

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

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

*Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou*

*Faculté des Sciences Biologiques Et des Sciences Agronomiques*

*Département d'Écologie et de l'Environnement*



# Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Écologie et Environnement

Spécialité : Biodiversité et Environnement

***Thème :***

***Essai de biodégradation des plastiques par  
les champignons en laboratoire***

**Présenté par : Yasmine METROUH.**

**Devant le jury composé de :**

**Présidente : Mme SADOUDI-ALI AHMED D.**

Professeur à l'UMMTO

**Promotrice : Mme BACHI K.**

Maitre de conférences B à l'UMMTO

**Examinatrice : CHIBANE G.**

Maitre assistante A à l'UMMTO

**Soutenu publiquement le 23/09/2024**

**Promotion : 2023/2024**

## ***Remerciement***

*Il m'est tout d'abord agréable de remercier ma promotrice Mme BACHI K. Maitre de conférences à l'UMMTO, pour m'avoir encadré durant ce travail. J'ai ainsi eu la chance de bénéficier de son soutien et ses précieux conseil, de son expérience scientifique et de ses remarques très pertinentes. Et je la remercie infiniment pour sa disponibilité, sa gentillesse, et pour le grand intérêt qu'elle a porté à mon travail.*

*Je remercie vivement Mme SADOUDI- ALI AHMED D., Professeur et chef de spécialité biodiversité et environnement à l'UMMTO, d'avoir accepté de présider le jury. Qu'elle trouve ici mes sincères et chaleureux remerciements.*

*Je tiens à remercier Mme CHIBANE G. Maitre de conférences et Chef de département d'écologie et environnement. C'est un honneur et un immense plaisir de présenter ce travail devant vous et de prendre de votre temps pour siéger dans mon travail.*

*Je remercie Mme ALI AHMED S. pour toutes les analyses statistiques. De même je remercie l'ingénieur de laboratoire de PSEMRVC, Mme ABROUS H. pour sa disponibilité et sa gentillesse.*

*Je tiens à remercier mes parents, mes sœurs, mon frère qui m'ont soutenu durant toute cette période de travail. Merci pour tous vos encouragements.*

*Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*



*Mes chers parents, qui m'ont offert tout le bonheur du monde, ainsi qu'un soutien inestimable, tant sur le plan moral que financier. À ma chère maman, qui m'a apporté tout le réconfort nécessaire pour mener à bien ce travail. À mon cher papa, mon binôme discret, toujours présent dans les coulisses.*



*Mes chères sœurs, Imene et Meriem,*



*Mon cher frère, Mustapha,*



*Ma chère amie, Tinhinane Chait.*

## Liste des abréviations

**PE** : Polyéthylène.

**PVC** : Polychlorure de vinyle ou chlorure de polyvinyle.

**LDPE** : Polyéthylène a basse densité.

**HAP** : Hydrocarbures aromatiques polycycliques.

**CPB** : Champignon de la pourriture blanche.

**PDA** : Pomme de terre-Dextrose-Agar.

**Ch** : Champignon d'*Agaricus bisporus* sans sachet blanc en PE.

**Pch** : Sachet blanc en PE + champignon d'*agaricus bisporus*.

**P** : Sachet blanc en PE sans champignon.

**SCHP** : Sol + Champignon d'*Agaricus bisporus* + sachets blancs en PE.

**SCH** : Sol + Champignon d'*Agaricus bisporus* sans sachets blancs en PE.

**SP** : Sol + sachets blancs en PE sans champignon d'*Agaricus bisporus*.

**OCDE** : Organisation de coopération et de développement économiques.

**NWA** : National waste agency.

## Liste des figures

**Figure 01** : Réaction de deux molécules monofonctionnelles (Duval, 2004).

**Figure 02** : Réactions de molécules bifonctionnelles (Duval, 2004).

**Figure 03** : Phénomène de réticulation (Duval, 2004).

**Figure 04** : Représentation semi-développée de la chaîne macromoléculaire du polyéthylène (Douminge, 2010).

**Figure 05** : Représentation multi-échelle de la microstructure d'un polymère semi-cristallin.

**Figure 06** : L'espèce *d'Agaricus bisporus* (Douming,2010).

**Figure 07** : Étape de préparation de sol (Originale, 2024).

**Figure 08** : Mesure du pH du sol avec un pH-mètre (Originale, 2024).

**Figure 09** : étapes de la détermination de la capacité au champ du sol (Originale, 2024).

**Figure 10** : Étapes de la détermination de l'activité biologique dans le sol inoculé par les implants d'inoculum *d'Agaricus bisporus* (Originale, 2024).

**Figure 11** : Technique de bouturage des carpophores *d'Agaricus bisporus* et ensemencement des fragments mycéliens sur milieu PDA (Originale, 2024).

**Figure 12** : Schéma explicatