	Faible
<i>Chætomium anguipilium</i>	38	Faible	<i>Eupenicillium crustaceum</i>	54	Non
<i>Chætomium atrobrunneum</i>	72	Faible	<i>Eupenicillium javanicum</i>	0	Non
<i>Chætomium bostrychodes</i>	19	Faible	<i>Eupenicillium sp.</i>	60	Non
<i>Chætomium convolutum</i>	50	Non	<i>Eupenicillium sp.</i>	52	Non
<i>Chætomium elatum</i>	21	Forte	<i>Eupenicillium sp.</i>	19	Non
<i>Chætomium globosum</i>	14	Non	<i>Eupenicillium sp.</i>	54	Faible
<i>Chætomium globosum</i>	34	Faible	<i>Eupenicillium sp.</i>	20	Faible
<i>Chætomium globosum</i>	39	Faible	<i>Eupenicillium sp.</i>	69	Faible
<i>Chætomium globosum</i>	57	Faible	<i>Eurotium amstelodami</i>	70	Non
<i>Chætomium globosum</i>	54	Forte	<i>Eurotium amstelodami</i>	51	Non
<i>Chætomium gracile</i>	49	Faible	<i>Eurotium chevalieri</i>	3	Non
<i>Chætomium indicum</i>	39	Forte	<i>Eurotium chevalieri</i>	0	Non
<i>Chætomium indicum</i>	15	Forte	<i>Eurotium echinulatum</i>	0	Non
<i>Chætomium murorum</i>	30	Forte	<i>Eurotium intermedium</i>	50	Non
<i>Chætomium osmaniæ</i>	37	Forte	<i>Eurotium minus</i>	7	Faible
<i>Chætomium seminudum</i>	61	Faible	<i>Eurotium repens</i>	59	Non
<i>Chætomium semispirale</i>	37	Faible	<i>Eurotium repens</i>	35	Non
<i>Chætomium uniporum</i>	49	Forte	<i>Eurotium rubrum</i>	49	Non
<i>Coniochæta subcorticalis</i>	63	Faible	<i>Gelasinospora calospora</i>	25	Forte
<i>Coniochæta velutina</i>	58	Forte	<i>Gelasinospora calospora</i>	31	Forte
<i>Corynascus sepedonium</i>	46	Forte	<i>Gymnoascus reessii</i>	54	Non
<i>Cryphonectria parasitica</i>	0	Faible	<i>Microascus manginii</i>	64	Non
<i>Dichotomomyces cejpîi</i>	19	Non	<i>Microascus manginii</i>	19	Faible
<i>Dichotomomyces cejpîi</i>	40	Faible	<i>Monascus ruber</i>	46	Non
<i>Dichotomomyces cejpîi</i> var. <i>spinosus</i>	39	Faible	<i>Myxotrichum chartarum</i>	0	Non
<i>Dipodascus uninucleatus</i>	24	Non	<i>Myxotrichum deflexum</i>	52	Non
<i>Emericella nidulans</i>	75	Non	<i>Nectria pityrodes</i>	54	Faible
<i>Emericella nidulans</i>	36	Non	<i>Nectria pityrodes</i>	27	Faible
<i>Emericella nidulans</i>	30	Non	<i>Nectria pityrodes</i>	51	Faible

Tableau 5. Disparition du PCP et production de POx par les Ascomycètes.

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>Neocosmospora vasinfecta</i>	43	Forte	<i>Pseudoallescheria boydii</i>	44	Forte
<i>Neosartorya fischeri</i> var. <i>glabra</i>	38	Faible	<i>Pyronema omphalodes</i>	85	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	1	Forte	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	76	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	8	Forte	<i>Sordaria fimicola</i>	72	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	11	Non	<i>Sordaria fimicola</i>	59	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	12	Forte	<i>Sordaria lappæ</i>	25	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	17	Forte	<i>Sordaria macrospora</i>	65	Faible
<i>Neurospora crassa</i>	56	Faible	<i>Sordaria macrospora</i>	51	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	23	Forte	<i>Sphærodes fimicola</i>	68	Non
<i>Neurospora crassa</i>	26	Forte	<i>Sphærodes retispora</i> var. <i>retispora</i>	23	Non
<i>Neurospora crassa</i>	27	Forte	<i>Sporormiella antarctica</i>	51	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	38	Faible	<i>Sporormiella australis</i>	1	Faible
<i>Neurospora crassa</i>	49	Forte	<i>Sporormiella minimoides</i>	85	Forte
<i>Neurospora crassa</i>	74	Forte	<i>Sporormiella</i> sp.	28	Non
<i>Neurospora sitophila</i>	96	Faible	<i>Talaromyces flavus</i>	56	Forte
<i>Ophiostoma piceæ</i>	25	Forte	<i>Talaromyces helicus</i>	24	Non
<i>Ophiostoma piceæ</i>	32	Forte	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	65	Non
<i>Ophiostoma piceæ</i>	38	Forte	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	51	Faible
<i>Otthia spireæ</i>	75	Forte	<i>Talaromyces wortmannii</i>	61	Non
<i>Petriella sordida</i>	22	Forte	<i>Talaromyces wortmannii</i>	38	Non
<i>Pleospora herbarum</i>	23	Faible	<i>Talaromyceswortmannii</i>	23	Faible
<i>Podospora tetraspora</i>	28	Non	<i>Trichophæa abundans</i>	34	Forte
<i>Pseudeurotium ovale</i>	25	Faible	<i>Trichophæa abundans</i>	75	Forte
<i>Pseudeurotium zonatum</i>	44	Forte	<i>Westerdijkella dispersa</i>	30	Forte

Tableau 6. Disparition du PCP et production de POx par les Basidiomycètes.

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>Agaricus bitorquis</i>	0	Forte	<i>Coprinus sp.</i>	36	Faible
<i>Agaricus edulis</i>	0	Forte	<i>Dichomitus squalens</i>	80	Faible
<i>Agrocybe ægerita</i>	5	Forte	<i>Fibroporia vaillantii</i>	18	Forte
<i>Aphylophorale sp.</i>	13	Forte	<i>Heterobasidion annosum</i>	46	Forte
<i>Aphylophorale sp.</i>	35	Non	<i>Laccaria laccata</i>	8	Forte
<i>Athelia decipiens</i>	35	Forte	<i>Lætisaria arvalis</i>	35	Forte
<i>Basidiomycete sp.</i>	21	Forte	<i>Lætisaria arvalis</i>	50	Forte
<i>Basidiomycete sp.</i>	35	Forte	<i>Lætisaria fuciformis</i>	18	Faible
<i>Basidiomycete sp.</i>	57	Faible	<i>Oxysporus sp.</i>	47	Forte
<i>Basidiomycete sp.</i>	54	Faible	<i>Pezizella ericæ</i>	41	Faible
<i>Basidiomycete sp.</i>	31	Forte	<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	0	Faible
<i>Basidiomycete sp.</i>	27	Non	<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	0	Faible
<i>Basidiomycete sp.</i>	9	Forte	<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	55	Faible
<i>Bjerkandera adusta</i>	37	Faible	<i>Phanerochæte chrysosporium</i>	0	Forte
<i>Ceratobasidium sp.</i>	36	Faible	<i>Pholiota abstrusa</i>	0	Forte
<i>Ceratobasidium sp.</i>	33	Faible	<i>Poria placenta</i>	24	Non
<i>Chondrostereum purpureum</i>	40	Faible	<i>Sistotrema brinkmannii</i>	23	Faible
<i>Chondrostereum purpureum</i>	78	Forte	<i>Spiniger sp.</i>	53	Forte
<i>Collybia maculata</i>	8	Forte	<i>Suillus luteus</i>	54	Faible
<i>Coniophora arida</i>	15	Non	<i>Tilletia caries</i>	41	Forte
<i>Coniophora puteana</i>	48	Faible	<i>Trametes sp.</i>	63	Forte
<i>Coprinus cinereus</i>	18	Forte	<i>Tyromyces fissilis</i>	67	Forte

Tableau 7. Disparition du PCP et production de POx par les Levures.

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>Candida albicans</i>	13	Non	<i>Cryptococcus neoformans</i>	8	Forte
<i>Candida albicans</i>	7	Non	<i>Cryptococcus neoformans</i>	18	Faible
<i>Candida bombicola</i>	21	Faible	<i>Debaryomyces hansenii</i>	9	Faible
<i>Candida bombicola</i>	4	Faible	<i>Hansenula anomala</i>	5	Faible
<i>Candida catenulata</i>	24	Faible	<i>Hyphopichia burtonii</i>	17	Faible
<i>Candida glabrata</i>	9	Non	<i>Hyphopichia burtonii</i>	19	Faible
<i>Candida guilliermondii</i>	1	Faible	<i>Lipomyces kononenkoæ</i>	0	Faible
<i>Candida kefyr</i>	23	Faible	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	44	Non
<i>Candida parapsilosis</i>	16	Non	<i>Rhodotorula glutinis</i>	0	Faible
<i>Candida parapsilosis</i>	7	Non	<i>Rhodotorula glutinis</i>	0	Faible
<i>Candida tropicalis</i>	8	Non	<i>Rhodotorula glutinis var. glutinis</i>	23	Non
<i>Candida tropicalis</i>	12	Faible	<i>Rhodotorula minuta</i>	35	Non
<i>Candida utilis</i>	2	Faible	<i>Rhodotorula rubra</i>	40	Non
<i>Cryptococcus albidus</i>	29	Non	<i>Rhodotorula rubra</i>	19	Non
<i>Cryptococcus albidus</i>	29	Faible	<i>Saccharomyces cerevisiæ</i>	0	Non
<i>Cryptococcus albidus</i>	0	Faible	<i>Saccharomyces cerevisiæ</i>	0	Faible
<i>Cryptococcus albidus</i>	22	Faible	<i>Saccharomyces cerevisiæ</i>	9	Faible
<i>Cryptococcus albidus var. albidus</i>	16	Faible	<i>Saccharomyces cerevisiæ</i>	0	Faible
<i>Cryptococcus albidus var. albidus</i>	14	Forte	<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	5	Faible
<i>Cryptococcus laurentii</i>	14	Non	<i>Schizosaccharomyces octosporus</i>	1	Non
<i>Cryptococcus laurentii</i>	25	Faible	<i>Sporobolomyces roseus</i>	0	Non
<i>Cryptococcus magnus</i>	0	Faible	<i>Sporobolomyces roseus</i>	35	Faible

Des études antérieures conduites dans le laboratoire avec une concentration plus élevée en PCP (1 g L⁻¹) (SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1991) ont montré que la disparition du PCP dépendait du groupe taxonomique, les meilleurs résultats ont été obtenus avec les Zygomycètes et les moins bons avec les Levures. Cette disparition du PCP est aussi tributaire de sa concentration dans le milieu de culture puisque les taux moyens obtenus avec 1 g L⁻¹ sont beaucoup plus faibles que ceux obtenus avec 100 mg L⁻¹ (Tab. 8).

Tableau 8 : taux moyen de disparition du PCP par classe de micromycètes.

	1 g L ⁻¹	100 mg L ⁻¹
Ascomycètes	10%	39,7%
Basidiomycètes	8%	31,7%
Levures	3%	13,2%

Ceci peut être interprété comme la conséquence de la toxicité du PCP qui augmente quand la concentration augmente. Cette observation avait déjà été faite par MILESKI (1988) avec *Ph. chrysosporium*. Il avait obtenu les taux de disparition suivants :

50% avec 1 mg L⁻¹
 22% avec 100 mg L⁻¹
 7% avec 500 mg L⁻¹

La dégradation du PCP par les micromycètes dépend fortement du genre (CSERJESI, 1967 ; SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1992). Nos travaux corroborent donc cette observation. Mais elle dépend aussi à l'intérieur d'un même genre de l'espèce, cela pouvant se constater aisément chez les genres *Emericella* et *Eurotium* où le taux de disparition du PCP varient respectivement de 30 à 77% et de 0 à 70% selon les espèces. Si maintenant nous nous intéressons aux résultats obtenus avec les mêmes espèces représentées par différents isolats d'origines écologiques variées il ne se dégage pas un consensus général.

Dans certains cas les résultats sont très homogènes :

Sordaria macrospora (Ascomycètes)
Ophiostoma piceæ (Ascomycètes)
Lætareia arvalis (Basidiomycètes)

Dans d'autres cas, ils sont très hétérogènes :

Emericella nidulans (Ascomycètes)
Microascus manginii (Ascomycètes)
Chondrostereum purpureum (Basidiomycètes)

Nous avons tenté d'établir une éventuelle corrélation entre la disparition du PCP et la production de POx extracellulaire. Les coefficients de corrélation obtenus avec ces 2 variables sont les suivants :

Ascomycètes ($r^2 = 0,03$)
Basidiomycètes ($r^2 = 0,23$)
Levures ($r^2 = 0,06$)

Au vu de ces résultats il apparaît qu'aucune corrélation ne peut être établie entre la production de POx extracellulaire et la disparition du PCP par ces 3 groupes de micromycètes étudiées. Des résultats obtenus avec les Zygomycètes (SEIGLE-MURANDI *et al.* 1992) ont montré que la production de POx et la disparition du PCP étaient faiblement corrélées négativement ($r = -0,4$).

Si le rôle des POx a été prouvé dans la biodégradation de la lignine notamment avec *Ph. chrysosporium* (ERIKSSON *et al.*, 1990), leur rôle dans la biodégradation du PCP par les micromycètes des groupes Ascomycètes, Basidiomycètes, Zygomycètes et Levures est pour le moins incertaine. Au paragraphe 2. 3. 2. nous verrons si les mêmes conclusions s'imposent pour les Deutéromycètes.

2. 3. 2. Deutéromycètes

Les tableaux 9 à 13 nous donnent les taux de disparition et la production de POx extracellulaire pour les groupes de Deutéromycètes.

Agonomycètes et Cœlomycètes (Tab. 9)

Le taux moyen de disparition du PCP est respectivement de 56 et 60%. Ce taux de disparition varie de 19 (*Aposphaeria sanguinarium*) à 90% (*Coniothyrium spp.*). Certains genres donnent des résultats relativement homogènes (*Coniothyrium*, *Ascochyta*), cependant d'autres non (*Phoma*). Nous obtenons un taux moyen de disparition de 49 %

avec 20 souches de *Phoma* alors qu'avec spécifiquement 5 souches de *Phoma glomerata*, nous avons un taux moyen de 37% ce qui est plus faible que la moyenne pour ce genre.

Quant à la production de POx, elle est généralement forte ou moyenne, mais aucune corrélation significative au seuil $P = 0,05$ ne pourrait être établie entre cette variable et la disparition du PCP ($r^2 = 0,08$). Cette corrélation est donc faible, excepté pour *Colletotrichum*, où une forte corrélation négative existe ($r^2 = 0,78$).

Dématiacées

Ce groupe est le plus important des Deutéromycètes (243 souches). Le tableau 10a nous donne les résultats concernant ce groupe, le taux moyen de disparition du PCP varie de 27 à 67%. Parmi les espèces les mieux représentées, les différentes souches donnent des résultats hétérogènes (Tab. 10b).

Tableau 9. Disparition du PCP et production de POx par les Agonomycètes et les Cœlomycètes.

Agonomycètes

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>Rhizoctonia solani</i>	72	Moyen	<i>Rhizoctonia sp.</i>	64	Forte
<i>Rhizoctonia sp.</i>	57	Forte	<i>Sclerotium sp.</i>	32	Forte

Cœlomycètes

<i>Aposphæria sanguinarium</i>	19	Faible	<i>Cytospora sp.</i>	42	Forte
<i>Ascochyta imperfecta</i>	79	Forte	<i>Diplodia juglandis</i>	49	Faible
<i>Ascochyta sp.</i>	79	Forte	<i>Fusicoccum amygdali</i>	47	Faible
<i>Camarosporium sp.</i>	73	Faible	<i>Haplosporella acaciæ</i>	70	Moyen
<i>Chætosphæronema hispidulum</i>	58	Moyen	<i>Macrodiplodia zeæ var. macrospora</i>	78	Moyen
<i>Cicinobolus cesatii</i>	60	Faible	<i>Pestalotia palmarum</i>	79	Forte
<i>Coleophoma cylindrospora</i>	76	Moyen	<i>Pestalotia truncata</i>	78	Non
<i>Coleophoma crateriformis</i>	36	Forte	<i>Pestalotiopsis sp.</i>	30	Forte
<i>Coleophoma crateriformis</i>	64	Moyen	<i>Pestalotiopsis versicolor</i>	68	Moyen
<i>Coleophoma empetri</i>	54	Forte	<i>Phoma cava</i>	77	Faible
<i>Colletotrichum dematium</i>	51	Forte	<i>Phoma eupyrena</i>	71	Forte
<i>Colletotrichum glæosporioides</i>	49	Forte	<i>Phoma exigua</i>	42	Faible
<i>Colletotrichum glæosporioides</i>	61	Forte	<i>Phoma exigua</i>	71	Moyen
<i>Colletotrichum musæ</i>	37	Forte	<i>Phoma glomerata</i>	20	Moyen
<i>Colletotrichum musæ</i>	42	Forte	<i>Phoma glomerata</i>	28	Forte
<i>Coniella diplodiella</i>	52	Forte	<i>Phoma glomerata</i>	31	Moyen
<i>Coniella fragariæ</i>	40	Forte	<i>Phoma glomerata</i>	45	Faible
<i>Coniothyrium sp.</i>	34	Forte	<i>Phoma glomerata</i>	61	Forte
<i>Coniothyrium sp.</i>	48	Moyen	<i>Phoma herbarum</i>	11	Forte
<i>Coniothyrium sp.</i>	60	Forte	<i>Phoma herbarum</i>	36	Faible
<i>Coniothyrium sp.</i>	75	Forte	<i>Phoma herbarum</i>	41	Forte
<i>Coniothyrium sp.</i>	89	Forte	<i>Phoma leveillei</i>	73	Faible
<i>Coniothyrium sp.</i>	90	Forte	<i>Phoma macrostoma</i>	73	Moyen
<i>Coniothyrium sporulosum</i>	30	Moyen	<i>Phoma medicaginis</i>	63	Faible
<i>Cytospora cincta</i>	26	Forte	<i>Phoma pomorum</i>	52	Moyen
<i>Cytospora cincta</i>	29	Faible	<i>Phoma putaminum</i>	43	Forte
<i>Cytospora leucostoma</i>	50	Faible	<i>Phoma sp.</i>	41	Forte

<i>Phoma sp.</i>	50	Faible	<i>Pseudodiplodia sp.</i>	69	Faible
<i>Phoma sp.</i>	56	Moyen	<i>Trematophoma sp.</i>	63	Forte
<i>Phomopsis oblonga</i>	58	Forte	<i>Truncatella sp.</i>	48	Moyen
<i>Phyllosticta medicaginis</i>	77	Faible	<i>Truncatella sp.</i>	60	Faible
<i>Pseudodiplodia sp.</i>	26	Moyen	<i>Truncatella sp.</i>	62	Faible

Tableau 10a. Disparition du PCP et production de POx par les Dématiaccées.

Organisme	PCP % disap.	POx activité	Organisme	PCP % disap.	POx activité
<i>Acremonium butyri</i>	44	Faible	<i>Aspergillus niger</i>	28	Faible
<i>Acremonium cerealis</i>	76	Faible	<i>Aspergillus niger</i>	33	Non
<i>Acremonium maseei</i>	5	Non	<i>Aspergillus niger</i>	42	Faible
<i>Acremonium murorum</i>	33	Moyen	<i>Aspergillus niger</i>	45	Non
<i>Acremonium murorum</i>	64	Moyen	<i>Aspergillus niger</i>	61	Non
<i>Acremonium murorum</i>	74	Non	<i>Aspergillus niger</i>	66	Non
<i>Alternaria alternata</i>	11	Forte	<i>Aspergillus niger</i>	67	Non
<i>Alternaria alternata</i>	29	Forte	<i>Aspergillus niger</i>	68	Non
<i>Alternaria alternata</i>	31	Faible	<i>Aspergillus niger</i>	70	Non
<i>Alternaria alternata</i>	37	Moyen	<i>Aspergillus niger</i>	77	Non
<i>Alternaria alternata</i>	40	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	0	Non
<i>Alternaria alternata</i>	56	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	0	Moyen
<i>Alternaria alternata</i>	59	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	0	Moyen
<i>Alternaria alternata</i>	72	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	4	Non
<i>Alternaria alternata</i>	73	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	17	Forte
<i>Alternaria chlamyospora</i>	60	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	18	Faible
<i>Alternaria chlamyospora</i>	72	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	20	Faible
<i>Alternaria citri</i>	77	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	22	Faible
<i>Alternaria papaveris</i>	80	Faible	<i>Aureobasidium pullulans</i>	23	Non
<i>Alternaria raphani</i>	0	Moyen	<i>Aureobasidium pullulans</i>	25	Non
<i>Alternaria st Pleospora infectoria</i>	50	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	25	Forte
<i>Alternaria st Pleospora infectoria</i>	54	Faible	<i>Aureobasidium pullulans</i>	52	Non
<i>Alternaria st Pleospora infectoria</i>	64	Forte	<i>Aureobasidium pullulans</i>	54	Non
<i>Alternaria tenuissima</i>	50	Faible	<i>Aureobasidium pullulans</i>	70	Faible
<i>Arthrinium euphorbiae</i>	37	Faible	<i>Aureobasidium pullulans</i>	72	Non
<i>Arthrinium phæospermum</i>	65	Faible	<i>Bahusakala cookei</i>	38	Forte
<i>Arthrinium phæospermum</i>	72	Forte	<i>Bahusakala olivaceo-nigra</i>	15	Faible
<i>Arthrinium phæospermum</i>	73	Non	<i>Botrytis allii</i>	65	Forte
<i>Arthrinium sp.</i>	32	Non	<i>Botrytis allii</i>	70	Forte
<i>Arthrinium sphærospermum</i>	17	Forte	<i>Botrytis cinerea</i>	31	Forte

Tableau 10a. Disparition du PCP et production de POx par les Dématiacées.

Organisme	PCP % disap.	POx activité	Organisme	PCP % disap.	POx activité
<i>Botrytis cinerea</i>	54	Forte	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	65	Faible
<i>Botrytis cinerea</i>	66	Forte	<i>Coniosporium sp.</i>	72	Moyen
<i>Botrytis cinerea</i>	72	Forte	<i>Curvularia clavata</i>	36	Forte
<i>Botrytis sp.</i>	57	Forte	<i>Curvularia lunata</i>	77	Forte
<i>Chalaropsis thielavioides</i>	55	Forte	<i>Curvularia lunata</i>	79	Forte
<i>Chalaropsis thielavioides</i>	83	Faible	<i>Curvularia pallescens</i>	45	Moyen
<i>Cladorrhinum sp.</i>	43	Moyen	<i>Curvularia pallescens</i>	62	Forte
<i>Cladorrhinum sp.</i>	48	Moyen	<i>Dicyma ampullifera</i>	4	Forte
<i>Cladosporium chlorocephalum</i>	45	Faible	<i>Doratomyces microsporus</i>	36	Non
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	40	Moyen	<i>Doratomyces microsporus</i>	53	Forte
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	41	Forte	<i>Doratomyces nanus</i>	43	Faible
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	57	Moyen	<i>Doratomyces stemonitis</i>	41	Forte
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	58	Forte	<i>Doratomyces stemonitis</i>	47	Faible
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	58	Forte	<i>Doratomyces stemonitis</i>	72	Forte
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	65	Moyen	<i>Drechslera australiensis</i>	59	Moyen
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	65	Forte	<i>Drechslera australiensis</i>	67	Forte
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	67	Faible	<i>Drechslera cynodontis</i>	48	Moyen
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	69	Faible	<i>Drechslera cynodontis</i>	79	Moyen
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	69	Forte	<i>Drechslera hawaiiensis</i>	62	Forte
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	85	Forte	<i>Drechslera sp.</i>	59	Non
<i>Cladosporium herbarum</i>	28	Forte	<i>Drechslera sp.</i>	39	Moyen
<i>Cladosporium herbarum</i>	30	Faible	<i>Drechslera spicifera</i>	54	Forte
<i>Cladosporium herbarum</i>	34	Moyen	<i>Drechslera spicifera</i>	75	Forte
<i>Cladosporium herbarum</i>	41	Moyen	<i>Drechslera spicifera</i>	77	Forte
<i>Cladosporium herbarum</i>	52	Forte	<i>Embellisia annulata</i>	2	Moyen
<i>Cladosporium herbarum</i>	61	Moyen	<i>Epicoccum nigrum</i>	50	Non
<i>Cladosporium herbarum</i>	73	Moyen	<i>Epicoccum nigrum</i>	52	Non
<i>Cladosporium porophorum</i>	55	Moyen	<i>Epicoccum nigrum</i>	55	Non
<i>Cladosporium sphærospermum</i>	33	Forte	<i>Epicoccum nigrum</i>	59	Faible
<i>Cladosporium sphærospermum</i>	54	Faible	<i>Epicoccum nigrum</i>	62	Non

Tableau 10a. Disparition du PCP et production de POx par les Dématiacées.

Organisme	PCP % disap.	POx activité	Organisme	PCP % disap.	POx activité
<i>Epicoccum nigrum</i>	70	Non	<i>Nigrospora oryzae</i>	61	Non
<i>Epicoccum nigrum</i>	70	Non	<i>Nigrospora sphaerica</i>	17	Forte
<i>Epicoccum nigrum</i>	76	Moyen	<i>Nigrospora sphaerica</i>	66	Forte
<i>Epicoccum nigrum</i>	84	Moyen	<i>Nodulisporum sp.</i>	55	Faible
<i>Epicoccum nigrum</i>	88	Non	<i>Oidiodendron citrinum</i>	31	Forte
<i>Exophiala jeanselmei</i>	59	Forte	<i>Oidiodendron echinulatum</i>	61	Forte
<i>Exophiala pisciphila</i>	43	Non	<i>Oidiodendron echinulatum</i>	90	Forte
<i>Gliocephalotrichum bulbilium</i>	32	Forte	<i>Oidiodendron flavum</i>	43	Faible
<i>Graphium fructicola</i>	57	Faible	<i>Oidiodendron griseum</i>	38	Faible
<i>Hansfordia parasitica</i>	83	Faible	<i>Oidiodendron rhodogenum</i>	57	Moyen
<i>Haplographium delicatum</i>	66	Non	<i>Oidiodendron tenuissimum</i>	58	Faible
<i>Humicola fuscoatra</i>	31	Forte	<i>Oidiodendron tenuissimum</i>	85	Forte
<i>Humicola fuscoatra</i>	43	Moyen	<i>Papulaspora sp.</i>	23	Moyen
<i>Humicola fuscoatra</i>	52	Moyen	<i>Periconia cookei</i>	60	Forte
<i>Humicola grisea</i>	72	Forte	<i>Periconia macrospinosa</i>	26	Forte
<i>Humicola grisea</i>	78	Moyen	<i>Periconia macrospinosa</i>	41	Forte
<i>Mammaria echinobotryoides</i>	57	Forte	<i>Periconia saraswatipurensis</i>	42	Forte
<i>Mammaria echinobotryoides</i>	57	Forte	<i>Phæoramularia sp.</i>	53	Forte
<i>Memnoniella echinata</i>	61	Non	<i>Phialophora americana</i>	43	Forte
<i>Metarrhizium anisopliae</i>	40	Moyen	<i>Phialophora fastigiata</i>	27	Faible
<i>Microdochium bolleyi</i>	56	Faible	<i>Phialophora hoffmannii</i>	46	Non
<i>Monodictys levis</i>	75	Moyen	<i>Phialophora hoffmannii</i>	48	Non
<i>Monodictys putredinis</i>	35	Moyen	<i>Phialophora hoffmannii</i>	49	Non
<i>Monodictys sp.</i>	53	Faible	<i>Phialophora hoffmannii</i>	62	Non
<i>Myceliophthora lutea</i>	41	Forte	<i>Phialophora malorum</i>	21	Forte
<i>Myrothecium cinctum</i>	70	Forte	<i>Phialophora mustea</i>	82	Moyen
<i>Myrothecium gramineum</i>	89	Faible	<i>Phialophora richardsiae</i>	13	Faible
<i>Myrothecium roridum</i>	40	Forte	<i>Phialophora sp.</i>	23	Non
<i>Myrothecium verrucaria</i>	41	Moyen	<i>Pithomyces chartarum</i>	39	Forte
<i>Myrothecium verrucaria</i>	42	Faible	<i>Pithomyces chartarum</i>	50	Faible

Tableau 10a. Disparition du PCP et production de POx par les Dématiacées.

Organisme	PCP % disap.	POx activité	Organisme	PCP % disap.	POx activité
<i>Pithomyces chartarum</i>	55	Faible	<i>Stachybotrys chartarum</i>	34	Forte
<i>Pleiochæta setosa</i>	42	Moyen	<i>Stachybotrys chartarum</i>	47	Forte
<i>Pyricularia oryzae</i>	17	Forte	<i>Stachybotrys chartarum</i>	61	Forte
<i>Pyricularia oryzae</i>	28	Forte	<i>Stachybotrys chartarum</i>	77	Moyen
<i>Pyricularia oryzae</i>	32	Forte	<i>Stemphylium sarciniforme</i>	60	Forte
<i>Pyricularia oryzae</i>	38	Forte	<i>Stemphylium sp.</i>	19	Forte
<i>Pyricularia oryzae</i>	60	Forte	<i>Tæniolella alta</i>	73	Faible
<i>Rhinocladiella atrovirens</i>	52	Forte	<i>Tæniolella scripta</i>	63	Forte
<i>Rhinocladiella atrovirens</i>	72	Forte	<i>Thysanophora penicillioides</i>	68	Forte
<i>Scopulariopsis acremonium</i>	13	Moyen	<i>Thysanophora penicillioides</i>	80	Forte
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	39	Non	<i>Thysanophora penicillioides</i>	83	Forte
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	61	Faible	<i>Torula terrestris</i>	21	Faible
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	71	Faible	<i>Trichocladium opacum</i>	58	Forte
<i>Scopulariopsis brumptii</i>	37	Forte	<i>Trichurus spiralis</i>	35	Faible
<i>Scopulariopsis candida</i>	23	Faible	<i>Trichurus spiralis</i>	54	Non
<i>Scopulariopsis chartarum</i>	10	Faible	<i>Trimmatostroma sp.</i>	76	Forte
<i>Scopulariopsis chartarum</i>	52	Moyen	<i>Ulocladium alternariæ</i>	73	Forte
<i>Scopulariopsis flava</i>	52	Forte	<i>Ulocladium atrum</i>	38	Forte
<i>Scopulariopsis fusca</i>	61	Non	<i>Ulocladium atrum</i>	40	Forte
<i>Scytalidium lignicola</i>	42	Faible	<i>Ulocladium botrytis</i>	46	Moyen
<i>Scytalidium lignicola</i>	77	Moyen	<i>Ulocladium botrytis</i>	66	Moyen
<i>Scytalidium lignicola</i>	84	Moyen	<i>Ulocladium botrytis</i>	68	Forte
<i>Scytalidium sp.</i>	55	Faible	<i>Ulocladium chartarum</i>	67	Faible
<i>Scytalidium hyalinum</i>	41	Moyen	<i>Ulocladium chlamydosporum</i>	47	Faible
<i>Scytalidium thermophilum</i>	13	Faible	<i>Ulocladium consortiale</i>	83	Forte
<i>Sporothrix cyanescens</i>	59	Non	<i>Ulocladium oudemansii</i>	40	Forte
<i>Sporothrix schenckii</i>	37	Non	<i>Ulocladium tuberculatum</i>	53	Moyen
<i>Sporothrix schenckii</i>	43	Forte	<i>Verrucobotrys sp.</i>	57	Forte
<i>Sporothrix schenckii</i>	56	Forte	<i>Verticillium albo-atrum</i>	77	Non
<i>Sporothrix sp.</i>	46	Faible	<i>Verticillium nigrescens</i>	56	Moyen

Tableau 10a. Disparition du PCP et production de POx par les Dématiacées.

Organisme	PCP % disap.	POx activité	Organisme	PCP % disap.	POx activité
<i>Wallemia sebi</i>	22	Faible	<i>Wardomyces humicola</i>	54	Faible
<i>Wallemia sebi</i>	56	Faible			

Tableau 10b. Variation du taux de disparition du PCP chez quelques Dématiacées.

Nom de la souche	nbre de souches	variation du taux de disparition du PCP	taux moyen de disparition du PCP
<i>Alternaria alternata</i>	9	11 à 73	45 %
<i>Aspergillus niger</i>	10	28 à 77	56 %
<i>Aureobasidium pullulans</i>	15	0 à 72	27 %
<i>Botrytis cinerea</i>	4	31 à 72	56 %
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	11	40 à 85	61 %
<i>Cladosporium herbarum</i>	7	28 à 73	46 %
<i>Drechslera spp.</i>	10	39 à 77	62 %
<i>Epicoccum nigrum</i>	10	50 à 88	67 %
<i>Oidiodendron spp.</i>	8	31 à 90	58 %
<i>Pyricularia oryzae</i>	5	17 à 60	35 %
<i>Scytalidium spp.</i>	6	13 à 84	52 %

Pour l'ensemble des Dématiées, le taux moyen de disparition du PCP est de 51%, sans aucune corrélation avec la production de POx ($r^2 = 0,06$). Toutefois *Epicoccum nigrum* a à la fois les meilleurs taux de disparition par rapport à la moyenne des Dématiées et ce avec une corrélation moyenne avec la production de POx ($r^2 = 0,55$). La même remarque apparaît avec 3 autres souches :

Oidiodendron spp. (8 souches, $r^2 = 0,65$)

Drechslera spp. (10 souches, $r^2 = 0,37$)

Scytalidium (6 souches, $r^2 = 0,52$)

Avec *Aureobasidium pullulans*, la corrélation est faible ($r^2 = 0,29$). A l'opposé *Aspergillus niger* donne un taux élevé de disparition du PCP mais avec une forte corrélation négative avec la production de POx ($r^2 = 0,53$).

Mucédinacées (autres qu'*Aspergillus* et *Penicillium*) (Tab. 11)

Tableau 11a. Disparition du PCP et production de POx par les Mucédinacées.

Organisme	PCP % disap.	POx activité	Organisme	PCP % disap.	POx activité
<i>Acremonium bacillisporum</i>	68	Faible	<i>Aphanocladium album</i>	44	Forte
<i>Acremonium charticola</i>	48	Non	<i>Aphanocladium album</i>	49	Faible
<i>Acremonium chrysogenum</i>	0	Non	<i>Aphanocladium album</i>	56	Faible
<i>Acremonium chrysogenum</i>	0	Non	<i>Arcuadendron triangulare</i>	63	Faible
<i>Acremonium furcatum</i>	70	Faible	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	56	Non
<i>Acremonium fusidioides</i>	31	Faible	<i>Arthrobotrys robusta</i>	53	Faible
<i>Acremonium fusidioides</i>	70	Faible	<i>Beauveria alba</i>	81	Moyen
<i>Acremonium hyalinulum</i>	37	Faible	<i>Beauveria bassiana</i>	45	Forte
<i>Acremonium persicinum</i>	54	Non	<i>Beauveria bassiana</i>	49	Faible
<i>Acremonium persicinum</i>	57	Faible	<i>Beauveria brongniartii</i>	53	Forte
<i>Acremonium pteridii</i>	61	Non	<i>Beauveria geodes</i>	27	Faible
<i>Acremonium roseo-griseum</i>	50	Faible	<i>Botryotrichum piluliferum</i>	34	Forte
<i>Acremonium roseolum</i>	28	Non	<i>Botryotrichum piluliferum</i>	39	Forte
<i>Acremonium roseolum</i>	43	Faible	<i>Botryotrichum piluliferum</i>	51	Moyen
<i>Acremonium roseum</i>	66	Non	<i>Bullera alba</i>	25	Faible
<i>Acremonium roseum</i>	69	Non	<i>Calcarisporiella thermophila</i>	51	Non
<i>Acremonium roseum</i>	90	Faible	<i>Calcarisporium arbuscula</i>	53	Faible
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	22	Non	<i>Calcarisporium arbuscula</i>	63	Forte
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	39	Faible	<i>Calcarisporium arbuscula</i>	72	Forte
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	60	Non	<i>Calcarisporium arbuscula</i>	81	Faible
<i>Acremonium sclerotigenum</i>	63	Non	<i>Calcarisporium arbuscula</i>	82	Faible
<i>Acremonium strictum</i>	65	Forte	<i>Calcarisporium arbuscula</i>	90	Forte
<i>Acremonium strictum</i>	79	Non	<i>Calcarisporium arbuscula</i>	90	Faible
<i>Acremonium terricola</i>	46	Non	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	0	Moyen
<i>Acremonium tubakii</i>	42	Forte	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	5	Faible
<i>Acremonium zeæ</i>	44	Non	<i>Chrysosporium pannorum</i>	39	Forte
<i>Acrodontium crateriforme</i>	73	Forte	<i>Chrysosporium pannorum</i>	48	Forte
<i>Acrodontium salmoneum</i>	24	Forte	<i>Chrysosporium pannorum</i>	59	Forte
<i>Acrodontium salmoneum</i>	61	Forte	<i>Chrysosporium pannorum</i>	66	Forte
<i>Acrodontium salmoneum</i>	70	Faible	<i>Chrysosporium pannorum</i>	85	Faible
<i>Amblyosporium botrytis</i>	20	Faible	<i>Cladobotryum varium</i>	75	Faible
<i>Aphanocladium album</i>	37	Forte	<i>Cladobotryum varium</i>	79	Faible

<i>Cladobotryum verticillatum</i>	84	Forte	<i>Pæcilomyces variotii</i>	45	Moyen
<i>Dactylium dendroides</i>	30	Forte	<i>Pæcilomyces variotii</i>	46	Moyen
<i>Dactylium dendroides</i>	33	Forte	<i>Sepedonium chrysospermum</i>	31	Faible
<i>Dendrostilbella byssina</i>	23	Forte	<i>Sesquicillium candelabrum</i>	62	Non
<i>Dendrostilbella byssina</i>	49	Forte	<i>Spicellum roseum</i>	26	Non
<i>Epidermophyton floccosum</i>	6	Moyen	<i>Sporotrichum cellulophilum</i>	4	Forte
<i>Geomyces pannorum</i>	32	Forte	<i>Sporotrichum dimorphosporum</i>	43	Forte
<i>Geomyces pannorum</i>	36	Faible	<i>Sporotrichum dimorphosporum</i>	37	Forte
<i>Geomyces pannorum</i>	37	Moyen	<i>Sporotrichum dimorphosporum</i>	39	Faible
<i>Geomyces pannorum</i>	43	Forte	<i>Trichoderma aureoviride</i>	61	Faible
<i>Geotrichum candidum</i>	19	Non	<i>Trichoderma hamatum</i>	58	Non
<i>Geotrichum candidum</i>	22	Non	<i>Trichoderma hamatum</i>	72	Non
<i>Geotrichum candidum</i>	24	Faible	<i>Trichoderma harzianum</i>	27	Faible
<i>Gliocladium catenulatum</i>	69	Faible	<i>Trichoderma harzianum</i>	44	Moyen
<i>Gliocladium roseum</i>	51	Faible	<i>Trichoderma harzianum</i>	64	Faible
<i>Gliocladium roseum</i>	55	Faible	<i>Trichoderma harzianum</i>	75	Faible
<i>Gliocladium roseum</i>	63	Faible	<i>Trichoderma harzianum</i>	79	Non
<i>Gliocladium roseum</i>	78	Non	<i>Trichoderma koningii</i>	59	Faible
<i>Gliocladium solani</i>	39	Non	<i>Trichoderma polysporum</i>	55	Moyen
<i>Gliocladium virens</i>	63	Moyen	<i>Trichoderma polysporum</i>	68	Non
<i>Goidanichiella sp.</i>	16	Faible	<i>Trichoderma polysporum</i>	81	Faible
<i>Hyphozyma variabilis</i>	13	Non	<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	10	Faible
<i>Hyphozyma variabilis</i>	30	Non	<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	17	Faible
<i>Mariannæa elegans</i>	37	Forte	<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	62	Non
<i>Mariannæa elegans</i>	41	Forte	<i>Trichoderma reesei</i>	33	Faible
<i>Microsporum canis</i>	0	Forte	<i>Trichoderma reesei</i>	53	Faible
<i>Microsporum gypseum</i>	14	Faible	<i>Trichoderma reesei</i>	70	Faible
<i>Monilia fructicola</i>	67	Forte	<i>Trichoderma viride</i>	14	Non
<i>Monocillium tenue</i>	42	Non	<i>Trichoderma viride</i>	37	Forte
<i>Monocillium tenue</i>	51	Forte	<i>Trichoderma viride</i>	40	Faible
<i>Mycogone pernicioso</i>	51	Faible	<i>Trichoderma viride</i>	29	Faible
<i>Mycogone rosea</i>	26	Moyen	<i>Trichophyton ajelloi</i>	18	Faible
<i>Pæcilomyces farinosus</i>	55	Non	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	17	Faible
<i>Pæcilomyces farinosus</i>	63	Moyen	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	38	Faible
<i>Pæcilomyces lilacinus</i>	37	Non	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	39	Faible
<i>Pæcilomyces lilacinus</i>	69	Faible	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	45	Faible
<i>Pæcilomyces sp.</i>	78	Non	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	59	Faible
<i>Pæcilomyces variotii</i>	18	Moyen	<i>Trichophyton persicolor</i>	0	Forte
<i>Pæcilomyces variotii</i>	25	Faible	<i>Trichophyton rubrum</i>	51	Faible
<i>Pæcilomyces variotii</i>	42	Forte	<i>Trichophyton tonsurans</i>	0	Forte

<i>Trichosporon beigelii</i>	5	Faible	<i>Verticillium lamellicola</i>	65	Faible
<i>Trichosporon beigelii</i>	10	Faible	<i>Verticillium lecanii</i>	35	Faible
<i>Trichosporon beigelii</i>	12	Non	<i>Verticillium lecanii</i>	35	Forte
<i>Trichosporon beigelii</i>	12	Faible	<i>Verticillium lecanii</i>	77	Faible
<i>Trichosporon beigelii</i>	18	Faible	<i>Verticillium leptobactrum</i>	74	Faible
<i>Trichothecium roseum</i>	62	Forte	<i>Verticillium psalliotæ</i>	41	Forte
<i>Tritirachium oryzae</i>	77	Moyen	<i>Verticillium tenerum</i>	25	Moyen
<i>Verticillium bulbillosum</i>	44	Faible	<i>Volutella ciliata</i>	31	Forte
<i>Verticillium cephalosporum</i>	42	Non	<i>Volutella roseola</i>	21	Forte
<i>Verticillium cephalosporum</i>	52	Non	<i>Volutella roseola</i>	55	Forte
<i>Verticillium chlamydosporium</i>	57	Faible	<i>Volutella roseola</i>	56	Forte
<i>Verticillium lamellicola</i>	59	Forte			

Le taux de disparition du PCP varie de 0 à 90% avec une moyenne de 50 %. Comme pour les Dématiacées, l'analyse des résultats obtenus avec les souches les mieux représentées révèle une hétérogénéité concernant la disparition du PCP (Tab. 11b). Néanmoins *Trichosporon beigelii* donne des résultats relativement homogènes mais faibles (5 souches, taux de disparition variant de 5 à 18 et une moyenne de 11 %).

Tableau 11b. Variation du taux de disparition du PCP chez quelques Mucédinacées.

Nom de la souche	nombre de souches	variation du taux de disparition du PCP	taux moyen de disparition du PCP
<i>Calcarisporium arbuscula</i>	7	53 à 90	76 %
<i>Chrysosporium pannorum</i>	5	39 à 85	59 %
<i>Trichoderma harzianum</i>	5	27 à 79	58 %
<i>Trichoderma mentagrophytes</i>	5	17 à 59	40 %

Avec ce groupe, il y a une faible corrélation entre la disparition du PCP et la production de POx ($r^2 = 0,17$). Si on considère individuellement les genres et les espèces, les résultats sont hétérogènes pour *Calcarisporium arbuscula* (7 souches, $r^2 = 0,006$) et *Gliocladium spp.* (7 souches, $r^2 = 0,14$), il y a un taux élevé de disparition du PCP non corrélé avec la production de POx. A l'opposé, *Trichosporon beigelii* (5 souches, $r^2=0,48$), *Trichophyton spp.* (9 souches, $r^2 = 0,63$), *Pæcilomyces variotii* (5 souches, $r^2 = 0,41$), le taux de disparition du PCP est bas et faiblement corrélé négativement avec la production de POx. Parmi les Mucedinacées, quelques espèces donnent des résultats homogènes concernant la production de POx : *Chrysosporium pannorum* (excepté 1 souche), *Trichoderma harzianum*, *Trychophyton mentagrophytes*, *Trichosporon beigelii*, tandis que d'autres non (*Calcarisporium arbuscula*). *T. harzianum* est la seule qui donne une bonne corrélation entre la production de POx et la disparition du PCP (5 souches, $r^2=0,77$).

Aspergillus et Penicillium

Nous les avons considérés séparément des autres Mucédinacées à cause de leur faible production de POx (Tab. 12). Ils ont un taux moyen de disparition du PCP (57%) légèrement supérieur à celui des autres Mucédinacées (50 %). Chez les *Aspergillus*, le taux de disparition du PCP varie beaucoup selon les espèces. C'est ainsi qu'avec 20 souches d'*Aspergillus parasiticus* le taux de disparition varie de 0 à 96% la moyenne étant de 64% et avec 5 souches d'*Aspergillus ustus* il varie de 55 à 79 avec une moyenne de 66%. La production de POx est toujours aussi faible hormis pour 2 souches : *A. sydowii* et *A. versicolor*. La même observation pourrait être faite chez les *Penicillium* (Tab. 12b.)

Tableau 12a. Disparition du PCP et production de POx par *Aspergillus* et *Penicillium* (Mucédinacées).

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>A. aculeatus</i>	35	Non	<i>A. ochraceus</i>	41	Moyen	<i>A. parasiticus</i>	81	Non
<i>A. candidus</i>	34	Non	<i>A. ochraceus</i>	66	Non	<i>A. parasiticus</i>	83	Faible
<i>A. candidus</i>	44	Faible	<i>A. oryzae</i>	73	Non	<i>A. parasiticus</i>	96	Non
<i>A. carbonarius</i>	55	Non	<i>A. oryzae</i>	74	Non	<i>A. parvulus</i>	52	Non
<i>A. clavatus</i>	10	Non	<i>A. oryzae</i> var. <i>viridis</i>	73	Non	<i>A. penicilloides</i>	8	Faible
<i>A. flavus</i>	32	Non	<i>A. parasiticus</i>	0	Non	<i>A. petrakii</i>	69	Faible
<i>A. flavus</i>	38	Non	<i>A. parasiticus</i>	42	Non	<i>A. sp.</i>	0	Faible
<i>A. flavus</i>	45	Non	<i>A. parasiticus</i>	49	Non	<i>A. sydowii</i>	54	Forte
<i>A. flavus</i>	49	Non	<i>A. parasiticus</i>	53	Non	<i>A. terreus</i>	30	Non
<i>A. flavus</i>	58	Non	<i>A. parasiticus</i>	55	Non	<i>A. terreus</i>	37	Non
<i>A. flavus</i>	67	Non	<i>A. parasiticus</i>	56	Non	<i>A. terreus</i> var. <i>aureus</i>	68	Non
<i>A. flavus</i>	74	Non	<i>A. parasiticus</i>	59	Non	<i>A. ustus</i>	55	Faible
<i>A. flavus</i>	77	Non	<i>A. parasiticus</i>	60	Moyen	<i>A. ustus</i>	55	Faible
<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i>	64	Non	<i>A. parasiticus</i>	61	Non	<i>A. ustus</i>	62	Non
<i>A. fumigatus</i>	26	Non	<i>A. parasiticus</i>	63	Non	<i>A. ustus</i>	77	Non
<i>A. fumigatus</i>	52	Non	<i>A. parasiticus</i>	64	Non	<i>A. ustus</i>	79	Non
<i>A. fumigatus</i>	59	Non	<i>A. parasiticus</i>	72	Non	<i>A. versicolor</i>	20	Non
<i>A. fumigatus</i>	67	Non	<i>A. parasiticus</i>	72	Non	<i>A. versicolor</i>	30	Non
<i>A. fumigatus</i>	74	Non	<i>A. parasiticus</i>	75	Non	<i>A. versicolor</i>	68	Faible
<i>A. fumigatus</i>	74	Non	<i>A. parasiticus</i>	79	Non	<i>A. versicolor</i>	76	Forte
<i>A. giganteus</i>	67	Non	<i>A. parasiticus</i>	80	Non	<i>P. aculeatum</i>	10	Non
<i>A. melleus</i>	47	Faible	<i>A. parasiticus</i>	80	Non	<i>P. atramentosum</i>	8	Faible

<i>P. aurantiogriseum</i> 44	Faible	<i>P. cyaneum</i>	86	Non	<i>P. italicum</i>	32	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 56	Non	<i>P. dangeardii</i>	29	Faible	<i>P. italicum</i>	41	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 57	Non	<i>P. decumbens</i>	50	Faible	<i>P. italicum</i>	54	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 57	Faible	<i>P. dendriticum</i>	75	Moyen	<i>P. italicum</i>	59	Forte
<i>P. aurantiogriseum</i> 59	Non	<i>P. digitatum</i>	59	Faible	<i>P. italicum</i>	63	Faible
<i>P. aurantiogriseum</i> 60	Faible	<i>P. digitatum</i>	73	Non	<i>P. italicum</i>	66	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 61	Faible	<i>P. diversum</i>	33	Non	<i>P. janczewskii</i>	66	Faible
<i>P. aurantiogriseum</i> 64	Non	<i>P. duclauxii</i>	33	Non	<i>P. janczewskii</i>	80	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 65	Non	<i>P. duclauxii</i>	39	Non	<i>P. janthinellum</i>	37	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 66	Non	<i>P. echinulatum</i>	55	Non	<i>P. janthinellum</i>	66	Faible
<i>P. aurantiogriseum</i> 69	Non	<i>P. echinulatum</i>	66	Non	<i>P. jensenii</i>	38	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 72	Non	<i>P. expansum</i>	20	Non	<i>P. lignorum</i>	33	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 75	Non	<i>P. expansum</i>	47	Non	<i>P. melinii</i>	65	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 75	Non	<i>P. expansum</i>	60	Non	<i>P. melinii</i>	68	Faible
<i>P. aurantiogriseum</i> 76	Non	<i>P. expansum</i>	69	Non	<i>P. melinii</i>	70	Non
<i>P. aurantiogriseum</i> 76	Non	<i>P. expansum</i>	75	Non	<i>P. melinii</i>	75	Faible
<i>P. aurantiogriseum</i> 80	Non	<i>P. fellutanum</i>	32	Faible	<i>P. miczynskii</i>	59	Faible
<i>P. brevicompactum</i> 59	Non	<i>P. fellutanum</i>	64	Non	<i>P. miczynskii</i>	61	Non
<i>P. brevicompactum</i> 72	Non	<i>P. fellutanum</i>	79	Non	<i>P. miczynskii</i>	75	Non
<i>P. brevicompactum</i> 74	Non	<i>P. funiculosum</i>	53	Non	<i>P. minioluteum</i>	58	Non
<i>P. camemberti</i> 44	Forte	<i>P. funiculosum</i>	63	Non	<i>P. minioluteum</i>	70	Faible
<i>P. camemberti</i> 69	Faible	<i>P. funiculosum</i>	76	Non	<i>P. olivicolor</i>	71	Non
<i>P. camemberti</i> 75	Faible	<i>P. funiculosum</i>	78	Non	<i>P. olivicolor</i>	75	Faible
<i>P. camemberti</i> 80	Faible	<i>P. glabrum</i>	31	Non	<i>P. olsonii</i>	59	Non
<i>P. canescens</i> 47	Faible	<i>P. glabrum</i>	38	Non	<i>P. paxilli</i>	71	Non
<i>P. canescens</i> 54	Non	<i>P. glabrum</i>	50	Non	<i>P. paxilli</i>	72	Non
<i>P. chrysogenum</i> 29	Non	<i>P. glabrum</i>	57	Non	<i>P. piceum</i>	0	Non
<i>P. chrysogenum</i> 40	Non	<i>P. glabrum</i>	61	Non	<i>P. piceum</i>	21	Non
<i>P. chrysogenum</i> 54	Forte	<i>P. glabrum</i>	73	Non	<i>P. pinophilum</i>	51	Non
<i>P. chrysogenum</i> 61	Non	<i>P. glabrum</i>	73	Non	<i>P. pinophilum</i>	59	Non
<i>P. chrysogenum</i> 62	Non	<i>P. glabrum</i>	80	Non	<i>P. pseudo-</i> <i>stromaticum</i>	53	Non
<i>P. chrysogenum</i> 71	Non	<i>P. granulatum</i>	20	Non	<i>P. puberulum</i>	41	Non
<i>P. chrysogenum</i> 76	Non	<i>P. granulatum</i>	49	Non	<i>P. puberulum</i>	69	Non
<i>P. chrysogenum</i> 85	Non	<i>P. granulatum</i>	63	Non	<i>P. purpurogenum</i>	35	Faible
<i>P. chrysogenum</i> 86	Non	<i>P. granulatum</i>	67	Non	<i>P. purpurogenum</i>	53	Non
<i>P. citreonigrum</i> 55	Non	<i>P. griseofulvum</i>	14	Forte	<i>P. purpurogenum</i>	57	Non
<i>P. citreonigrum</i> 76	Non	<i>P. griseofulvum</i>	42	Faible	<i>P. purpurogenum</i>	63	Non
<i>P. citrinum</i> 74	Non	<i>P. griseoroseum</i>	59	Non	<i>P. purpurogenum</i>	64	Non
<i>P. corylophilum</i> 60	Non	<i>P. hirsutum</i>	36	Moyen	<i>P. purpurogenum</i>	65	Non
<i>P. crustosum</i> 31	Non	<i>P. hirsutum</i>	48	Moyen	<i>P. purpurogenum</i>	65	Non
<i>P. crustosum</i> 57	Non	<i>P. implicatum</i>	52	Non	<i>P. purpurogenum</i>	72	Non
<i>P. cyaneum</i> 89	Faible	<i>P. islandicum</i>	26	Moyen	<i>P. purpurescens</i>	76	Non

<i>P. raistrickii</i>	38	Faible	<i>P. rugulosum</i>	39	Faible	<i>P. spirillum</i>	11	Non
<i>P. raistrickii</i>	76	Non	<i>P. rugulosum</i>	54	Faible	<i>P. thomii</i>	68	Non
<i>P. resedanum</i>	39	Non	<i>P. rugulosum</i>	69	Non	<i>P. turbatum</i>	45	Non
<i>P. restrictum</i>	38	Faible	<i>P. rugulosum</i>	71	Forte	<i>P. variable</i>	21	Non
<i>P. restrictum</i>	46	Faible	<i>P. simplicissimum</i>	53	Faible	<i>P. variable</i>	65	Non
<i>P. restrictum</i>	70	Non	<i>P. simplicissimum</i>	72	Moyen	<i>P. velutinum</i>	68	Non
<i>P. roqueforti</i>	66	Non	<i>P. simplicissimum</i>	81	Faible	<i>P. verruculosum</i>	57	Non
<i>P. roqueforti</i>	71	Faible	<i>P. spiculisporum</i>	63	Non	<i>P. vinaceum</i>	71	Faible
<i>P. roqueforti</i>	73	Non	<i>P. spinulosum</i>	38	Non	<i>P. viridicatum</i>	68	Non
<i>P. roseopurpureum</i>	16	Faible	<i>P. spinulosum</i>	43	Non	<i>P. waksmanii</i>	41	Non
<i>P. rugulosum</i>	16	Non	<i>P. spinulosum</i>	50	Non	<i>P. waksmanii</i>	51	Faible
<i>P. rugulosum</i>	26	Non	<i>P. spinulosum</i>	52	Non			

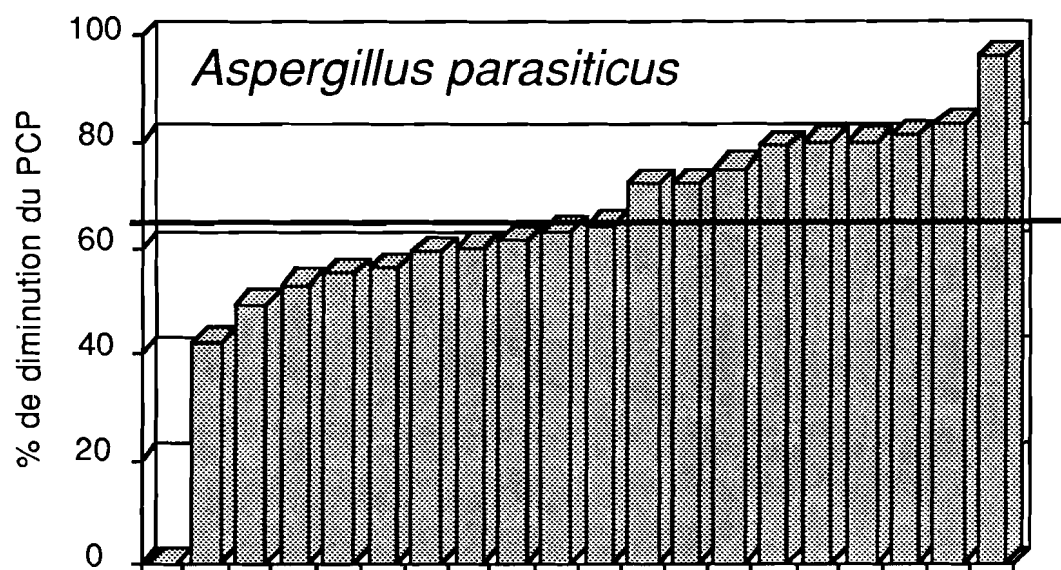


Figure 13. Variation du taux de disparition du PCP avec des isolats d'*A. parasiticus*.

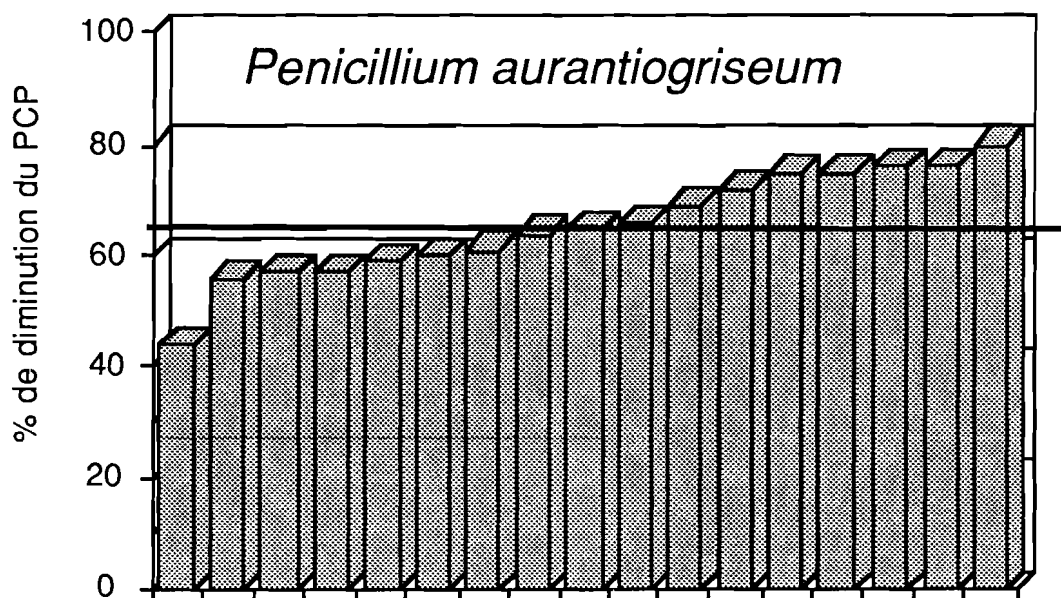


Figure 14. Variation du taux de disparition du PCP avec des isolats de *P. aurantiogriseum*.

Tableau 12b. Variation du taux de disparition du PCP chez quelques souches de *Penicillium*.

nom de la souche	nbre de souches	variation du taux de disparition	taux moyen de disparition
<i>P. aurantiogriseum</i>	17	44 à 80 %	65 %
<i>P. chrysogenum</i>	9	29 à 86 %	63 %
<i>P. expansum</i>	5	20 à 75 %	54 %
<i>P. glabrum</i>	8	31 à 80 %	58 %
<i>P. purpurogenum</i>	8	35 à 72 %	59 %
<i>P. rugulosum</i>	6	16 à 71 %	46 %

Aspergillus spp. et *Penicillium spp.* produisent moins de POx que les autres Mucédinacées mais dans l'ensemble cette production est sans corrélation avec la disparition du PCP ($r^2 = 0,02$ et $0,06$). Pour quelques souches, il y a néanmoins une corrélation entre la production de POx et la disparition du PCP. Cette corrélation est faible et négative sauf pour *A. ustus* ($r^2 = 0,83$), *P. aurantiogriseum* ($r^2 = 0,61$), *P. purpurogenum* ($r^2 = 0,87$). Seulement 1 espèce donne une corrélation positive : *P. rugulosum* ($r^2 = 0,54$).

Les figures 13 et 14 montrent sur 2 exemples, *Aspergillus parasiticus* et *Penicillium aurantiogriseum*, pour lesquels la mycothèque renferme respectivement 20 et 17 souches que le taux de disparition du PCP peut varier considérablement d'un isolat à l'autre d'une même espèce.

Tuberculariales

Elles sont généralement de fortes productrices de POx (Tab. 13) et le taux de disparition du PCP varie de 0 à 80 %, avec un taux moyen de 42 %, sans aucune corrélation avec la production de POx ($r^2 = 0,11$). La meilleure corrélation est donnée par *Cylindrocarpon ianthothele* (7 souches, $r^2 = 0,65$).

Pour l'ensemble des Deutéromycètes, d'une manière générale, la corrélation entre la production de POx et la disparition du PCP est faible ou nulle. Toutefois, il existe plusieurs exceptions ou de fortes corrélations linéaires positives ou négatives existent entre ces 2 variables. Les résultats obtenus dans ce travail aussi bien au niveau de la production de POx que de la disparition du PCP sont très hétérogènes à l'exclusion de quelques genres de Mucédinacées, qui donnent des résultats homogènes au niveau de la production de POx. Ces résultats doivent être interprétés en gardant à l'esprit l'hétérogénéité taxonomique des champignons constituant cette classe qui est fondée seulement sur l'apparence des souches. Nous nous sommes intéressés particulièrement à *Aspergillus niger* qui est classée avec les Dématiées (ELLIS, 1971) mais qui donne des résultats qui ne concordent pas avec ceux de ce groupe au niveau de la production de POx extracellulaire. Une meilleure homogénéité serait atteinte si le genre *Aspergillus* était considéré comme un tout en dépit du fait que certains d'entre eux sont considérés comme des Dématiées et d'autres comme des Mucedinacées. La même observation pourrait être faite avec les Ascomycètes un autre groupe taxonomique déroutant, la disparition du PCP s'obtient avec des souches produisant ou ne produisant pas de POx, alors que des groupes mieux définis donnent des résultats plus homogènes.

Comme pour les 3 groupes déjà étudiés : Ascomycètes, Basidiomycètes, Levures, aucune corrélation linéaire positive ne peut être établie entre la production de POx extracellulaire et la disparition du PCP chez les Deutéromycètes. La même observation est faite par ailleurs avec les Zygomycètes (SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1992 ; STEIMAN *et al.*, 1994) groupe bien défini et homogène, dont la plupart des souches sont capables de faire disparaître fortement le PCP tout en étant dépourvu d'une capacité de production de POx.

Quant à la performance des souches de Deutéromycètes en ce qui concerne la disparition du PCP, nous observons une fois de plus que les seules considérations taxonomiques sont insuffisantes pour expliquer cette aptitude.

Tableau 13. Disparition du PCP et production de POx par les Tuberculariales.

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>Cylindrocarpon album</i>	18	Non	<i>Cylindrocarpon olidum</i>	53	Forte
<i>Cylindrocarpon candidulum</i>	35	Faible	<i>Cylindrocarpon olidum var. crassum</i>	50	Non
<i>Cylindrocarpon candidum</i>	26	Non	<i>Cylindrocarpon orthosporum</i>	66	Faible
<i>Cylindrocarpon cylindroides</i>	17	Forte	<i>Cylindrocarpon tonkinense</i>	0	Faible
<i>Cylindrocarpon cylindroides var. tenue</i>	28	Faible	<i>Cylindrocarpon willkommii</i>	28	Non
<i>Cylindrocarpon decumbens</i>	26	Forte	<i>Fusarium acuminatum</i>	19	Forte
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	22	Forte	<i>Fusarium aquæductuum var. medium</i>	28	Forte
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	36	Forte	<i>Fusarium aquæductuum var. medium</i>	40	Moyen
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	37	Forte	<i>Fusarium arthrosporioides</i>	66	Non
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	50	Faible	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	68	Faible
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	53	Non	<i>Fusarium cœruleum</i>	0	Forte
<i>Cylindrocarpon destructans var. crassum</i>	45	Forte	<i>Fusarium cœruleum</i>	38	Forte
<i>Cylindrocarpon didymum</i>	25	Moyen	<i>Fusarium cœruleum</i>	40	Forte
<i>Cylindrocarpon faginatum</i>	52	Forte	<i>Fusarium culmorum</i>	55	Faible
<i>Cylindrocarpon gracile</i>	0	Forte	<i>Fusarium culmorum</i>	58	Moyen
<i>Cylindrocarpon heteronema</i>	49	Faible	<i>Fusarium culmorum</i>	66	Forte
<i>Cylindrocarpon heteronema</i>	60	Forte	<i>Fusarium decemcellulare</i>	12	Faible
<i>Cylindrocarpon ianthothele</i>	37	Forte	<i>Fusarium equiseti</i>	59	Forte
<i>Cylindrocarpon ianthothele</i>	54	Forte	<i>Fusarium fusarioides</i>	12	Faible
<i>Cylindrocarpon ianthothele var. majus</i>	0	Moyen	<i>Fusarium graminearum</i>	23	Moyen
<i>Cylindrocarpon ianthothele var. majus</i>	31	Forte	<i>Fusarium graminearum</i>	70	Faible
<i>Cylindrocarpon ianthothele var. majus</i>	32	Forte	<i>Fusarium heterosporum</i>	23	Faible
<i>Cylindrocarpon ianthothele var. majus</i>	72	Forte	<i>Fusarium lateritium</i>	28	Non
<i>Cylindrocarpon ianthothele var. minus</i>	38	Forte	<i>Fusarium lateritium</i>	70	Moyen
<i>Cylindrocarpon lucidum</i>	34	Forte	<i>Fusarium melanochlorum</i>	41	Forte
<i>Cylindrocarpon lucidum</i>	50	Forte	<i>Fusarium merismioides</i>	72	Non
<i>Cylindrocarpon macrosporum</i>	80	Faible	<i>Fusarium moniliforme</i>	34	Moyen
<i>Cylindrocarpon magnusianum</i>	42	Forte	<i>Fusarium moniliforme</i>	60	Faible
<i>Cylindrocarpon obtusisporum</i>	59	Faible	<i>Fusarium moniliforme</i>	71	Faible
			<i>Fusarium moniliforme var. subglutinans</i>	22	Non
			<i>Fusarium oxysporum</i>	50	Forte
			<i>Fusarium oxysporum</i>	55	Faible
			<i>Fusarium oxysporum</i>	56	Faible

Tableau 13. Disparition du PCP et production de POx par les Tuberculariales.

Organisme	PCP % disp.	POx activité	Organisme	PCP % disp.	POx activité
<i>Fusarium oxysporum</i>	69	Forte	<i>Fusarium solani</i>	9	Forte
<i>Fusarium oxysporum</i>	75	Faible	<i>Fusarium solani</i>	35	Forte
<i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>melonis</i>	52	Forte	<i>Fusarium solani</i>	36	Forte
<i>Fusarium poæ</i>	42	Non	<i>Fusarium solani</i>	41	Forte
<i>Fusarium proliferatum</i> var. <i>proliferatum</i>	40	Moyen	<i>Fusarium solani</i>	53	Forte
<i>Fusarium proliferatum</i> var. <i>proliferatum</i>	49	Moyen	<i>Fusarium solani</i>	57	Forte
<i>Fusarium proliferatum</i> var. <i>proliferatum</i>	55	Faible	<i>Fusarium sulphureum</i>	73	Forte
<i>Fusarium semitectum</i>	22	Faible	<i>Fusarium tabacinum</i>	19	Forte
			<i>Fusarium trichothecioides</i>	44	Faible

Tableau 14. Évaluation de la disparition du PCP par 989 souches de micromycètes. Nombre de souches par tranche de pourcentage de dégradation.

	0 à 10%	10 à 40%	40 à 80%	Plus de 80%	Taux moyen de disparition
Basidiomycètes	18 23%	18 41%	15 34%	1 2%	32%
Levures	23 49%	22 47%	2 4%		14%
Dématiacées	14 7%	43 22%	117 59%	23 12%	54%
Mélanconiales	5 35%	1 7%	8 57%		
Tuberculariales	10 13%	28 36%	38 49%	2 2%	42%
Sphærospidales	2 4%	10 20%	30 61%	7 14%	53%
Ascomycètes	15 14%	44 42%	41 39%	5 5%	38%
Mucédinacées (<i>Aspergillus</i>)	9 12%	11 15%	46 63%	7 10%	52%
Mucédinacées (<i>Penicillium</i>)	10 6%	34 20%	110 64%	17 10%	54%
Mucédinacées (autres)	22 14%	50 31%	75 46%	14 9%	
Mucédinacées totales	41 10%	95 24%	221 56%	38 10%	53%
Agonomycètes		1 25%	2 50%	1 25%	

2. 4. Conclusion

Sur l'ensemble des 989 souches étudiées nous trouvons 77 souches ayant un taux de disparition du PCP supérieur à 80% (Tab. 14). Ces souches performantes appartiennent pour l'essentiel au groupe des Deutéromycètes. Notons que la disparition du PCP par Ascomycètes, Basidiomycètes, Levures et Deutéromycètes dépend pour une large part du groupe taxonomique. Ce constat avait déjà été fait pour les Zygomycètes (SEIGLE-MURANDI *et al.*, 1992). La disparition du PCP dépend fortement du genre, et à l'intérieur d'un même genre de l'espèce.

Mais les seules considérations taxonomiques ne sont pas suffisantes pour déterminer l'aptitude des souches à dégrader le PCP. Nous en voulons pour preuve les nombreuses différences significatives entre isolats appartenant à la même espèce mais d'origine écologique différente, comme on le voit pour *A. parasiticus* et de *P. aurantiogriseum* (Fig. 12 &13). Ce facteur écologique qu'est l'origine de l'isolat doit être aussi pris en compte. Ainsi facteurs biotiques et abiotiques interfèrent avec les conditions d'expérimentation pour déterminer l'aptitude à la biodégradation.

Le mécanisme de la disparition du PCP du milieu de culture par les micromycètes n'est pas encore bien compris. S'il est possible que pour certains groupes comme les Basidiomycètes la production de POx joue un rôle favorable (MILESKI *et al.*, 1988), pour d'autres comme les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Levures et les Deutéromycètes, elle ne semble avoir aucun impact positif. Un autre système de dégradation serait donc responsable de la dégradation du PCP par les micromycètes et reste donc à élucider.

Nous n'avons pas à cette étape de notre travail, essayé d'identifier les produits de dégradation mais ils restent d'un niveau très faible (3 à 4 %). La plupart des composés sont plus polaires que le PCP et ont les mêmes temps de rétention que les tétrachlorodiphénols et l'acide tétrachloromuconique. Bien que la méthylation soit la 1^{ère} réaction invoquée dans le métabolisme du PCP par les micromycètes, nous n'avons trouvé que des traces de PCA (0,5 %).

La présence de ces produits de dégradation montre que nous sommes en présence d'une biodégradation primaire ou fonctionnelle. Une telle approche est *de facto* insuffisante à cause des possibilités de bioactivation qui ne sont pas à écarter tant qu'on a pas mis en évidence une biodégradation totale. Aussi nous envisageons une étude complémentaire sur l'évolution de la toxicité en cours de dégradation.

Deux principales voies de recherche s'ouvrent donc pour la suite de nos travaux. Elles feront l'objet des prochains chapitres. Ce sont :

- L'étude du système de dégradation du PCP par les micromycètes.
- L'étude de l'évolution de la toxicité en cours de dégradation.

CHAPITRE 3

**ÉTUDE DU SYSTÈME DE DÉGRADATION DU
PCP PAR LES MICROMYCÈTES. ÉTUDE
PARTICULIÈRE DES DEUTÉROMYCÈTES**

- 3. 1. INTRODUCTION

- 3. 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES
 - 3. 2. 1. Microorganismes
 - 3. 2. 2. Appareillage et produits utilisés
 - 3. 2. 3. Conditions de culture et d'ensemencement
 - 3. 2. 3. 1. Ensemencement
 - 3. 2. 3. 2. Production de biomasse morte
 - 3. 2. 3. 3. Production de biomasse lyophilisée de *C. arbuscula*
 - 3. 2. 4. Extraction et dosage

- 3. 3. RÉSULTATS
 - 3. 3. 1. Comparaison entre ensemencements massif et homogénéisé
 - 3. 3. 2. Étude cinétique de la disparition du PCP
 - 3. 3. 3. Étude du mécanisme de la disparition du PCP
 - 3. 3. 3. 1. Chez des Deutéromycètes
 - 3. 3. 3. 2. Avec un Basidiomycète : *Phanerochaete chrysosporium*
 - 3. 3. 3. 3. Avec un Zygomycète : *Rhizopus arrhizus*
 - 3. 3. 3. 4. Comparaisons

- 3. 4. CONCLUSION

3. 1. INTRODUCTION

Au vu des résultats intéressants du screening (chapitre 2), le GEDEXE a entrepris une étude plus approfondie sur la disparition du PCP par les souches les plus performantes des micromycètes. Celles-ci appartiennent pour l'essentiel aux classes des Zygomycètes et des Deutéromycètes. Les travaux de Bernadette ONOCHIE-OKEKE ont porté sur les souches performantes de la classe des Zygomycètes (ONOCHIE-OKEKE *et al.*, 1991 ; ONOCHIE-OKEKE *et al.*, 1993 ; ONOCHIE-OKEKE, 1994). Quant aux nôtres ils portent en priorité sur les souches performantes de la classe des Deutéromycètes (Tab. 15 ; Fig. 15). Le mécanisme de la disparition du PCP y est notamment étudié, d'une part grâce à l'emploi de 2 techniques d'ensemencement influençant l'état physiologique du champignon et d'autre part au moyen de l'utilisation de différentes sortes de biomasse en association à une extraction avec 2 solvants, l'un polaire et l'autre apolaire.

Tableau 15. Nombre de souches constituant chacune des classes de disparition du PCP.

Micromycètes	0-20 %	20-40 %	40-60 %	60-80 %	80-100%
Cœlomycètes	2	12	22	26	2
Dématiacées	20	45	89	75	14
Mucédinacées	24	42	51	41	9
<i>Aspergillus</i>	4	9	19	27	5
<i>Penicillium</i>	7	26	47	74	9
Tuberculariales	11	24	29	14	1

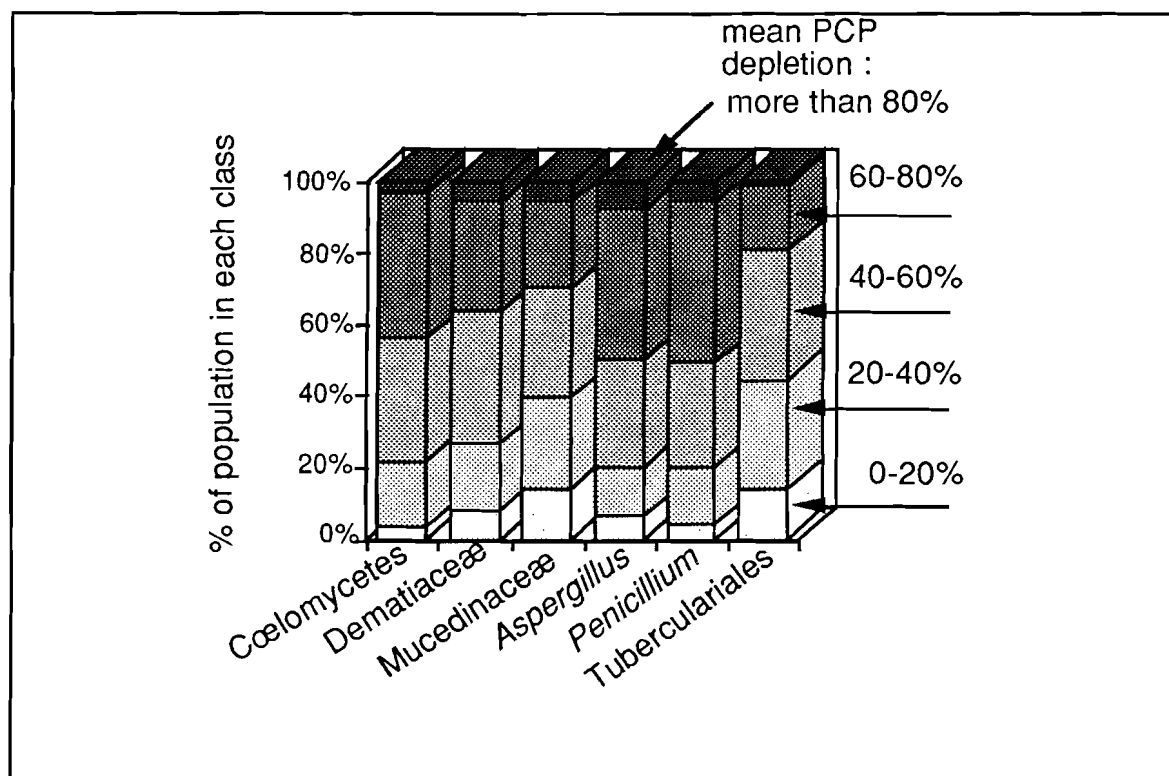


Figure 15. Répartition des classes de disparition du PCP chez les Deutéromycètes.

3. 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

3. 2. 1. Microorganismes

10 souches appartenant à la classe des Deutéromycètes (Tab. 16) ainsi que 3 autres souches (1 Basidiomycète et 1 Zygomycète) sont utilisées pour le présent travail. Leur provenance, leur entretien et leur préculture sont les mêmes qu'aux chapitres 1 et 2.

3. 2. 2. Appareillage et produits utilisés

Un nouvel appareil vient s'ajouter à ceux déjà utilisés dans les chapitres précédents. C'est l'appareil de lyophilisation de marque SECFROID (Lausanne, SUISSE). Les produits utilisés sont les mêmes.

3. 2. 3. Conditions de culture et d'ensemencement

Les conditions de culture sont les mêmes qu'aux chapitres 1 et 2.

3. 2. 3. 1. *Ensemencement*

2 techniques sont utilisées :

- L'ensemencement massif sans homogénéisation qui utilise un inoculum constitué de mycelium + spores comme aux chapitres 1 et 2.
- L'ensemencement avec homogénéisation qui utilise une suspension de mycelium + spores obtenue après broyage à l'Ultra-Turrax. La quantité de biomasse est la même qu'en ensemencement massif.

3. 2. 3. 2. *Production de biomasse morte*

Les fioles d'Erlenmeyer contenant les souches cultivées pendant 2 jours dans du milieu GS + 5 g de glucose L⁻¹ sont ensuite autoclavées pendant 20 mn à 120°C. Cette opération entraîne la mort du champignon. La biomasse obtenue ne repousse plus après repiquage sur le milieu MEA et dans du milieu GS.

3. 2. 3. 3. *Production de biomasse lyophilisée de *C. arbuscula**

Elle se réalise grâce à un ensemencement massif de l'inoculum provenant de 60 boîtes de Pétri dans une fiole d'Erlenmeyer de 3 L contenant 1,5 L de milieu GS + 20 g de glucose par litre. Après 5 jours de culture la biomasse produite est ensuite 3 fois de suite alternativement centrifugée et lavée à l'eau distillée. Le champignon séparé du milieu de culture est ensuite réparti dans des pots destinés à la lyophilisation.

3. 2. 4. Extraction et dosage

L'extraction à l'acétate d'éthyle est quelques fois suivie d'une extraction au méthanol (Fig. 16). Dans l'hypothèse d'une adsorption du PCP sur les parois, cette seconde extraction par un solvant polaire vise en diminuant les forces responsables de l'adsorption, à extraire le PCP adsorbé.

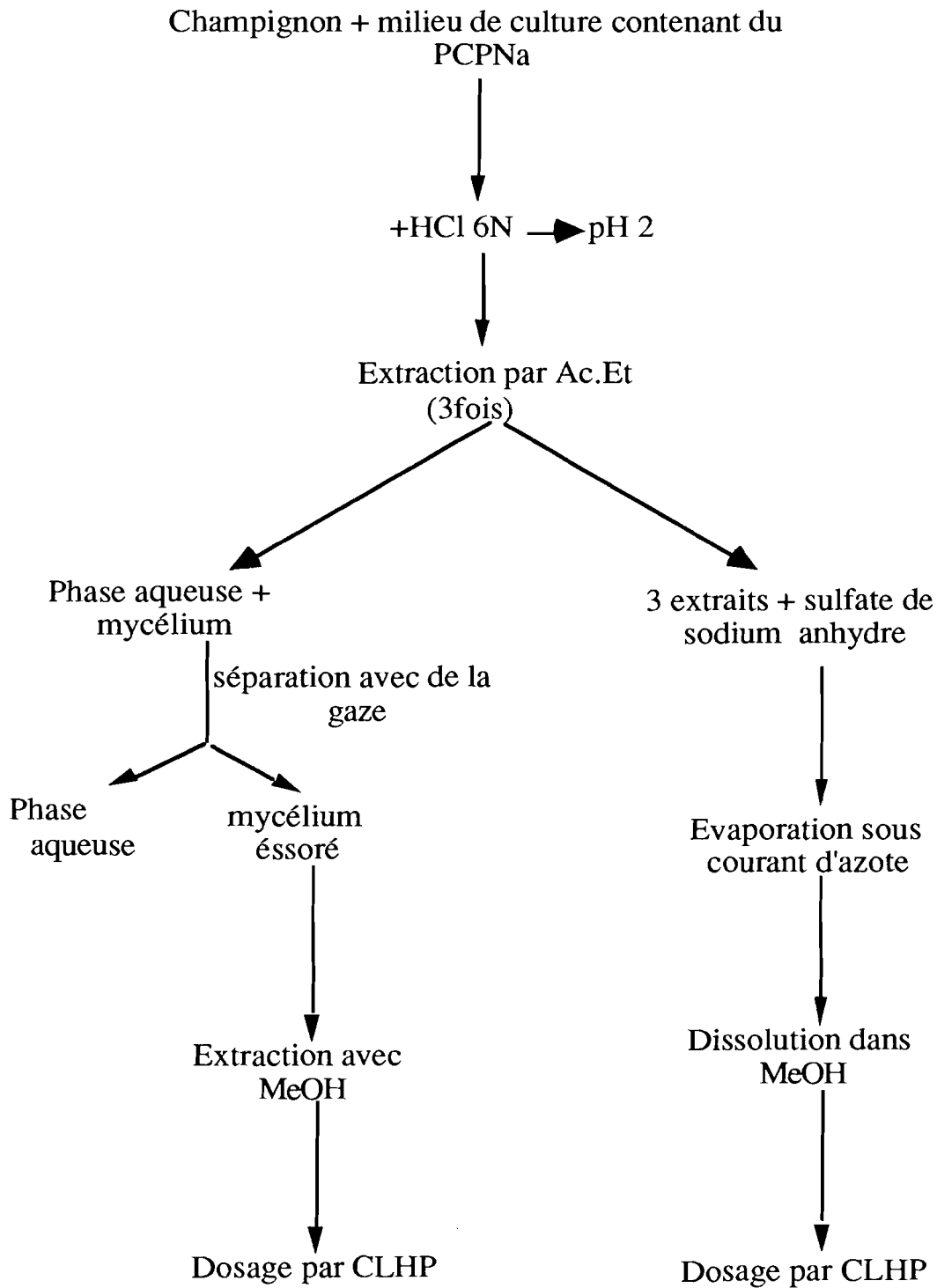


Figure 16. Extraction du PCP par acétate d'éthyle et méthanol suivi du dosage par CLHP.

3. 3. Résultats et discussion

3. 3. 1. Comparaison entre ensemencements non homogénéisés et homogénéisés

Ce travail est réalisé avec 10 souches de Deutéromycètes (Tab. 16). Pour toutes les 10 souches, la disparition du PCP dans le cas de l'ensemencement non homogénéisé est significativement supérieure à la disparition observée en ensemencement homogénéisé (Tab. 17). Cette différence varie de 26 % avec *E. purpurascens* à 66% avec *O. echinulatum*. A l'exception de *A. parasiticus* et *Coniothyrium sp.*, l'essentiel de la disparition du PCP en ensemencement massif est obtenu au bout de 24 heures. En général les résultats varient très peu de 24 h à 120 h. Les taux de disparition obtenus en ensemencement homogénéisé sont non seulement faibles mais souvent hétérogènes.

Bien que l'homogénéisation permette de mettre en œuvre un même volume d'inoculum avec plus de précision, il ne permet pas d'avoir des résultats réguliers après 2 jours de culture d'un inoculum obtenu après broyage et homogénéisation à l'Ultra-Turrax. Ces 2 jours de culture semblent insuffisants pour permettre une reprise normale de la vie du champignon. Cette hypothèse est corroborée par le fait qu'il n'y a aucune formation d'amas mycélien chez toutes les souches avec cette technique alors que cette formation d'amas mycélien est effective chez presque toutes en cas d'ensemencement massif. Cette rapide formation d'amas mycélien en ensemencement massif pourrait avoir une grande influence sur la disparition du PCP (ONOCHIE-OKEKE *et al.*, 1993).

Nous observons comme DEVILLERS *et al.*, (1991) ; TOÉ *et al.*, (1992), le comportement différent entre 2 isolats d'une même souche mais d'origines écologiques différentes en ce qui concerne la disparition du PCP (2 isolats de *C. arbuscula*).

Tableau 16. Souches de Deutéromycètes utilisées.

Nom de la souche	Classe
<i>Acremonium roseum</i>	Mucédinacée
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Mucédinacée
<i>Calcarisporium arbuscula</i> (souches 1 et 2)	Mucédinacée
<i>Coniothyrium sp.</i> (souches 1 et 2)	Sphærospidale
<i>Epicoccum purpurascens</i>	Dématiacée
<i>Myrothecium gramineum</i>	Dématiacée
<i>Oidiodendron echinulatum</i>	Dématiacée
<i>Penicillium cyaneum</i>	Mucédinacée

Tableau 17. Comparaison entre ensemencements massif et homogénéisé avec 10 souches de Deutéromycètes.

* = résultats du screening Chapitre 2.

17a. Résultats avec *E. purpurascens*.

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	78,6	53,6
2 jours	71,0	54,4
3 jours	75,1	52,2
4 jours	72,2	52,3
5 jours	76,4 (88*)	50,4

17b. Résultats avec *C. arbuscula* (souche 1).

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	80,1	53,5
2 jours	84,6	46,9
3 jours	85,4	44,5
4 jours	86,5	51,7
5 jours	85,7 (90*)	46,1

17c. Résultats avec *Coniothyrium sp* (souche 1).

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	71,6	27,8
2 jours	67,8	39,1
3 jours	65,3	35,3
4 jours	70,7	38,2
5 jours	69,4 (90*)	37,4

17d. Résultats avec *Coniothyrium sp* (souche 2).

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	53,2	23,9
2 jours	62,7	30,8
3 jours	64,6	39,6
4 jours	62,6	33,7
5 jours	67 (89*)	40,7

17e. Résultats avec *O. echinulatum* .

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	89,1	30,0
2 jours	90,0	24,7
3 jours	89,6	27,9
4 jours	91,0	29,0
5 jours	91,6 (90*)	25,3

17f. Résultats avec *C. arbuscula* (souche 2).

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	69,7	54,6
2 jours	67,3	51,4
3 jours	73,8	45,4
4 jours	76,0	52,0
5 jours	76,0 (90*)	52,3

17g. Résultats avec *A. parasiticus*.

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	69	55,6
2 jours	81	48,9
3 jours	90	60,1
4 jours	69	57,0
5 jours	88 (96*)	50,3

17h. Résultats avec *A. roseum*.

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	64,7	59,9
2 jours	71,2	39,6
3 jours	69	41,8
4 jours	74,5	50,3
5 jours	64,7 (90*)	29,7

17i. Résultats avec *P. cyaneum*.

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	79,6	46,5
2 jours	82,2	35,0
3 jours	81,2	40,9
4 jours	77,3	29,4
5 jours	74,9 (89*)	33,9

17j. Résultats avec *M. gramineum*.

Temps	ensemencement massif	ensemencement homogénéisé
1 jour	76,3	51,1
2 jours	79,6	49,7
3 jours	75,6	58,3
4 jours	78,3	46,3
5 jours	81,8 (89*)	49,0

3. 3. 2. Étude cinétique de la disparition du PCP

Deux souches ont été choisies de façon aléatoire parmi les meilleures et soumises à des essais cinétiques : *Calcarisporium arbuscula* (souche 1) et *Oidiodendron echinulatum*. L'étude a été conduite sur des temps courts (0 à 24 heures) et des temps longs (0 à 5 jours). Les résultats (Fig. 17 et 18) sont exprimés en mg L⁻¹ de PCP restant dans le milieu de culture. L'étude sur les temps courts (Fig. 14) montre qu'au bout de 8 heures de culture, *C. arbuscula* a fait disparaître 40 % de la concentration initiale de PCP, *O. echinulatum* 15 %. Une étude similaire réalisée précédemment chez les Zygomycètes montrait au bout d'une heure une disparition du PCP atteignant 71 % avec *Cunninghamella elegans* (ONOCHIE-OKEKE *et al.*, 1991). Au bout de 24 heures, il reste 60 % du PCP initial dans le cas d'*O. echinulatum* alors qu'il n'en reste que 26 % en ce qui concerne *C. arbuscula*. La dégradation abiotique est pratiquement nulle au bout de 24 heures (2 %). L'étude sur les temps longs (Fig. 15) montre que 53 % du PCP ont disparu après 48 heures en présence de *Oidiodendron echinulatum*, et cette valeur varie très peu jusqu'à 5 jours (64 %). Avec *C. arbuscula*, 83 % ont disparu après 48 heures et ce pourcentage augmente pour atteindre 88 % après 5 jours de culture. La photodégradation est négligeable et tourne autour de 10 % au 5^{ème} jour. Les résultats obtenus montrent une plus grande efficacité pour *C. arbuscula* puisque dès 24 heures 74 % du PCP ont déjà disparu.

La rapide disparition du PCP du milieu de culture, pour efficace qu'elle soit, pose le problème fondamental du mécanisme de cette disparition. Plusieurs mécanismes existent allant de pures interactions physico-chimiques comme l'adsorption sur les parois cellulaires (LIN *et al.*, 1990) aux mécanismes complexes dépendant du métabolisme comme le transport, la précipitation extracellulaire par des métabolites excrétés (GADD, 1988 ; FOUREST et ROUX, 1992).

3. 3. 3. Etude du mécanisme de la disparition du PCP.

3. 3. 3. 1. Chez des *Deutéromycètes*

- Biomasse vivante de *C. arbuscula*. (Tab. 18 et Fig. 19). la quantité de PCP extraite par l'acétate d'éthyle très importante au début, décroît d'abord rapidement jusqu'à 120 h, puis plus lentement. En revanche, la quantité de PCP extraite par le méthanol est très faible au début, elle augmente de 0 à 8 h puis se stabilise autour de 35 mg L⁻¹ entre 8 h et 120 h, en faisant un palier. L'extraction totale (acétate d'éthyle + méthanol) montre que la disparition du PCP atteint 35 % à 48 h, 47 % à 120 h et finalement après 480 h (20 j) atteint 66%. Cette augmentation de la disparition du PCP avec la biomasse vivante (entre 120 h et 480 h) est accompagnée d'une apparition de nouveaux produits sur le chromatogramme. Ils ont les mêmes temps de rétention que les trichlorophénols et les dichlorophénols.
- Biomasse morte de *C. arbuscula*. (Tab. 19 et Fig. 20). Durant toute l'étude la quantité de PCP extraite à l'acétate d'éthyle reste importante, elle chute cependant brutalement de 0 h à 24 h puis reste voisine de 30 mg L⁻¹. Quant à la quantité extraite au méthanol, elle varie très peu de 2 h à 120 h et reste comprise entre 20 et 25 mg L⁻¹. L'extraction totale donne une disparition significative du PCP dès 8 h (35 %), elle atteint 45 % au bout de 120 h. Dans ce cas, la manipulation ne peut être poursuivie au delà de 120 h, la biomasse morte commençant à se dénaturer.
- Biomasse lyophilisée de *C. arbuscula* (Tab. 20 & Fig. 21). Les résultats sont très proches de ceux obtenus avec la biomasse morte. Cependant les quantités recueillies par extraction par le méthanol reste un peu plus faibles. La disparition totale du PCP est d'environ 34 % dès 8 h et varie très peu jusqu'à 120 h.

Quelle que soit le type de biomasse utilisée, avec *C. arbuscula* on obtient une disparition du PCP qui après 120 h atteint 47 % avec la biomasse vivante, 45 % avec la biomasse morte et 38 % avec la biomasse lyophilisée (figure 22). Jusqu'à 120 h. La différence reste faible entre les 3 types de biomasse.

Si nous comparons les quantités de PCP extraites de la biomasse vivante par l'acétate d'éthyle à celles obtenues dans nos travaux antérieurs (Chap. 1 et 2) elles sont très voisines.

Dans une étude de mise au point de la méthodologie nous avons aussi extrait le PCP de la biomasse vivante de *Oidiodendron echinulatum* avec de l'acétate d'éthyle et du méthanol.

Nous avons obtenu un taux de disparition du PCP de 47 % au bout de 48 h et de 53 % au bout de 120 h. Nous pouvons donc dire qu'il existe chez ces 2 souches performantes de Deutéromycètes une réelle disparition du PCP.

Tableau 18. Disparition du PCP avec la biomasse vivante de *C. arbuscula* (quantité de PCP résiduel en mg L^{-1}).

Temps (h)	acétate d'éthyle	méthanol	Acétate d'éthyle + méthanol
0	89,5	4,8	94,3
2	69,8	16,7	86,5
8	58,6	29,8	84,4
24	51,6	30,6	82,2
48	30,0	35,0	65,0
120	20,9	31,7	52,6
240	17,6	36,8	54,5
480	7,1	26,5	33,6

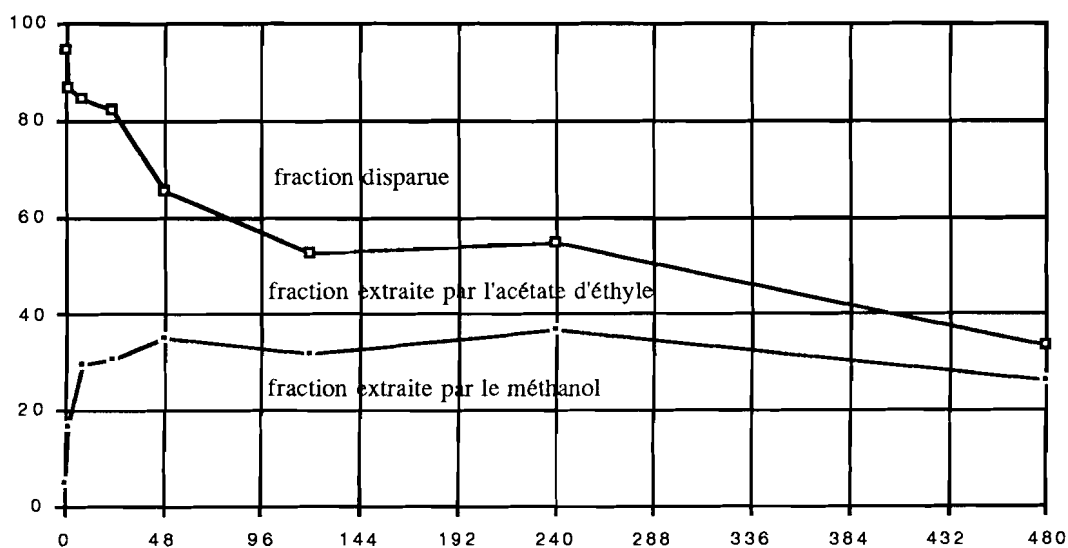


Figure 19. Disparition du PCP en présence de biomasse vivante de *C. arbuscula*.

Tableau 19. Disparition du PCP avec la biomasse morte de *C. arbuscula* (quantité de PCP résiduel en mg L⁻¹).

Temps (h)	acétate d'éthyle	méthanol	Acétate d'éthyle + méthanol
0	91,0	3,4	94,4
3	71,2	22,5	93,7
6	44,8	20,9	65,7
24	33,6	21,6	66,4
48	30,0	26,0	56,0
120	28,8	26,3	55,1

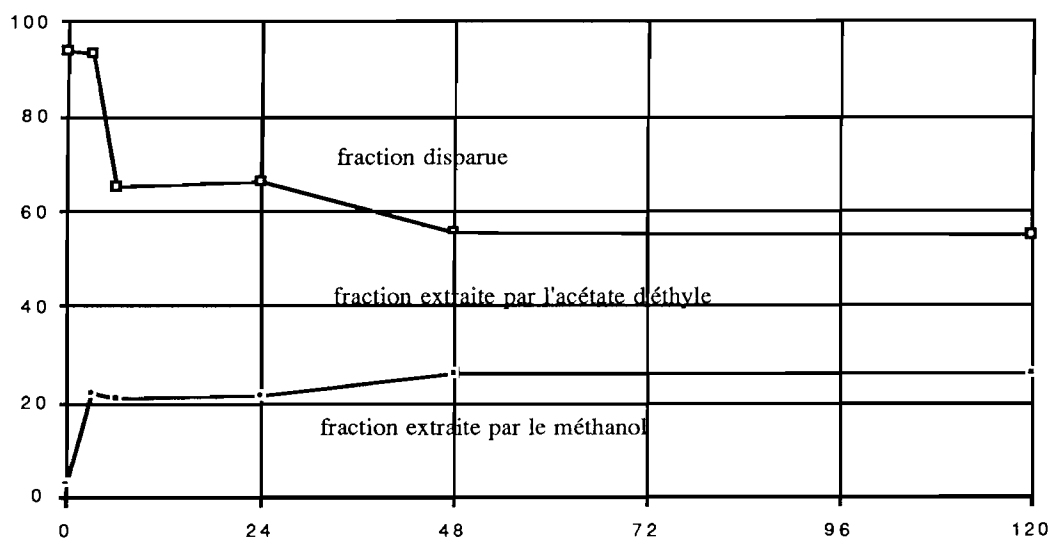


Figure 20. Disparition du PCP en présence de biomasse morte de *C. arbuscula*.

Tableau 20. Disparition du PCP avec la biomasse lyophilisée de *C. arbuscula* (quantité de PCP résiduel en mg L⁻¹).

Temps (h)	acétate d'éthyle	méthanol	Acétate d'éthyle + méthanol
0	90,1	2,6	92,7
3	71,8	6,8	78,6
6	57,4	8,9	66,5
24	51,4	13,2	64,6
48	47,5	13,5	61,0
120	49,2	12,7	61,9
240	65,0	7,9	62,9

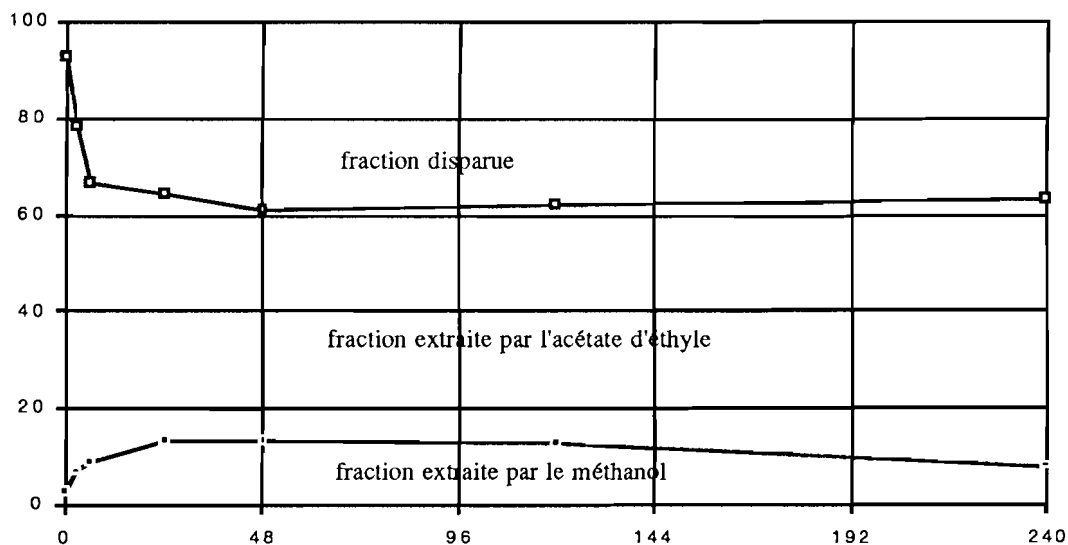


Figure 21. Disparition du PCP en présence de biomasse lyophilisée de *C. arbuscula*.

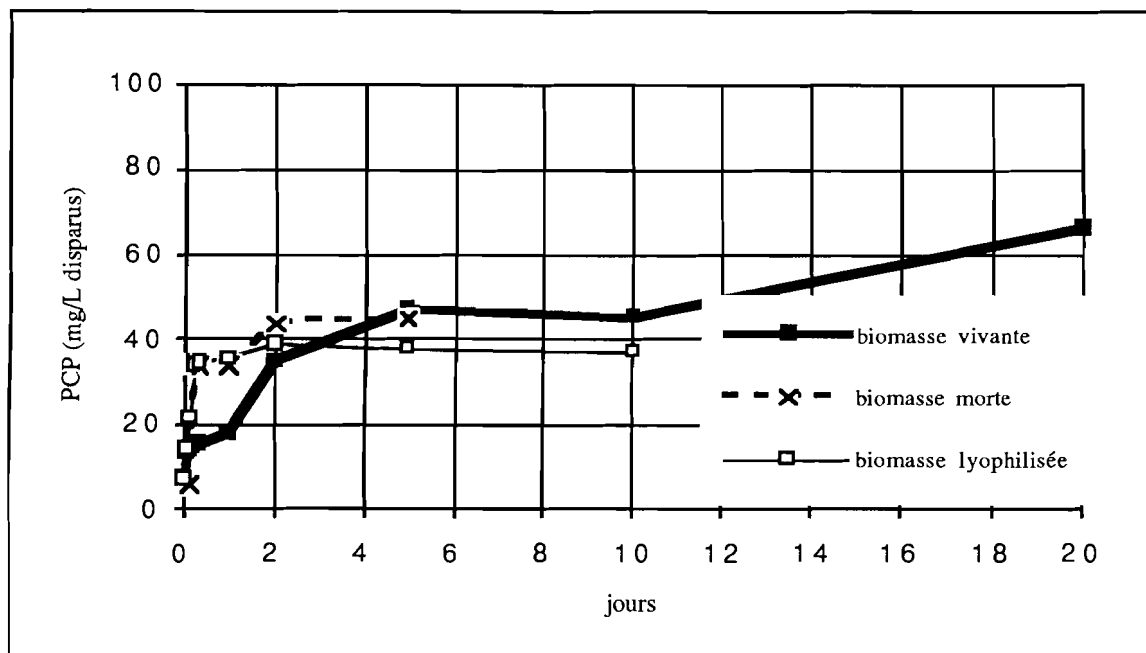


Figure 22. Disparition du PCP en présence de *C. arbuscula*. Comparaison des résultats obtenus avec les différents types de biomasse.

3. 3. 3. 2. Avec un Basidiomycète : *Phanerochæte chrysosporium*

Nous avons aussi étudié le mécanisme de la disparition du PCP avec les 3 types de biomasse appartenant à ce micromycète. La disparition du PCP est négligeable et nous ne notons pas de différence significative entre les résultats obtenus avec les 3 types de biomasse.

3. 3. 3. 3. Avec un Zygomycète : *Rhizopus arrhizus*

Avec la biomasse vivante (Tab. 21 et Fig. 23) de ce champignon, on remarque une disparition rapide du PCP dès le premier prélèvement. Elle se stabilise ensuite à environ 20% de disparition. Les résultats obtenus avec les biomasses morte et lyophilisée de *R. arrhizus* (Tab. 22 ; 23 et Fig. 24 ; 25) sont très semblables entre eux mais sont par contre assez différents de ceux obtenus avec la biomasse vivante (Fig. 26). Il n'y a pas de différences significatives au seuil $P = 0,05$ entre les quantités totales extraites.

Tableau 21. Disparition du PCP avec la biomasse vivante de *R. arrhizus* (quantité de PCP résiduel en mg L⁻¹).

Temps (h)	acétate d'éthyle	méthanol	Acétate d'éthyle + méthanol
0	91,5	4,5	96,0
3	31,2	26,0	57,2
6	29,0	23,4	52,3
24	40,5	20,7	61,2
48	49,5	20,4	69,9
72	24,3	45,7	70,0
120	26,7	52,0	78,7
240	41,4	36,8	78,2

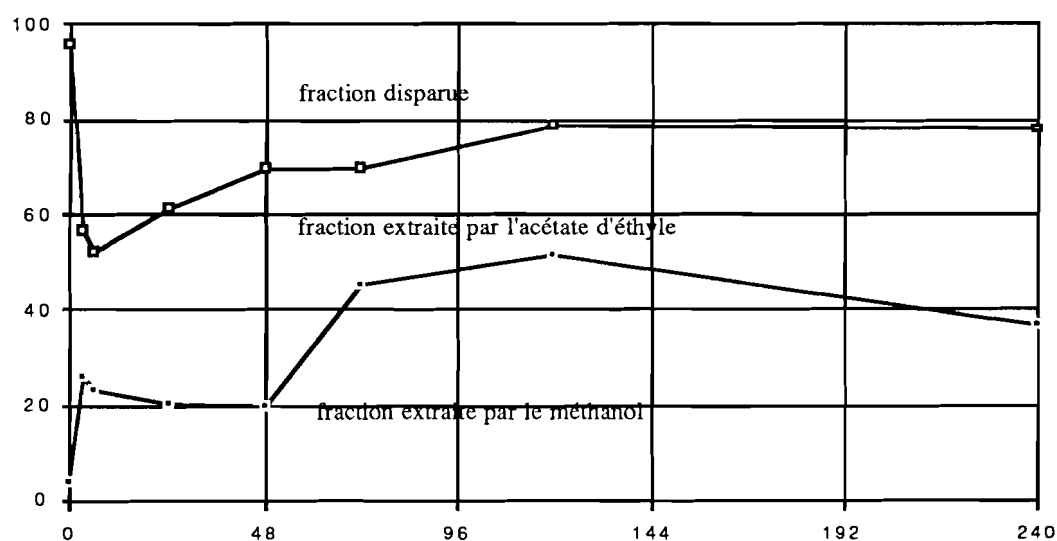


Figure 23. Disparition du PCP en présence de biomasse vivante de *R. arrhizus*.

Tableau 22. Disparition du PCP avec la biomasse morte de *R. arrhizus* (quantité de PCP résiduel en mg L⁻¹).

Temps (h)	acétate d'éthyle	méthanol	Acétate d'éthyle + méthanol
0	93,3	1,9	95,3
3	75,3	17,9	93,2
6	76,7	17,1	93,8
24	82,3	17,7	100,1
48	75,7	14,9	90,6
72	84,3	14,2	98,5
120	82,1	14,6	96,7
240	86,2	13,1	99,2

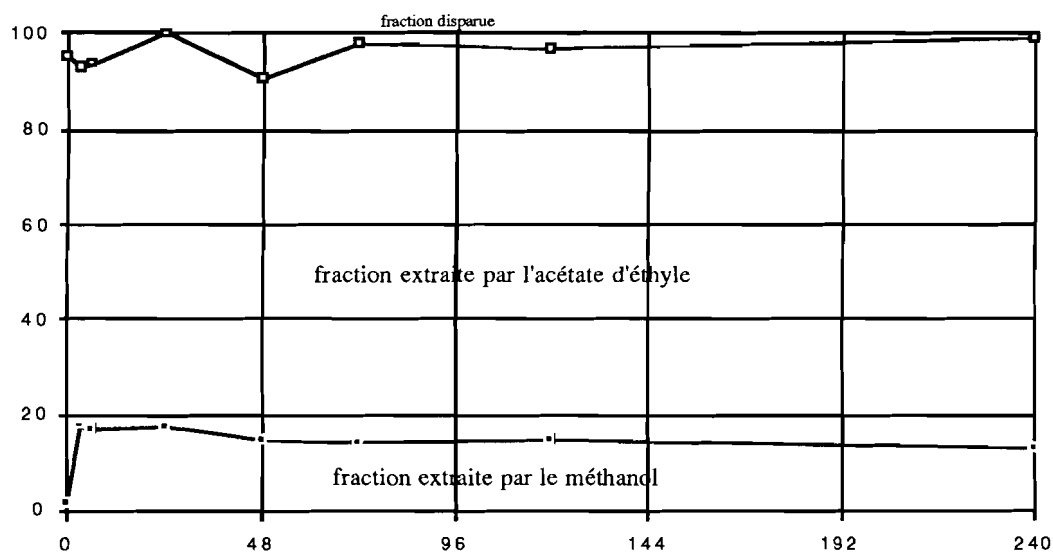


Figure 24. Disparition du PCP en présence de biomasse morte de *R. arrhizus*.

Tableau 23. Disparition du PCP avec la biomasse lyophilisée de *R. arrhizus* (quantité de PCP résiduel en mg L⁻¹).

Temps (h)	acétate d'éthyle	méthanol	Acétate d'éthyle + méthanol
0	89,6	6,0	95,7
3	73,2	16,5	89,7
6	62,9	29,4	92,3
24	60,6	25,0	85,6
48	63,8	34,4	98,2
72	73,6	21,0	94,6
120	73,2	26,5	99,7
240	84,9	5,4	90,3

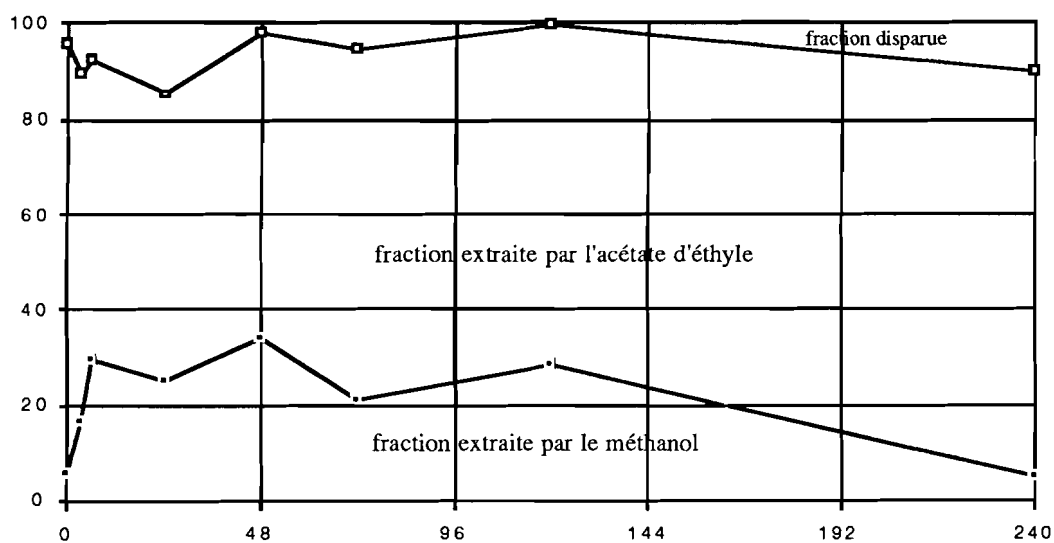


Figure 25. Disparition du PCP en présence de biomasse lyophilisée de *R. arrhizus*.

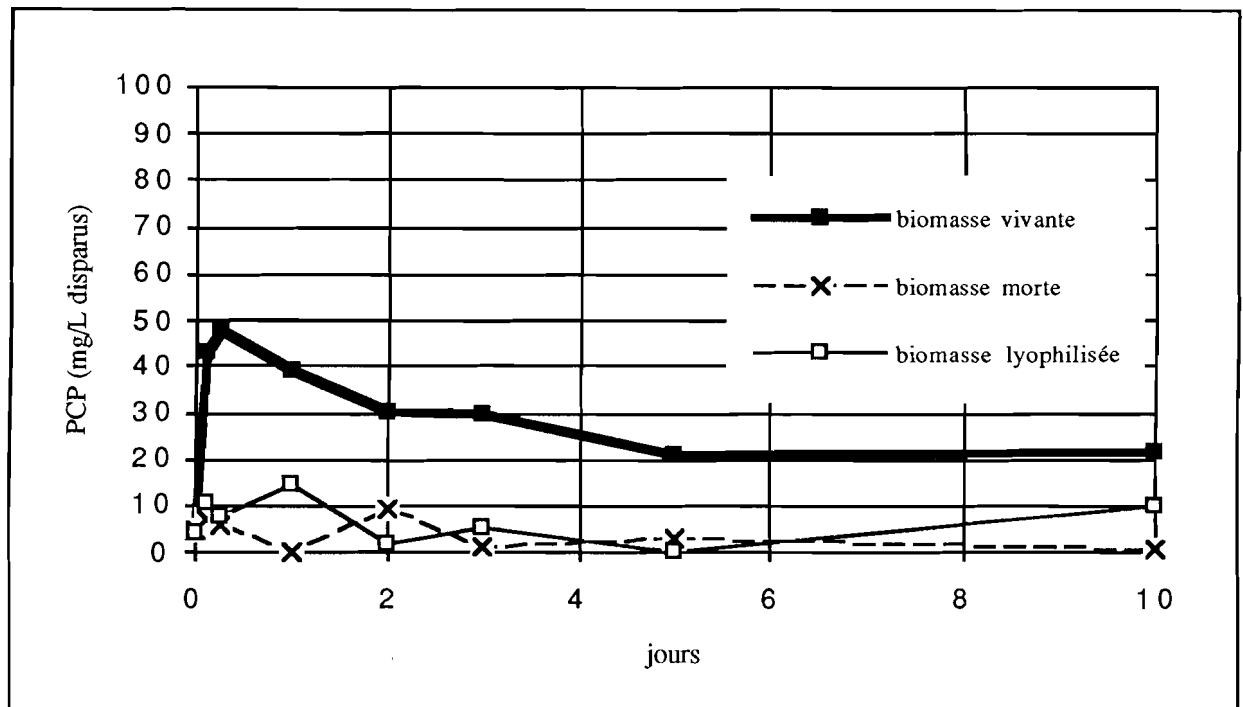


Figure 26. Disparition du PCP en présence de *R. arrhizus*. Comparaison des résultats obtenus avec les différents types de biomasse.

3. 3. 3. 4. Comparaisons

En comparant les résultats obtenus avec les biomasses de *C. arbuscula*, *R. arrhizus* et *P. chrysosporium*, il n'y a que chez le Deutéromycète *C. arbuscula* que la disparition du PCP est significative et ce avec les 3 types de biomasse. Chez les 2 autres souches elle est négligeable, sauf avec la biomasse vivante de *R. arrhizus*.

Des travaux réalisés avec le Zygomycète *C. elegans* (ONOCHIE-OKEKE *et al.*, 1993), montrent également une faible disparition du PCP avec la double extraction quelle que soit le type de biomasse utilisé.

Hormis le cas de *R. arrhizus*, nos résultats ne nous permettent pas de hiérarchiser les performances des 3 types de biomasse utilisés. TSEZOS et BELL (1989), travaillant avec de la biomasse vivante ou morte de *R. arrhizus* et ce avec plusieurs molécules avaient aussi abouti à la même conclusion.

Lorsque les champignons sont tués par la chaleur (à l'autoclave), on peut toujours craindre qu'une dénaturation de certaines protéines ne modifie leurs propriétés, en particulier d'adsorption. C'est pourquoi la lyophilisation avait été retenue comme méthode alternative permettant d'inhiber la biodégradation en dehors de ses avantages certains tels que protection de la contamination durant la conservation, longue viabilité et facilités de manipulation (BERNY et HENNEBERT, 1991 ; TAN *et al.*, 1991 ; SMITH et ONIONS, 1983) elle ne semble pas jouer un rôle particulièrement favorable dans la disparition du PCP.

Si maintenant nous comparons les résultats de ce chapitre à ceux du chapitre 2, l'extraction du PCP avec les 2 solvants permet une bien meilleure extraction du PCP que l'extraction classique à l'acétate d'éthyle seul. L'extraction supplémentaire au méthanol permet donc de mieux extraire le PCP adsorbé voire même absorbé. La performance de cette seconde extraction pourrait varier selon les classes de micromycètes et ce vraisemblablement en fonction de leur aptitude à la biosorption (adsorption + absorption). La rapide disparition du PCP du milieu de culture constatée lors du screening grâce à l'extraction par l'acétate d'éthyle serait en grande partie de la biosorption. Le taux de biodégradation réel est généralement faible au bout de 120 h mais en continuant jusqu'à 480 h il pourrait augmenter de façon très significative et ce au détriment de celui de la biosorption. La biosorption est un mécanisme très important dans le devenir ultime des xénobiotiques car beaucoup de molécules très récalcitrantes ne peuvent être biodégradées que si elles sont d'abord biosorbées (TSEZOS et WANG, 1991). Le PCP serait du nombre de ces xénobiotiques pour lesquels la biosorption est une étape transitoire importante. Il n'est toujours pas facile de dissocier la biodégradation de la biosorption car très souvent ces 2 processus se déroulent ensemble à des proportions plus ou moins variées. Selon les souches, une rapide formation d'amas mycélien favoriserait par exemple la biosorption.

3. 4. Conclusion

Plusieurs souches de micromycètes parmi lesquelles figurent les Deutéromycètes font disparaître rapidement le PCP du milieu de culture. En plus des facteurs déjà évoqués au chapitre 1 influençant la disparition du PCP (taux de glucose, type d'agitation, concentration en PCP, taille de l'inoculum), l'influence de l'état physiologique de l'inoculum est mis en exergue dans le présent chapitre. Un inoculum constitué de spores + mycelium en ensemencement massif permet une rapide formation d'amas mycélien favorisant la disparition du PCP. Le mécanisme de cette disparition du PCP étudiée grâce à l'extraction avec 2 solvants de polarité différente démontre qu'une grande partie du PCP disparue au bout de 120 h n'est pas biodégradée mais biosorbée. Sur des temps plus longs la biosorption diminuerait en faveur de la biodégradation.

L'utilisation de 3 sortes de biomasse avec des souches de micromycètes appartenant à différentes classes ne permet pas dans la présente étude de hiérarchiser les performances et de tirer des conclusions générales quant à la disparition du PCP.

Vu la performance obtenue chez les Deutéromycètes en ce qui concerne la disparition du PCP, il paraît opportun de suivre l'évolution de la toxicité en cours de dégradation avec ces micromycètes. Cette préoccupation sera prise en compte dans le prochain chapitre.

CHAPITRE 4

**ÉVOLUTION DE LA TOXICITÉ EN
COURS DE DÉGRADATION**

- 4. 1. INTRODUCTION

- 4. 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES
 - 4. 2. 1. Microorganismes
 - 4. 2. 2. Conditions de culture et d'ensemencement
 - 4. 2. 3. Matériel biologique pour l'évaluation de la toxicité
 - 4. 2. 4. Appareillage et produits utilisés

- 4. 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

- 4. 4. CONCLUSION

4. 1. INTRODUCTION

L'essai de biodégradation que nous menons permet essentiellement d'évaluer la biodégradation "primaire" ou fonctionnelle qui consiste très souvent en une dégradation partielle conduisant à des modifications limitées des structures moléculaires. Généralement les métabolites obtenus sont plus hydrosolubles, plus polaires et moins toxiques que la molécule mère (PIERCE et VICTOR, 1978 ; LEBLANC, 1980 ; BENOIT-GUYOD *et al.*, 1984a). Cependant, dans certains cas les métabolites obtenus sont plus persistants, plus biodisponibles et plus dangereux que les substances qui leur ont donné naissance. De telles réactions sont qualifiées de "bioactivation". De nombreux exemples de bioactivation peuvent être trouvés dans la littérature : LU (1992), exploitant les travaux de MAZEL et PESSAYRE (1976), mentionne 36 cas parmi lesquels figure le remarquable exemple de transformation du parathion en paraoxon qui par fixation covalente à la cholinestérase produit une paralysie neuromusculaire. ALLOWAY et AYRES (1993) mentionnent également l'époxydation de l'aldrine en dieldrine. La seconde substance étant plus toxique et plus persistante dans l'environnement que la première.

Toute biodégradation n'est donc pas forcément bénéfique. Aussi est-il vivement recommandé de compléter les essais de biodégradation par l'étude de l'évolution de la toxicité du milieu de culture en cours de dégradation (BOURALY *et al.*, 1987). Généralement, on distingue 2 approches pour l'étude de la toxicité :

- L'une a trait à l'étude de la toxicité individuelle des différents métabolites après leur identification (DETOC, 1988).

- L'autre s'intéresse à l'étude de la toxicité globale du milieu de culture (ANDRÉ, 1983).

Nous avons opté pour la seconde à cause de sa simplicité et de sa rapide mise en oeuvre. Dans le présent, chapitre nous présentons les résultats d'une étude destinée à vérifier si la biodégradation du PCP opérée par des souches performantes ou non de Deutéromycètes est susceptible de donner naissance à des métabolites intermédiaires de forte toxicité.

4. 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

4. 2. 1. Microorganismes

10 souches appartenant à la classe des Deutéromycètes sont utilisées pour le présent travail (Tab. 24). Leur provenance, leur entretien et leur préculture sont les mêmes qu'aux chapitres 1 et 2. Ces 10 souches de Deutéromycètes ont été sélectionnées selon leur performance à faire disparaître le PCP du milieu de culture lors du screening (chapitre 2).

Tableau 24. Micromycètes utilisés avec leur taux de disparition du PCP obtenu lors du screening.

souche utilisée	taux de disparition lors du screening	aptitude à la biodégradation
<i>Calcarisporium arbuscula</i>	90	performante
<i>Oidiiodendron echinulatum</i>	90	performante
<i>Penicillium cyaneum</i>	89	performante
<i>Epicoccum purpurascens</i>	88	performante
<i>Botrytis cinera</i>	54	moyenne
<i>Colletrichum dematium</i>	51	moyenne
<i>Phoma glomerata</i>	45	moyenne
<i>Fusarium solani</i>	9	médiocre
<i>Trichosporon beigeli</i>	5	médiocre
<i>Aureobasidium pullulans</i>	0	médiocre

4. 2. 2. Conditions de culture et d'ensemencement

Les conditions de culture sont les mêmes qu'aux chapitres 1 & 2 à la seule différence que l'ajout du PCPNa au milieu de culture a lieu aux temps : T 0 h ; T 48 h ; T 120 h.

4. 2. 3. Matériel biologique pour l'évaluation de la toxicité et conditions de réalisation

Le choix du matériel biologique s'est porté sur *Artemia salina*, petit crustacé phyllopode de la sous-classe des Branchiopodes, de l'ordre des Anostracés, appelée plus communément " crevette des salines ". Il s'agit du test mis au point par PERSOONE *et al.*, (1980) et standardisé par CALLEJA et PERSOONE, (1992). Ce test a été choisi à cause des nombreux avantages qu'il offre. Il n'est pas besoin de maintenir constamment en vie des espèces vivantes résolvant ainsi un problème majeur dans les tests aquatiques de routine tels que les tests sur daphnie (LIBER et SOLOMON 1994) et sur guppy (BENOIT-GUYOD *et al.*, 1984a ; 1984b). Comme les semences des plantes, les cystes peuvent être conservés durant une longue période sans perte de viabilité et peuvent être mise en route en peu de temps (24 h). Ils fournissent le matériel vivant pour le test à faible prix. Cette technologie a l'avantage de fournir continuellement du matériel vivant de la même constitution génétique, du même stade physiologique et du même âge, autant de facteurs qui accroissent sa précision (répétabilité aussi bonne que reproductibilité).

L'élevage se fait à partir de cystes homogènes, fournis par l'Artemia Reference Center de l'Université de Gand en Belgique et depuis par Creasel Ltd. Fazentenpark 9, 9800 Deinze, Belgique.

Le milieu d'élevage utilisé est de l'eau de mer reconstituée à partir d'une dilution à 35 ‰ avec de l'eau de distribution de Meylan du mélange "Instant Océan" (Aquarium Systems). Pour chaque essai, environ 200 mg de cystes sont rehydratés dans une fiole cylindroconique contenant 200 ml de milieu salin.

Un éclairage latéral (lumière du jour SYLVANIA HF 8 W GROLUX-intensité minimale de 500 lux) est maintenu à température ambiante, le milieu est sous aération douce. Après 24 heures, les nauplii sont transférés dans une autre fiole comprenant 200 ml de milieu avec aération. Les nauplii seront utilisés 24 heures plus tard pour le test de toxicité proprement dit. Durant cette phase, ils passent du stade I au stade II.

Nous avons utilisé 6 concentrations de PCPNa : 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,62 ; 0,31 mg L⁻¹. Pour chaque concentration 2 lots de 10 nauplii sont placés chacun dans 10 ml de solution toxique, dans une boîte de Pétri. Après 24 heures, le nombre de larves vivantes est déterminé par comptage dans chaque boîte. Par simple soustraction nous obtenons le nombre de larves mortes qui est utilisé pour la détermination de la CI 50 sur *A. salina*. La toxicité globale de la solution au cours de la dégradation du PCP par les micromycètes

est évaluée grâce à un logiciel qui permet une analyse Probit au seuil P 0,05. La CI50 est exprimée en mg de PCP présent au temps 0 par litre de milieu.

4. 2. 4. Appareillage et produits utilisés

Les produits utilisés sont les mêmes qu'aux chapitres précédents.

4. 3. Résultats et discussion

Les résultats détaillés sont donnés dans le tableau 25 et les valeurs des CI50 dans le tableau 26.

On constate tout d'abord que la toxicité du milieu contenant du PCPNa sans champignon n'évolue pas de façon significative entre 0 et 120 h dans les conditions où est faite la culture (tableau 25).

En ce qui concerne les milieux avec champignon, on constate que parmi les 4 souches essayées possédant un fort pouvoir dégradant, 3 ne semblent pas former de composés de dégradation intermédiaires toxiques à partir du PCP : il s'agit de *Calcarisporium arbuscula*, *Oidiodendron echinulatum* et *Epicoccum purpurascens*. En effet, après 120 heures, il ne reste plus qu'environ 10 % du PCP et la CI50 exprimée en mg de PCP de départ augmente fortement elle est de 3 à 6,7 fois plus élevée que celle du témoin PCPNa. Par contre, on peut observer qu'avec *Penicillium cyaneum*, la forte CI50 obtenue à T 0 h a fortement diminué à 120 h (diminution de 45 %) indiquant une augmentation de la toxicité. Malgré cette augmentation de la toxicité, la CI 50 à 120 h est 3 fois plus élevée que celle du témoin PCPNa.

Avec les 3 souches possédant un pouvoir de dégradation moyen, la présence de 2 d'entre elles, se traduit par une diminution de la toxicité du milieu de culture. Les CI 50 obtenues sont 3 à 4 fois plus élevées que celle du témoin à 120 h. Il s'agit de *B. cinera* et de *P. glomerata*. En revanche, on note une augmentation de la toxicité avec *C. dematium* et ce à T 0h et T 48 h.

Pour les 3 souches possédant un faible pouvoir de dégradation, la présence de 2 d'entre elles (*Fusarium solani*, *Trichosporon beigelii*) permet d'obtenir une diminution de la toxicité du milieu. Les CI 50 obtenues sont 2 à 3 fois plus élevées que celle du témoin à 120h. La présence de *Aureobasidium pullulans* ne permet ni une diminution de la toxicité ni son augmentation.

Parmi les 10 souches utilisées 7 d'entre elles entraînent une forte diminution de la toxicité. 4 sont des souches performantes dans la disparition du PCP, 2 des souches moyennement performantes et une souche médiocre. Parmi les souches performantes, l'augmentation de la toxicité de 0 h à 120 h avec *P. cyaneum* même si elle n'est pas préoccupante (comparée au témoin) suscite tout de même des interrogations. Elle peut être due à l'apparition de métabolites plus toxiques que le PCP ou à l'excrétion de mycotoxines. Nous ne nous sommes pas intéressés à l'étude individuelle de la toxicité des différents métabolites car différents auteurs l'ont déjà fait (ANDRE, 1983 ; DETOC, 1988) et d'autres ont même étudié les différentes voies de métabolisation du PCP par les micromycètes (Fig. 27) (KAUFMAN, 1978 ; ENGELHARDT *et al.*, 1986 ; MESPLONT, 1989). Nous avons néanmoins suivi l'apparition des produits sur le chromatogramme et n'avons décelé aucune apparition de nouveaux produits du T 0 h à 120 h ce qui nous permettait d'exclure une augmentation de la toxicité due à des métabolites de haute toxicité. Nous nous sommes par la suite intéressés à une possible production de mycotoxines. L'évaluation de la toxicité du milieu de culture en présence de *P. cyaneum* en l'absence de PCPNa (Tab. 27) montre une nette augmentation de la toxicité du milieu sans PCPNa de 48 h à 120 h ce qui milite bien en faveur d'une possible production de mycotoxines. Les travaux de OKEKE *et al.*, (1993) montrent que certaines souches de *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines comme la patuline.

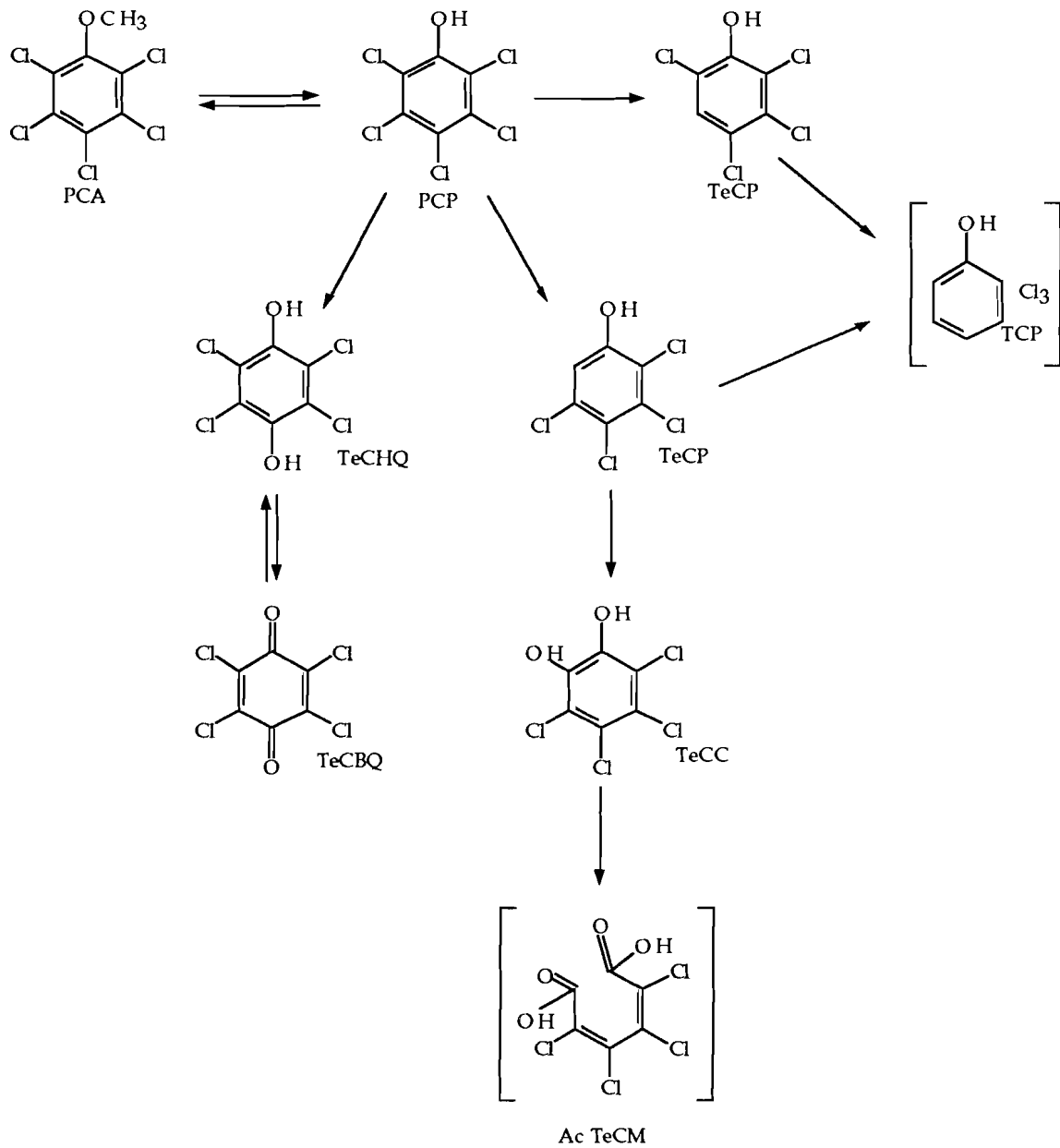


Figure 27. Voies de dégradation du PCP par les micromycètes.

(KAUFMAN, 1978 ; ENGELHARDT *et al.*, 1986 et MESPLONT, 1989)

Tableau 25. Taux d'*Artemia salina* immobilisés par des dilutions de milieu de culture contenant du PCPNa (mg L⁻¹) en présence de différentes souches de micromycètes.

Témoin PCPNa	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	100	73	33	30	23	1,35
T 48 h	100	100	70	45	30	20	1,26
T 120 h	100	100	72	39	29	21	1,31
<i>Calcarisporium arbuscula</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	100	40	25	15	5	3,53
T 48 h	100	70	30	10	10	8	3,75
T 120 h	100	30	17	10	8	5	5,02
<i>Epicoccum purpurascens</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	100	71	14	10	10	2,06
T 48 h	100	70	20	16	10	8	3,95
T 120 h	100	52	17	15	18	15	3,87
<i>Oidiodendron echinulatum</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	100	52	35	23	9	2,27
T 48 h	100	27	18	16	5	5	4,95
T 120 h	64	13	8	8	5	0	8,79
<i>Penicillium cyaneum</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	50	14	7	5	4	7,12
T 48 h	100	60	20	20	5	5	4,9
T 120 h	100	80	13	10	5	5	3,92
<i>Aureobasidium pullulans</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	100	60	65	25	25	1,01
T 48 h	100	100	60	55	50	25	0,86
T 120 h	100	100	50	25	25	15	1,67

<i>Colletrichum dematium</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T 0 h	100	100	100	85	75	50	0,28
T 48 h	100	100	80	70	65	70	0,12
T.120 h	100	95	35	15	0	0	2,45

<i>Fusarium solani</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	100	65	35	10	5	1,76
T 48 h	100	100	55	20	5	5	2,46
T 120 h	100	100	35	5	5	0	3,97

<i>Trichosporon beigeli</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	100	95	45	15	5	1,12
T 48 h	100	100	75	45	20	15	1,29
T 120 h	100	95	30	5	0	0	2,82

<i>Phoma glomerata</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	31	19	25	20	13	4,69
T 48 h	100	80	25	25	22	25	4,41
T 120 h	100	25	15	10	10	5	5,7

<i>Botrytis cinerea</i>	10	5	2,5	1,2	0,6	0,3	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	100	75	35	20	5	0	2,96
T 48 h	100	65	40	15	10	0	3,35
T 120 h	100	65	20	30	5	5	3,87

Tableau 26. Évolution de la toxicité sur *Artemia salina* des milieux de culture contenant du PCP (mg L⁻¹) en présence de différentes souches de micromycètes : CI₅₀ obtenus aux temps 0 h ; 48 h ; 120 h.

	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹) 0 h	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹) 48 h	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹) 120 h
Témoin PCP	1,35	1,26	1,31
<i>Calcarisporium arbuscula</i>	3,53	3,75	5,02
<i>Oidiodendron echinulatum</i>	2,27	4,95	8,79
<i>Penicillium cyaneum</i>	7,2	4,9	3,92
<i>Epicoccum purpurascens</i>	2,06	3,95	3,87
<i>Botrytis cinerea</i>	2,96	3,35	3,87
<i>Colletrichum dematium</i>	0,28	0,12	2,45
<i>Phoma glomerata</i>	4,69	4,41	5,7
<i>Fusarium solani</i>	1,76	2,46	3,97
<i>Trichosporon beigeli</i>	1,12	1,28	2,82
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1,01	0,86	1,67

Tableau 27. Taux d'*Artemia salina* immobilisés par des dilutions de milieu de culture de *P. cyaneum* en l'absence de PCPNa.

Témoin <i>P. cyaneum</i>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	PCP : CI 50 (mg L ⁻¹)
T.0 h	50	21	22	5	4	0	12,86
T 48 h	55	15	7	5	4	0	12,56
T 120 h	75	13	8	5	4	0	7,52

4.4. Conclusion

La disparition du PCP opérée par les souches performantes de Deutéromycètes s'accompagne d'une très forte baisse de la toxicité du milieu de culture. Cette évaluation de la toxicité globale du milieu de culture grâce au "test *Artemia*" montre que nous sommes dans une situation de biodégradation bénéfique qui aboutit à une détoxification du produit de départ. Bien que nous n'ayons pas noté de risques de bioactivation, les possibilités de production de mycotoxines par certaines souches restent probables. Il serait par exemple nécessaire de chercher à connaître les probables mycotoxines produites par *P. cyaneum*. Malgré les résultats intéressants obtenus, le "test *Artemia*" bien que standardisé reste largement encore considéré comme un test de screening malgré le nouvel essor que connaît son utilisation grâce aux récentes améliorations telles que :

- Les possibilités de l'utiliser comme un test de toxicité au premier niveau de la chaîne alimentaire dans les essais de biomagnification (SPRANG *et al.*, 1991)

- Les possibilités de le conduire dans un milieu autre que l'eau de mer, par exemple dans certains milieux destinés aux cultures cellulaires (LEWWAN *et al.*, 1992)

Dans la mesure du possible, il nous paraît utile de confirmer les résultats que nous avons obtenus par des tests de toxicité normalisés tels que ceux utilisant le guppy (*Lebistes reticulatus*) ou la daphnie (*Daphnia magna*). L'évaluation de la toxicité des xénobiotiques par ces tests normalisés est souvent limitée par leur prix, leur complexité et leur durée, alors que le potentiel de toxicité de nombreux xénobiotiques n'est pas connu et que plus de 1000 produits sont proposés chaque année pour une introduction sur le marché. Un test alternatif comme celui que nous avons utilisé va connaître certainement un bel essor

Malgré la limite du test utilisé, la très forte chute de la toxicité du milieu de culture en présence des souches performantes, milite en faveur de leur choix pour des essais futurs de traitabilité du PCP.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Notre travail comble une lacune, celle de la faiblesse des données sur la métabolisation du PCP par les micromycètes, bien que ce xénobiotique ait été initialement employé comme fongicide.

Sur l'ensemble des 989 souches que nous avons étudiées, 77 souches donnent un taux de disparition du PCP supérieur à 80% (Tab. 14). Ces souches performantes appartiennent pour l'essentiel au groupe des Deutéromycètes. La disparition du PCP par les micromycètes étudiés dépend pour une large part du groupe taxonomique. A l'intérieur d'un même groupe elle dépend fortement du genre, et à l'intérieur d'un même genre de l'espèce. Ces seules considérations taxonomiques ne sont cependant pas suffisantes pour déterminer l'aptitude des souches à faire disparaître le PCP. Un facteur écologique (l'origine de l'isolat) ainsi que des facteurs opérationnels (taux de glucose, type d'agitation, concentration en PCP, taille et état physiologique de l'inoculum) interviennent également. Ainsi, facteurs biotiques et abiotiques interfèrent avec les conditions d'expérimentation pour déterminer la performance de la biodégradation.

Le mécanisme de la disparition du PCP du milieu de culture par les micromycètes étudiés ne semble pas tributaire de la production de POx comme c'est le cas avec d'autres xénobiotiques. Cependant, l'utilisation de 3 types de biomasse associée à une extraction avec 2 solvants de polarité différente, démontre qu'une grande partie du PCP disparue n'est pas biodégradée en réalité mais plutôt biosorbée. La quantité de PCP biosorbée varie selon les micromycètes. La biosorption apparaît donc comme une étape importante voire obligatoire dans la biodégradation ultime du PCP.

La très forte chute de la toxicité du milieu de culture en présence des souches performantes, milite en faveur de leur choix pour des essais futurs de traitabilité du PCP.

Les perspectives d'études suivantes nous paraissent importantes :

- Une meilleure connaissance du mécanisme de la disparition du PCP grâce à l'utilisation de molécules marquées.
- Des essais de biodégradation employant un consortium microbien composé des souches performantes.
- Une étude plus approfondie de la toxicité du milieu de culture avec *Lebistes reticulatus*.

Notre travail a aussi le mérite de montrer que résoudre les problèmes de pollution de l'environnement n'est pas une tâche aisée, même dans les pays développés. Cette tâche devient encore plus ardue dans les pays en voie de développement et ceci pour plusieurs raisons :

- Ignorance des populations locales voire même des autorités sur les dangers que représentent l'emploi de ces produits.
- Inconscience et irresponsabilité des pouvoirs locaux.
- Manque ou absence de personnel qualifié dans l'évaluation et la gestion du risque.
- Spéculation tous azimuts des vendeurs de produits voire des "Brokers".

Pourtant de tous les problèmes environnementaux celui de la pollution est le plus sérieux et constitue la plus grande menace pour la santé et le bien-être des populations ainsi que de réels dangers pour les écosystèmes dans leur globalité. Bien que des problèmes tels que la destruction des ressources naturelles, l'érosion des sols, la perte de la biodiversité provoquée par l'extinction des espèces soient très importants pour l'avenir de l'humanité, c'est la pollution qui se révèle être la plus grande préoccupation. Les populations réalisent les impacts de la pollution sur eux directement à travers ses effets sur leur santé, leur approvisionnement en nourriture, la dégradation de leur cadre de vie familial voire de leur patrimoine (habitat, parcs naturels, sites de loisirs et de plaisance). Dans le futur, les pressions sur l'environnement vont aller s'accroissant à cause des pressions démographiques et la recherche d'un niveau de vie plus élevé.

Pour les problèmes de pollution dus aux pesticides dans les pays d'Afrique Francophone, la priorité doit être donnée à la prévention . L'adage populaire " vaut mieux prévenir que guérir " est particulièrement vrai dans le contexte présent. Il faudrait agir de sorte :

- Que les molécules interdites ailleurs n'y trouvent pas un marché.
- Que de nouveaux produits n'y trouvent pas un terrain d'expérimentation.
- Que des déchets toxiques difficiles à éliminer même par les pays développés (déchets radioactifs) n'y trouvent pas un "dépotoir".
- Qu'on ne permette plus aux "Brokers" d'y vendre de la "pacotille" en lieu et place de produits efficaces.

Ce sera en priorité un problème de législation et de son respect à court terme. La tâche ne sera certes pas aisée, car des vendeurs peu scrupuleux continueront à vendre leur poudre de "perlimpinpin " avec la complicité des pouvoirs nationaux. Il est si facile de spéculer sur la misère et l'ignorance des gens !

A l'instar de l'ingérence humanitaire, ne faudrait-il pas mettre en place une ingérence écologiste ? Elle permettrait de sauver des vies humaines, de préserver le patrimoine universel qu'est notre planète, et que nous empruntons aux générations futures. Sans une solidarité planétaire, ceux qui sont déjà naturellement défavorisés continueront à l'être davantage. Nous devons toujours considérer les problèmes de l'environnement sous l'angle obtus de l'échelle planétaire, même si par moments, la nécessité nous commande d'agir localement.

Tout privilège est une responsabilité. Nous qui avons le privilège de comprendre la gravité des problèmes de pollution, avons également la responsabilité d'oeuvrer à leur atténuation voire à leur éradication.

"Être homme c'est être responsable. C'est être fier d'une victoire que les camarades ont remporté. C'est sentir la honte en face d'une misère qui ne semble pas dépendre de soi. C'est sentir en posant sa pierre que l'on contribue à bâtir l'humanité." A. De St EXUPÉRY

" Être grand c'est soutenir une grande querelle. " SHAKSPEARE

Puissions-nous être de ces grands hommes responsables qui soutiendront la grande querelle de la protection de l'environnement !

Puissions-nous prêter une attention particulière à la protection de l'environnement déjà défavorable à ceux qui sont déjà assez défavorisés !

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- AHLBORG, U.G. ; THUNBERG, T.M. Chlorinated phenols : occurrence, toxicity, metabolism and environmental impact. *CRC Critical Rev. in Tox.*, 1980, **7**, (1), 1-35.
- ALLARD, A.S. ; REMBERGER, M. ; NEILSON, A.H. Bacterial o-methylation of chloroguaiacols : effects of substrate concentration, cell density and growth conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985, **49**, (2), 279-288.
- ALLOWAY, B. J. ; AYRES, D.C. Chemical principles of environmental pollution. Chapman & Hall, London, 1993, 291pp.
- ANDER, P. ; ERIKSSON, K.E. The importance of phenoloxidases activity in lignin degradation by the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Arch. Microbiol.*, 1976, **109**, 1-8.
- ANDER, P. ; ERIKSSON, K.E. Lignin degradation and utilization by microorganisms. *Progress in Industrial Microbiology*, 1978, **14**, 1-58.
- ANDER, P. ; HATAKKA, A. ; ERIKSSON, K.E. Vanillic acid metabolism by the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Arch. Microbiol.*, 1980, **125**, 189-202.
- ANDRÉ, C. Etude d'une série de chlorophénols, toxicité aquatique et dégradation par l'ozone. Thèse de Doctorat. Université Scientifique et Médicale de Grenoble. 1983, 127 pp.
- APAJALAHTI, J.H.A. ; KAERPAENOSA, P. ; SALKINOJA-SALONEN, M.S. *Rhodococcus chlorophenolicus* sp nov. a chlorophenol-mineralizing actinomycete. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1986, **36**, (2), 246-251.
- ARORA, D. S. ; SANDHU, D. K. Laccase production and wood degradation by a white-rot fungus *Dædalea flavida* *Enz. Microbiol. Technol.*, 1985, **7**, 405-408.
- BAADER, E.W. ; BAUER, H.J. Industrial intoxication due to PCP. *Ind. Med. Surg.*, 1951, **20**, 286-290.
- BENOIT-GUYOD, J.-L. ; ANDRÉ, C. ; CLAVEL, K. Chlorophénols : Dégradation et toxicité. *J. Fr. Hydrologie* 1984a, **15**, (3), 249-263.
- BENOIT-GUYOD, J.-L. ; ANDRÉ, C. ; TAILLANDIER, G. ; ROCHAT, J. ; BOUCHERLE, A. Toxicity and QSAR of chlorophenols on *Lebistes reticulatus*. *Ecotox. Environ. Safety*, 1984b, **8**, 227-235.
- BERNY, J.-F.; HENNEBERT, G.L. Viability and stability of yeast cells and filamentous spores during freeze-drying : effects of protectants and cooling rates. *Mycologia*, 1991, **83**, (6), 805-815.

- BEVENUE, A. ; BECKMAN, H. Pentachlorophenol : discussion of its properties and occurrence as a residue in human and animal tissues Residue Reviews, 1967, **19**, 83-134.
- BOLLAG, J.M. ; LOLL, M.J. Incorporation of xenobiotics into soil humus. Experientia, 1983, **39**, (11), 1221-1231.
- BOURALY, M. ; CABRIDENC, R. ; CHEVALIER, B. ; LEJEUNE, X. ; PALLA, J. C. ; SCHMITT, S. ; VASSEUR, P. Chimie et écologie. Objectifs des essais écotoxicologiques, Novembre 1987, 60 pp.
- BOYLE, T. ; ROBINSON-WILSON, E.F. ; PETTY, J.D. ; WEBER, W. Degradation of pentachlorophenol in simulated lentic environment. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1980, **24**, 177-184.
- BUELOW, T. ; MUELLER, A. Résistance to insecticides and acaricides : causes and relevance. Monatsh. Veterinaer med, 1988, **43**, (14), 513-516.
- CALLEJA, M.C. ; PERSOONE, G. Cyst-Based Toxicity Tests. IV. The Potential of Ecotoxicological Tests for the Prediction of Acute Toxicity in Man as Evaluated on the First Ten Chemicals of the MEIC Programme. ATLA, 1992, **20**, 396-405.
- CHAPMAN, J.B. ; ROBSON, P. Pentachlorophenol poisoning from bathwater. Lancet, 1965, **1**, 1266-1267.
- CLUZEAU, S. Index phytosanitaire. Vingt-neuvième édition. ACTA, Service lutte antiparasitaire, Paris, 1993, 529 pp.
- CRAWFORD, R.L. ; MOHN, W.W. Microbial removal of pentachlorophenol from soil using a *Flavobacterium*. Enzyme. Microb. Technol., 1985, **7**, (12), 617-620.
- CROSBY, D.G. Environmental chemistry of pentachlorophenol. Pure Appl. Chem., 1981, **53**, 1051-1080.
- CROSBY, D.G. ; MOILANEN, K.W. ; NAKAGAWA, M. ; WONG A.S. Photonucleophilic Reactions of pesticides. Environ. Toxicol. pesticides, F. Matsumura, G.M. Boush and T. Misato, Edit. Academic Press, London and New York, 1972, 423-431 pp.
- CROSBY, D.G. ; WONG, A.S. Photochemical generation of chlorinated dioxins. Chemosphere, 1976, **5**, 327-332.
- CSERJESI, A.J. The adaptation of fungi to pentachlorophenol and its biodegradation. Can. J. Microbiol., 1967, **13**, 1243-1249.
- CSERJESI, A.J. ; JOHNSON, E.L. Methylation of pentachlorophenol by *Trichoderma virgatum*. Can. J. Microbiol., 1972, **18**, 45-49.

- CURTIS, R.F. ; LAND, D.G. ; GRIFFITHS, N.M. ; GEE, M. ; ROBINSON, D. ; PEEL, J.L. ; DENNIS, C. ; GEE, J.M. 2,3,4,6 tetrachloroanisole association with musty taint in chickens and microbiological formation. *Nature*, 1972, **235**, 223-224.
- DAGRON, C. Sur une nouvelle utilisation de l'aminopyrine comme réactif des phénoloxydases. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 1985, **101**, 219-235.
- DAVIDSON, R.W. ; CAMPBELL, W.A. ; BLAISDELL, D.J. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. *J. Agric. Res.*, 1938, **57**, 683-695,.
- DE HOOG, G.S. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; STEIMAN, R. ; ERIKSSON, K.E. A new species of *Embellisia* from the North sea. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1985, **51**, 409-413.
- DELORME, R. ; BERTHIER, A. ; AUGÉ, D. The toxicity of two pyrethroids to *Encarsia formosa* and its hosts *Trialeurodes vaporariorum* ; prospecting for a résistance strain of parasite. *Pestic. Sci.* 1985, **16**, (4), 332-336.
- DETOC, S. Etude des produits de dégradation du Pentachlorophénol. Thèse de l'Université Joseph Fourier, Grenoble, 1988, 210 pp.
- DEVILLERS, J. ; STEIMAN, R. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; SAGE, L. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. ; DORÉ, J.C. Biotic and abiotic factors governing the antifungal activity of Micromycetes. A multivariate statistical approach. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1991, **14**, 196-204.
- DOJLIDO, J.R. Investigations of biodegradability and toxicity of organic compounds. Rapport EPA, 1979, 600/2-79-163, pp 100.
- DOUGHERTY, R.C. ; HETT, E.A. Negative chemical ionization mass spectrometry : applications in environmental analytic chemistry. in "Pentachlorophenol, Chem. Pharmacol. Environ. Toxicol." *Environ. Sci. Res.*, Ranga Rao Edit. Plenum Press, New-York, 1978a, **12**, 339-350.
- DOUGHERTY, R.C. Human exposure to pentachlorophenol in "Pentachlorophenol, Chem. Pharmacol. Environ. Toxicol." *Environ. Sci. Res.*, Ranga Rao Edit. Plenum Press, New-York, 1978b, **12**, 351-362.
- DUNCAN, D.G. ; DEVERALL, F.J. Degradation of wood preservatives by Fungi. *Appl. Microbiol.*, 1964, **12**, 57-62.
- EDGEHILL, R.U. ; FINN, R.K. Isolation, characterization and growth kinetics of bacteria metabolizing pentachlorophenol. *Eur. J. Appl. Biotechnol.*, 1982, **16**, 179-184.
- ELLIS, B. *Dematiaceaeous Hyphomycetes*, CMI, Kew, England, 1971, 608 pp.

- ENGELHARDT, G. ; WALLNOFER, P.R. ; MUECKE, W. ; RENNER, G. Transformations of pentachlorophenol. Part II : Transformations under environmental conditions. *Toxicol. Environ. Chem.*, 1986, **11**, (3), 233-252.
- ERIKSSON, K.E. New methods for the investigation of cellulases. *Advances in chemistry series*, 1970, **95**, 83.
- FENN, P. ; KIRK, T.K. Lignolytic system of *Phanerochaete chrysosporium* : inhibition by o-phthalate. *Arch. Microbiol.* 1979, **123**, 307-309.
- FOUREST, E. ; ROUX, J.C. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products : mechanisms and influence of pH. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 1992, **37**, 399-403.
- FOURNIER, E. ; BONDEREF, J. Les produits antiparasitaires à usage agricole. conditions d'utilisation et toxicologie. *Tec. & Doc.*, Lavoisier éd., Paris, 1983, 333 pp.
- FOURNIER, J. Chimie des pesticides. *Tec. & Doc.*, Lavoisier éd., Paris, 1988, 349 pp.
- GADD, G.M. (1988). Accumulation of metal by microorganisms and algae. In : FOUREST, E. ; ROUX, J. C. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products : mechanisms and influence of pH. *App Microbial Biotechnol* 1992, **37**, 399-403.
- GALZY, P. ; SLONIMSKI, P. Variations physiologiques de la levure au cours de la croissance sur l'acide lactique comme seule source de carbone. *C.R. Acad. Sciences*, 1957, **245D**, 2423-2426.
- GAMS, W. ; STEIMAN, R. ; SEIGLE-MURANDI, F. The Hyphomycete genus *Goidanichiella*. *Mycotaxon*, 1990, **38**, 149-159.
- GUIRAUD, P. Métabolisation de l'acide vanillique par les micromycètes. Relation avec la production de phénoloxydases extracellulaires. Thèse de l'Université J. Fourier, Grenoble, 1991, 264 pp.
- GUIRAUD, P. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; STEIMAN, R. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. Extracellular phenoloxidases activity of Micromycetes from various taxonomic groups. *Microbiologica*, 1992, **15**, 367-390.
- HAMADMAD, N. Photolysis of pentachlorophénol, 2,3,5,6-tetrachloro-nitrobenzene and pentachlorophenol, 1967. Thèse Univ. of Calif. Davis.
- HARKIN, J. M. ; LARSEN, M. J. ; OBST, J. R. Use of syringaldazine for detection of laccase in sporophores of wood-rotting fungi. *Mycologia*, 1974, **66**, 469-476.
- HARKIN, J. M. ; OBST, J. R. Syringaldazine, an effective reagent for detecting laccase and peroxidase in fungi. *Experientia*. 1973, **29**, 381-387.

- HIATT, C.W. ; KASKINS, W.T. ; OLIVER, L. Action of sunlight on sodium pentachlorophenate. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1960. In : BEVENUE ; Beckman, 1967.
- IDE, A. ; NIKI, Y. ; SAKAMOTO, F. ; WATANABE, I. ; WATANABE, H. Decomposition of pentachlorophenol in paddy soil. Agr. Biol. Chem. Japan, 1972, **36**, (11), 1937-1944.
- JIRASEK, L. ; KALENSKY, J. ; KUBEC, K. ; PAZDEROVA, J. ; LUKAS, E. Chlorakne, porphyria, cutanea tarda und andere intoxicationen durch herbizich. Hautartt. 1976, **27**, 328-333.
- KÄÄRIK, A. The identification of the mycelia of wood-decay fungi by their oxidation reactions with phenolic compounds. Stud. Forest. Succ. 1965, **31**, 1-61.
- KAUFMAN, D.D. Degradation of pentachlorophenol in soil and by soil microorganisms. In "Pentachlorophenol, Chem. Pharmacol. Environ. Toxicol." Environ. Sci. Res., Ranga RAO, 1978, **12**, 27-40, Plenum Press, New York.
- KAWAI, S. ; UMEZAWA, T. ; HIGUCHI, T. p-benzoquinone monoketals, novel degradation products of β -O-4 lignin model compounds by *Coriolus versicolor* and lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. FEBS, 1987, **210**, (1), 61-65.
- KLECKA, G.M. ; GIBSON, D.T. Inhibition of catechol 2,3-dioxygenase from *Pseudomonas putida* by 3-chlorocatechol. Appl. Environ. Microbiol., 1981, **41**, (5), 1159-1165.
- KONISHI, K. ; INOUE, Y. Detoxification mechanism of pentachlorophenol by the laccase of *Coriolus versicolor*. Mokuzai gakkaiishi (J. Wood Res. Soc.), 1972, **18**, (9), 463-469.
- KREMER, S. ; STERNER, O. ; ANKE, H. Degradation of pentachlorophenol by *Mycena avenacea* TA 8480. Identification of initial dechlorinated metabolites. Z. Naturforsch, 1992, **47 C**, 561-566.
- KUWAHARA, M. ; KATO, N. ; MUNAKATA, K. The photochemical reaction of pentachlorophenol; Part I : the structure of the yellow compound. Agr. Biol. Chem. Japan, 1966, **30**, 232-238.
- KUWAHARA, M. ; KATO, N. ; MUNAKATA, K. The photochemical reaction of pentachlorophenol; Part II : the chemical structures of minor products. Agr. Biol. Chem. Japan, 1966, **30**, 239-245.
- KWASNIEWSKA, K. The degradation of pentachlorophenol by a fungus of *Fusarium* sp. Trace Subst. Environ. Health, 1981, **15**, 392-398.
- LAMAR, R.T. ; DIETRICH, D.M. *In situ* depletion of pentachlorophenol from contaminated soil by *Phanerochaete* spp. Appl. Environ. Microbiol., 1990, **56**, (10), 3093-3100.

- LAMAR, R.T. ; LARSEN, M.J. ; KIRK, T.K. Sensitivity to and degradation of pentachlorophenol by *Phanerochaete* spp. Appl. Environ. Microbiol., 1990, **56**, (11), 3519-3526.
- LEBLANC, G. A. Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*) Bull. Environn. Contam. Toxicol., 1980, **24**, 684-691.
- LEISINGER, T. Microorganisms and xenobiotic compounds. Experientia, 1983, **39**, (11), 1183-1191.
- LEWAN, L. ; ANDERSON, M. ; MORALES-GOMEZ, P. The Use of *Artemia salina* in Toxicity Testing. ATLA, 1992, **20**, 297-301.
- LIBER, K. ; SOLOMON, K.R. Acute and Chronic Toxicity of 2, 3, 4, 6-tetrachlorophenol and pentachlorophenol to *Daphnia* and Rotifers. Arch. Environ. Contamin. Toxicol. , 1994, **26**, 212-221.
- LIN, J.E. ; WANG, H.Y. ; HICKEY, R.F. Degradation kinetics of pentachlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*. Biotechnol. Bioengin., 1990, **35**, 1126-1134.
- LIU, D.K. ; THOMPSON, K. ; KAISER K.L.E., Quantitative Structure-toxicity relationship of halogenated phenols on bacteria. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1982, **29**, 130-136.
- LIWICKI, R. ; PATERSON, A. ; MACDONALD, M. J. ; BRODA, P. Phenotypic classes of phenoxidase-negative mutants of the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Bacteriology*, 1985, **162**, 641-644.
- LU, F. C. TOXICOLOGIE. MASSON 1992, 361 pp.
- LYR, H. Enzymatische detoxifikation chlorierter phenole. Phytopathol. Zeitung, 1963, **47**, 73-83.
- LYR, H. Uber den oxydativen abbau chlorierter phenole. Holztechnologie, 1962, **3**, 201-208.
- MESPLONT, M. Dégradation du pentachlorophénol par les Micromycètes, Thèse de l'Université Joseph Fourier, Grenoble, 1989, 175 pp.
- MIKI, K. ; RENGANATHAN, V. ; MAYFIELD, M.B. ; GOLD, M.H. Aromatic ring cleavage of a β -biphenyl ether dimer catalyzed by lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. FEBS, 1987, **210**, (2), 199-203.
- MILESKI, G.J. ; BUMPUS, J.A. ; JUREK, M.A. ; AUST, S.D. Biodegradation of pentachlorophenol by the White rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. Environ. Microbiol. 1988, **54**, (12), 2885-2889.
- MITCHELL, P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism, Nature, 1961, **191**, 144-148.

- MOTOSUGI, K. ; SODA, K. Microbial degradation of synthetic organochlorine compounds. *Experientia*, 1983, **39**, (11), 1214-1220.
- NEILSON, A.H. et coll. Tri and tetra chloroveratrole, metabolites produced by bacterial o-methylation of tri and tetra chloroguaiacols. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 1984, **41**, 1502-1512.
- NEILSON, A.H. ; ALLARD, A.S. ; HYNNING, P.A. ; REMBERGER, M. ; LANDNER, L. Bacterial methylation of chlorinated phenols and guaiacols : formation of veratroles from guaiacols and high molecular weight chlorinated lignin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, **45**, (3), 774-83.
- NIIMI, A.J. ; CHO, C.Y. Laboratory and field analysis of Pentachlorophenol accumulation by Salmonids. *Water Res.*, 1983, **17**, (12), 1791-1795.
- OKEKE, B. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; STEIMAN, R. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. Identification of mycotoxin producing strains : a step in the isolation of compounds active against fungal rice diseases. *J. Agric. Food Chem.* (sous presse), 1993.
- ONOCHIE-OKEKE, B. Dégradation du pentachlorophénol par les micromycètes. Étude particulière des Zygomycètes. Thèse de l'Université J. Fourier, Grenoble, 1994, 123 pp.
- ONOCHIE-OKEKE, B. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. ; STEIMAN, R. Cinétique de dégradation du pentachlorophénol par les Zygomycètes. CR du 21^o Congrès Groupe Français des Pesticides, Nancy, 22-23 Mai 1991, 165-170.
- ONOCHIE-OKEKE, B. ; TOÉ, A. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; STEIMAN, R. Kinetic studies of PCP degradation by selected micromycetes. *Proc. IX Simpos. Chim. Antiparas.*, Piacenza, 11-13 Oct. 1993, 451-460.
- PAASIVIRTA, J. Chlorophenols possible environmental poisons. *Kem kemi*, 1978, **9**, 367-370.
- PAASIVIRTA, J. ; SÄRKKÄ, J. ; LESKIJÄRVI, T. ; ROOS, A. Transportation and enrichment of chlorinated phenolic compounds in different aquatic food chains. *Chemosphere*, 1980, **9**, (7-8), 441-456.
- PAASIVIRTA, J. ; SÄRKKÄ, J. ; SURMA-AHO, K. ; HUMPPI, T. ; KUOKKANEN, T. ; MARTTINEN, M. Food chain enrichment of organochlorine compounds and mercury in clean and polluted lakes of Finland. *Chemosphere*, 1983, **12**, (2), 239-252.
- PARKER, C.E. ; JONES, W.A. ; MATTHEWS, H.B. ; Mc CONNEL, E.E. ; HASS J.R. 1980 The chronic toxicity of technical and analytical PCP in Cattle ; Part II : Chemical analysis of tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1980, **55**, 359-369.

- PERSONNE, G. ; SORGELOOS, P. ; ROELS, O. ; JASPERS, E. The brine shrimp : *Artemia*, Universa Press, Wetteren, Belgique, 1980, 1-345.
- PIERCE, R.H. ; VICTOR, D.M. The fate of pentachlorophenol in an aquatic ecosystem. In "Pentachlorophenol, Chem. Pharmacol. Environ. Toxicol." Environ. Sci. Res. Ranga RAO, 1978, 41-51, Plenum Press, New York.
- PIGNATELLO, J.J. ; JOHNSON, L.K. ; MARTINSON, M.M. ; CARLSON, R.E. ; CRAWFORD, R.L. Response of the microflora in outdoor experimental streams to PCP : environmental factors. Can. J. Microbiol., 1985, **32**, 38-46.
- PIGNATELLO, J.J. ; MARTINSON, M.M. ; STEIERT, J.G. ; CARLSON, R.E. ; CRAWFORD, R.L. Biodegradation and photolysis of pentachlorophenol in artificial fresh water streams. Appl. Environ. Microbiol., 1983, **46**, (5), 1024-1031.
- RAPPE, A. Pesticides et santé. Les Pesticides en balance. Ed. APB. 11, Rue Archimède B-1040 Bruxelles, 1992, 384 pp.
- RAMADE, F. Principes d'écotoxicologie, Masson, Paris, 1977, 205.pp.
- RAO, K.R. ; CONKLIN, P.J. ; BRANNON, A.C. Inhibition of limb regeneration in the grass shrimp *Palæmonetes pugio*, by sodium pentachlorophenate. in "Pentachlorophenol, Chem. Pharmacol. Environ. Toxicol." Environ. Sci. Res., Ranga Rao Edit. Plenum Press, New-York, 1978, **12**, 193-204.
- ROCHKIND, M.L. ; BLACKBURN, J.W. ; SAYLER, G.S. Microbial decomposition of chlorinated aromatic compounds. EPA/600/2-86/090, 1986.
- SABER, D.L. ; CRAWFORD, L. Isolation and characterization of *Flavobacterium* strains that degrades pentachlorophenol. Appl. Environ. Microbiol., 1985, **50**, 1512-1518.
- SCHWETZ, B.A. ; KEELER, P.A. ; GEHRING P.J. The effect of purified and commercial pentachlorophenol on rat embryonal and fetal development. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1974, **28**, 151-161.
- SCHWETZ, B.A. ; QUAIST, J.F. ; KEELER, P.A. ; HUMISTON, C.G. ; KOCIBA, R.J. Results of two-year toxicity and reproduction studies of pentachlorophenol in rats. In "Pentachlorophenol, Chem. Pharmacol. Environ. Toxicol." Environ. Sci. Res., Ranga RAO, 1978, **12**, 301-312. Plenum Press, New-York.
- SEIGLE-MURANDI, F. ; STEIMAN, R. ; BENOIT-GUYOD, J. L. Biodegradation potential of some micromycetes for pentachlorophenol. Ecotoxicol. Environ. Saf. 1991, **21**, 290-300.

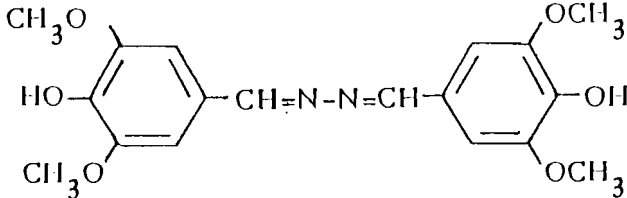
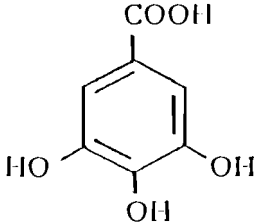
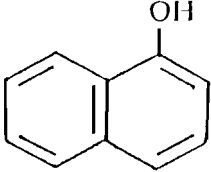
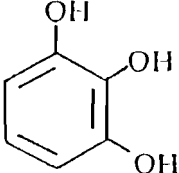
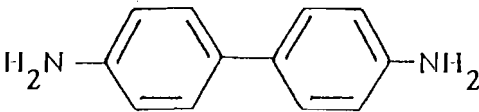
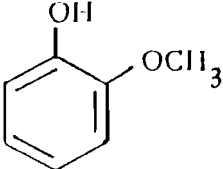
- SEIGLE-MURANDI, F. ; STEIMAN, R. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. ; GUIRAUD, P. Biodegradation of pentachlorophenol by Micromycetes. I. Zygomycetes. Environ. Tox. Water Quality, 1992, **7**, 125-139.
- SEIGLE-MURANDI, F. ; NICOT, J. ; SORIN, L. ; GENEST, L.Ch. Association mycologique dans la salle de la Verna et le tunnel de l'EDF du réseau de la Pierre Saint Martin. Rev. Ecol. Biol. Sol, 1980, **17**, 149-157.
- SEIGLE-MURANDI, F. ; NICOT, J. ; SORIN, L. ; LACHARME, J. Mycoflore des cerneaux de noix destinés à l'alimentation. Cryptog. Mycol., 1981, **2**, 217-237.
- SMITH, D. ; ONIONS, A.H.S. (1983) The preservation and maintenance of living fungi. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 51 p. In : BERNY and HENNEBERT, 1991.
- SPRANG, P.V. ; LÉGER, P. ; SORGELOOS, P. A new test system for the evaluation of toxic levels of liposoluble products in the aquatic food chain using *Artemia* and *Mysidopsis bahia* as experimental animals. Aquatic Toxicology, 1991, **19**, 319-328.
- SREBOTNIK, E. ; MESSNER, K.; FOISNER, R. Penetrability of white rot-degrading pine wood by the lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*.. Appl. Environ. Microbiol. 1988, **54**, (11), 2608-2614.
- STANLAKE, G.J. ; FINN, R.K. Isolation and characterization of pentachlorophenol degrading bacterium. Appl. Environ. Microbiol., 1982, **44**, (6), 1421-1427.
- STEIMAN, R. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; SAGE, L. ; TOÉ, A. Biodegradation of pentachlorophenol by Micromycetes. II. Yeasts, Ascomycetes and Basidiomycetes. Environ. Tox. Water Quality, 1994, **9**, 1-6.
- STEIMAN, R. ; SEIGLE-MURANDI, F. ; SAGE, L. ; KRIVOBOK, S. Production of patulin by Micromycetes. Mycopathologia, 1989, **105**, 129-133.
- SUNDMAN, V. ; NASE, L. A simple plate test for the direct visualization of biological lignin degradation. *Pap Puu*, 1971, **2**, 67-71.
- SUZUKI, T. Metabolism of pentachlorophenol by a soil microbe. J. Environ. Sci. Health. 1977, **12 B**, (2), 113-127.
- TAN, C.S. ; STALPERS, J.A. ; VAN INGEN, C.W. Freeze-Drying of fungal hyphae. Mycologia, 1991, **83**, (5), pp 654-657.
- THOMSON, W.T. Agricultural Chemical Book II Herbicides. Thomson Publications, Fresno, 1993 revision, 310 pp.
- TISSUT, M. ; SEVERIN, F. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. ; ROCHAT, J. ; MALLION, J.-M. ; GACHET, M. ; BOUCHERLE, A. ; DEGRANGE, J. "Les pesticides, oui ou non ?" Editions Presses Universitaires de Grenoble. 1979, 231 pp.

- TOÉ, A. ; KADRI, M. ; STEIMAN, R. ; BENOIT-GUYOD, J.-L. ; SEIGLE-MURANDI, F. Interactions entre fongicides et Deutéromycètes isolés des sols. Application au cas du PCP. CR du 22^e Congrès Groupe Français des Pesticides, Dijon, 19-20 Mai 1992, 81-87.
- TSEZOS, M. ; BELL, J.P. Comparaison of the biosorption and desorption of hazardous organic pollutants by live and dead biomass. Water Res. 1989, **23**, (5), 561-568.
- TSEZOS, M. ; WANG, X. Study of hazardous pollutants adsorption and desorption by biomass : Mechanistic considerations. J. Chem. Tech. Biotechnol, 1991, **50**, 507-521.
- UMEZAWA, T. ; HUGUCHI, T. Aromatic ring cleavage of β -O-4 lignin model dimers without prior demeth(ox)ylation by lignin peroxidase. FEBS, 1986, **205**, (2), 293-298.
- UMEZAWA, T. ; SHIMADA, M. ; HIGUCHI, T. ; KUSAI, K. Aromatic ring cleavage of β -O-4 lignin substructure model dimers by lignin peroxidase of *Phanerochæte chrysosporium*. FEBS, 1986, **205**, (2), 287-292.
- WAGNER, S.L. Pentachlorophenol. Clinical Toxicol. Agric. Chem. 1983, 121-137.
- WATANABE, I. Isolation of pentachlorophenol decomposing bacteria from soil. Soil Sci. Plant Nutr., 1973, **19**, (2), 109-116.
- WATANABE, I. Pentachlorophenol decomposing and PCP tolerant bacteria in field soil treated with PCP. Soil Biol. Biochem., 1977, **9**, (2), 99-103.
- WONG, A.S. ; CROSBY, D.G. Photodecomposition of pentachlorophenol in water. J. Agric. Food Chem., 1981, **29**, 125-130.

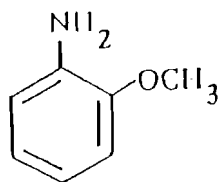
ANNEXES

ANNEXE 1.

FORMULE DES DIFFÉRENTS RÉACTIFS UTILISÉS POUR LA DÉTECTION
DES POX. COLORATIONS OBTENUES APRÈS OXYDATION

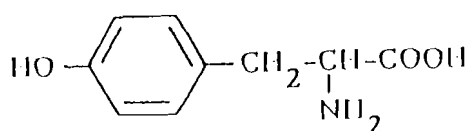
Syringaldazine		Rose
Acide gallique		Brun
Alpha-naphtol		Bleu foncé
Pyrogallol		Brun
Benzidine		Bleu très sombre à noir
Gaïacol		Beige orangé à brun pourpre

Ortho-anisidine



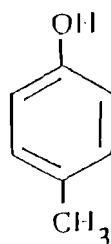
Bleu foncé

Tyrosine



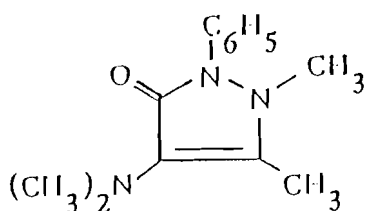
Brun

Para-crésol

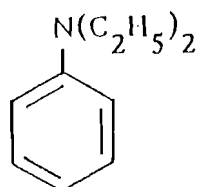


Rouille

Amidopyrine



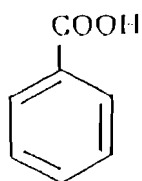
N-N diéthylaniline



R-56

Violet

Acide benzoïque



ANNEXE 2

PROJET DE MONTAGE DE LABORATOIRES ASSOCIÉS DE RECHERCHE EN PHYTOPHARMACIE, EN ÉCOTOXICOLOGIE ET EN TOXICOLOGIE (LAPET)

RÉSUMÉ

La 1^{ère} Assemblée Générale du Réseau Coton de la Coraf, tenue à Dakar au Sénégal du 28 au 31 / 10 / 91, a dégagé 10 thèmes fédérateurs au nombre desquels figure, les études de toxicité et d'écotoxicité des pesticides. Ce thème fédérateur a été confié au Burkina-Faso pour implantation principale.

Vue la nouveauté du sujet, ce thème ne peut être bien abordé qu'à travers le montage de laboratoires.

Ce présent projet porte donc sur le montage de Laboratoires Associés de Phytopharmacie, d'Ecotoxicologie et de Toxicologie (LAPÉT). Les LAPET permettraient d'étudier l'impact des produits agrochimiques d'une part sur l'homme, et d'autre part sur l'environnement. La réalisation de ce projet portera sur 3 ans :

- 1^{ère} année : Construction des Laboratoires et installation des équipements.
- 2^{ème} et 3^{ème} années : Fonctionnement.

Le budget prévisionnel est de cinq millions deux cents huit mille cent quatre francs français (5 208 104 FF).

1. JUSTIFICATIF ET ÉTAT DES CONNAISSANCES

Il est actuellement reconnu que 80 à 90 % des cancers sont dus à des substances chimiques : pesticides, additifs alimentaires, agents de conservation des aliments et produits chimiques divers.

Depuis plusieurs années, des quantités importantes de produits agrochimiques (pesticides, engrais minéraux) sont utilisés en agriculture en Afrique. Si l'emploi des insecticides est souvent réglementé dans le cas de la culture cotonnière, il ne l'est pas en culture maraîchère. L'emploi des herbicides se fait de plus en plus sans les recommandations de la Recherche, certains agriculteurs important les herbicides des pays voisins.

Quant à l'emploi des engrais minéraux, le risque qu'il y ait des taux de nitrates élevés dans les eaux existe dans les zones agricoles où de grandes quantités d'engrais minéraux sont employés, c'est notamment le cas en culture cotonnière, en culture maraîchère et en riziculture irriguée.

Jusque là, aucune étude toxicologique et écotoxicologique relative à l'emploi de ces produits agrochimiques n'a été entreprise. Pourtant de simples constats permettent d'être inquiets :

- Les doses recommandées sont loin d'être respectées ainsi que les délais de traitement avant la récolte (cas de la culture maraîchère)

- Les agriculteurs prennent rarement les mesures de protection nécessaire lors des applications

S'il n'y a pas pour l'instant des intoxications aiguës, des intoxications chroniques sont à prévoir à long terme ainsi que de possibles modifications des équilibres écologiques. C'est du rôle de la Recherche de prévoir de tels effets.

2. BUTS ET MISSIONS

Les études à mener visent à étudier l'impact des produits agrochimiques d'une part sur l'homme (toxicologie) et d'autre part sur les écosystèmes (écotoxicologie). Ils doivent aussi permettre de connaître le devenir de ces produits et de leurs métabolites dans l'environnement. Les études seront réalisées au niveau des compartiments : sol et eau. Les études au niveau de l'atmosphère seront écartées dans un premier temps à cause de la complexité d'étude à ce niveau. Il peut exister en effet une importante variabilité des produits dans l'air en fonction de la topographie et des conditions météorologiques.

Les LAPET auraient 3 principales missions :

1. Service
2. Recherche
3. Formation et Enseignement

Ces 3 missions sont interdépendantes et feraient appel à une équipe pluridisciplinaire qui travaillerait au sein des disciplines suivantes :

- Phytopharmacie
- Ecotoxicologie et Toxicologie
- Médecine agricole
- Agronomie

3. MATÉRIEL ET MÉTHODES

3. 1. Etudes de plein champ

Les études de plein champ seront destinées à mesurer les arrière-effets des pesticides (herbicides et insecticides) dans le sol. En effet, le sol se comporte comme un filtre actif et sélectif vis à vis des produits agrochimiques. Il est la plaque tournante dans la dispersion de ces produits dans l'environnement. La protection des eaux passe par celle des sols.

3. 1. 1. *Etudes des arrière-effets des herbicides*

L'utilisation d'herbicide empêche le retour au sol de la matière organique qui entretient la vie des micro-organismes alors que ces derniers jouent un grand rôle dans la

métabolisation des xénobiotiques. L'emploi fréquent d'herbicides peut donc entraîner indirectement l'accumulation des résidus de pesticides dans le sol. Il peut aussi entraîner la prolifération de parasites secondaires, la suppression d'ennemis naturels

.Cette étude se fera grâce à la mise en place de cases lysimétriques et de microlysimètres avec suivi du devenir des herbicides. Ce seront des essais de longue durée.

3. 1. 2. Études des arrière-effets des insecticides

Les insecticides actuellement employés au Burkina-Faso sont des pyrethrinoïdes de synthèse et des organo-phosphorés. Ces produits ont en général une bonne dégradation dans l'environnement quand les doses recommandées sont respectées. Dans le cas d'emploi de doses fortes, les capacités de métabolisation par les micro-organismes peuvent être dépassées. Pour des problèmes de sécurité, il est donc utile de mettre des essais en place avec des doses fortes et de suivre le devenir de ces pesticides dans des mauvaises conditions d'emploi.

3. 1. 3. Protection phytosanitaire respectant l'environnement (lutte intégrée)

On devra chercher à employer les différentes méthodes de lutte contre les ennemis des plantes (lutte agronomique, génétique, biologique) de sorte à minimiser la lutte chimique. La lutte chimique sera raisonnée et devra préserver les équilibres écologiques et les parasites utiles grâce à :

- L'étude de l'efficacité des molécules sur les cibles visées
- La définition de facteurs opérationnels permettant un usage limité de l'arme chimique
- Une meilleure connaissance de la biologie et de l'écologie des ravageurs

3. 2. Etudes de laboratoire

Par les méthodes chromatographiques et spectroscopiques, on pourrait :

- Doser les résidus de pesticides dans les produits agricoles (grain et huile de coton, produits maraîcher)
- Doser les résidus de pesticides et le taux de nitrates dans les eaux
- Contrôler la qualité et le titre des pesticides importés

- Définition des limites maximales de résidus (L. M. R.) admissibles dans les aliments, des doses journalières admissibles (D. J. A.) et des doses léthales 50 (D. L. 50)

- Législation phytosanitaire pour permettre un bon usage des produits agréés. Elle permettra aussi d'éviter que les produits interdits ailleurs ne trouvent dans nos pays un marché, ou que de nouveaux produits ne trouvent un terrain d'expérimentation. Une attention particulière devrait porter sur l'utilisation des organochlorés en lutte antiacridienne et dans la lutte contre les vecteurs des grandes endémies

On pourrait aussi faire appel aux tests biologiques de laboratoire pour mesurer la toxicité des pesticides importés ainsi qu'une étude de leurs principaux métabolites qui sont formés. Ces études biologiques pourraient employer :

- Des plantes supérieures
- Des vers de terre
- Des algues
- Des poissons
- Des crustacés

L'espèce à utiliser dépendra des facteurs opérationnels ainsi que du xénobiotique à utiliser.

3. 3. Médecine agricole

Etudes épidémiologiques chez les populations employant les pesticides, en l'occurrence celles qui sont chargées de l'application de ces produits : (par ex. dosage des cholinestérases dans le cas où des organo-phosphorés sont employés).

4. RÉSULTATS ATTENDUS

- Identification des principales molécules pesticides employées dans les pays du Réseau Coton
- Mise au point de méthodes expérimentales permettant d'étudier la toxicité et l'écotoxicité des pesticides
- Connaissance du comportement de ces molécules dans les eaux et sols
- Définition des risques toxicologiques et écotoxicologiques liés à l'utilisation de ces molécules

- Définition des facteurs opérationnels permettant de mieux gérer ces risques
- Contribution à la mise au point d'une bonne législation phytosanitaire en relation avec les Services de Protection des Végétaux (S. P. V.) et définition des Limites Maximales de Résidus admissibles (L. M. R.)
- Définition des méthodes de dosage des résidus de pesticides
- Formation à la connaissance et au bon emploi des pesticides
- Mise sur pied d'une médecine agricole en relation avec les Ministères de la Santé.

5. MOYENS

5. 1. Moyens humains existants et à prévoir

Personnel	Temps à consacrer	Organisme	
1 Phytopharmacien et Toxico-Ecotoxicologue	90 %	INERA	Disponible
1 Spécialiste en Protection des Végétaux	25 %	CIRAD-IRCT	Disponible
1 Agronome	25 %	INERA	Disponible
1 Spécialiste en Chimie Analytique	90 %	A prévoir	A prévoir
2 Techniciens Non Spécialisés	60 %	INERA	Disponible
2 Techniciens Spécialisés en Méthodes d'Analyse	95 %	A prévoir	A prévoir

N. B. : * Le poste de Spécialiste en Chimie Analytique sera peut être pourvu dans le cadre d'une A. T. P.

* Les 2 Techniciens Spécialisés en Méthodes d'Analyse sont à recruter.

5. 2. Budget

Construction	884. 640 FF
Equipement	1. 900. 000 FF
Personnel	630. 000 FF
Fonctionnement	
An 1	440. 000 FF
An 2	440. 000 FF
An 3	440. 000 FF
Frais Généraux	473. 000 FF
Total	5. 208. 104 FF

5. 2. 1. Construction

Le plan de la construction réalisé par une entreprise spécialisée dans la construction des laboratoires, ainsi que son coût estimatif ne seront pas communiqués dans cette thèse.

5. 2. 2. Equipement

Matériel de laboratoire (la liste ne sera pas communiquée ici)

Divers équipements :

- 2 véhicules (1 Break, 1 pick up)
- 1 congélateur
- 1 réfrigérateur
- 1 ordinateur
- 1 machine à écrire
- 1 machine à photocopier
- 1 projecteur pour transparent
- 1 projecteur pour diapositives

5. 2. 3. Personnel

Ce volet couvre :

- 1 bourse de formation d'un an
- 3 bourses de formation de courte durée (3 mois)
- Des frais de déplacement, des indemnités pour le personnel
Travaillant dans le cadre de ce projet
- Participation à des séminaires et conférences.

5. 2. 4. Fonctionnement

Le fonctionnement concerne essentiellement :

- Matériel consommable : solvants, petit matériel de laboratoire
- Fonctionnement des véhicules : carburant, réparation
- Électricité, eaux, téléphone, télécopie, affranchissements
- Mise en route du matériel (1ère année) et contrat de maintenance (2ème et 3ème années).

**INDEX DES AUTEURS
CITÉS**

AHLBORG	15	CHO	15
ALLARD	18	CLUZEAU	14
ALLOWAY	108	CRAWFORD	18
ANDER	29; 48; 50; 51	CROSBY	15; 16; 20; 36
ANDRE	108 ; 112	CSERJESI	15; 19; 20; 57
APAJALAHTI	18; 19	CURTIS	19
ARORA	48	DAGRON	50
AYRES	108	DAVIDSON	48
BAADER	15	DE HOOG	24
BAUER	15	DELORME	13
BECKMAN	15; 16	DETOC	108 ; 112
BELL	103	DEVERALL	19
BENOIT-GUYOD	14; 108; 110	DEVILLERS	88
BERNY	104	DIETRICH	19; 20
BEVENUE	15; 16	DOJLIDO	15
BOLLAG	17; 19	DOUGHERTY	15; 17
BONDEREF	13	DUNCAN	19
BOURALY	108	EDGEHILL	18
BOYLE	20	ELLIS	77
BUELOW	13	ENGELHARDT	20; 112; 113
CALLEJA	110	ERIKSSON	48; 50; 51; 58
CARDINAL DE RETZ	13		
CHAPMAN	15		

FENN	29	KIRK	29
FIN	38	KLECKA	18
FINN	18; 30	KONISHI	19; 48
FOUREST	93	KREMER	19; 20
FOURNIER	13	KUWAHARA	20
GADD	93	KWASNIEWSKA	19
GALZY	26; 29	LAMAR	19; 20
GAMS	24	LEBLANC	108
GIBSON	18	LEISINGER	17
GRZYWNOWICZ	48	LEONOWICZ	48
GUIRAUD	48; 51	LEWWAN	117
HAMADMAD	20	LIBER	110
HARKIN	48; 50	LIN	20; 93
HENNEBERT	104	LIU	16
HETT	17	LIWICKI	48
HIATT	20	LOLL	17; 19
IDE	18	LOSSEV	14
INOUE	19; 48	LU	108
JIRASEK	15	LYR	19; 48
JOHNSON	19	MAZEL	108
KAARIK	50	MESPLONT	27; 112; 113
KAUFMAN	15; 17; 20; 42; 112; 113	MIKI	48
KAWAI	48	MILESKI	19; 20; 33; 48; 80

MITCHELL	20	SANDHU	48
MOHN	18	SCHWETZ	13; 15
MUELLER	13	SEIGLE-MURANDI	24; 27; 48; 57; 58; 77; 80
NASE	48	SLONIMSKI	26; 29
NEILSON	15; 18	SMITH	14; 104
NIIMI	15	SPRANG	117
OBST	48	SREBOTNIK	48
OKEKE	112	STANLAKE	30; 38
ONIONS	104	STEIMAN	33; 77
ONOCHIE-OKEKE	84; 88; 93; 103	SUNDMAN	48
PAASIRVITA	13; 14; 15	SUZUKI	18
PARKER	15	TAN	104
PERSOONE	110	THOMSON	14
PESSAYRE	108	THUNBERG	15
PIERCE	108	TISSUT	13
PIGNATELLO	15; 20; 36	TOÉ	88
RAMADE	13	TSEZOS	103; 104
RAO	15	UMEZAWA	48
RAPPE	14	VICTOR	108
ROBSON	15	WAGNER	15
ROCHKIND	15	WANG	104
ROUX	93	WATANABE	18
SABER	18	WONG	16; 20 ; 36

GLOSSAIRE

Abiotique

De caractère non biologique

Bio-accumulation

Processus de concentration directe d'une substance au sein des tissus des organismes vivants

Biodégradabilité

Aptitude d'une substance organique à subir une biodégradation

Biodégradation

Dégradation moléculaire des substances organiques résultant de l'action de microorganismes

Biodégradation primaire ou fonctionnelle

Biodégradation partielle de la structure d'une substance, conduisant à la perte d'une propriété caractéristique, éventuellement liée à une nuisance

Biodégradation totale ou ultime

Biodégradation complète de la structure moléculaire avec formation de dioxyde de carbone, de méthane, d'eau, de dérivés minéraux, ou de constituants de microorganismes

Biomagnification

Processus de concentration dans les tissus des organismes vivants par l'intermédiaire de la chaîne trophique. Elle est l'effet de bio-accumulations successives à travers des chaînes alimentaires

Biomasse

Masse de matière vivante animale et végétale

Au sens restrictif : Ensemble des microorganismes (bactéries, champignons, actinomycitales, protozoaires) responsables de la biodégradation des substances organiques

Biosorption

Par ce terme est désigné l'ensemble des mécanismes responsables de l'accumulation des composés organiques par une biomasse microbienne. Ce phénomène implique les processus d'adsorption et / ou d'absorption dans les différents compartiments cellulaires. C'est un processus réversible.

CI 50

Concentration qui, dans un essai d'écotoxicité, est responsable de l'inhibition de l'activité de 50 % de la population mise en jeu

Écosystème

Est constitué d'une biocénose dans son biotope

Écotoxicologie

Discipline qui étudie quantitativement et qualitativement le devenir et les effets des polluants dans l'environnement. Elle prend en considération les impacts sur les êtres vivants et la santé des écosystèmes dont l'homme fait partie. Elle permet d'évaluer les risques et de proposer des solutions pour les gérer

Inoculum

Ensemble des microorganismes introduits lors d'un essai de biodégradation

Métabolisme

Séquence des processus biochimiques par lesquels une substance peut être transformée

Métabolite

Substance issue du métabolisme

Micromycètes

Champignons microscopiques

Traitabilité

Aptitude d'une substance à être éliminée selon un procédé d'épuration physico-chimique et / ou biochimique

Xénobiotique

Corps étranger à l'organisme ou au milieu naturel

AUTORISATION DE SOUTENANCE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 30 mars 1992

Sur les rapports de M. J. VILLARD

M. G.A. THIAULT

M. TOE Adama Makoun est autorisé(e) à présenter une thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'Université Joseph Fourier - GRENOBLE I portant sur le sujet suivant :

Dégradation du pentachlorophénol par les Micromycètes. Etude particulière des Deutéromycètes.

Grenoble, le 11 OCT 1994

Le Président de l'Université
Joseph Fourier - Grenoble I

D. BLOCH



Dégradation du PCP par les micromycètes. Etude particulière des Deutéromycètes.

RÉSUMÉ

L'évaluation de la disparition du pentachlorophénol (PCP) du milieu de culture par des micromycètes par Chromatographie liquide haute performance (CLHP), a permis de détecter des souches performantes quant à leur aptitude à faire disparaître promptement ce produit. Cette rapide disparition du PCP dépend du groupe taxonomique (les souches performantes appartiennent majoritairement au groupe des Deutéromycètes). Cependant à l'intérieur d'un même groupe elle est tributaire du genre, de l'espèce et d'un facteur écologique tel que l'origine de l'isolat. Ainsi, facteurs biotiques, abiotiques et facteurs opérationnels se conjuguent pour déterminer l'aptitude des souches quant à la disparition du PCP.

La rapide disparition du PCP n'est pas tributaire de la production de phénoloxydases extracellulaires. Mais elle semble en revanche être sous la dépendance de mécanismes physico-chimiques telles que l'adsorption et la biosorption. La biosorption apparaît comme une étape transitoire importante dans la biodégradation ultime du PCP.

La rapide disparition du PCP est accompagnée d'une très forte chute de la toxicité du milieu de culture chez les souches performantes. Nous recommandons donc l'utilisation de ces souches dans des essais de traitabilité de ce xénobiotique.

Une réflexion menée sur l'utilisation des pesticides à risques employés en Afrique de l'Ouest Francophone, révèle qu'il est indispensable d'entreprendre d'urgentes mesures en vue de prévenir les risques de pollution.

Mots clefs : pentachlorophénol, biodégradation, micromycètes, biosorption, disparition, biomasse, toxicité, adsorption, traitabilité, Deutéromycètes.

Adama M. TOÉ

Ingénieur d'Agronomie Tropicale (ESAT-Montpellier)

DEA de Toxicologie de l'Environnement (Université de Metz)

Ingénieur de recherches du CNRST (Burkina-Faso)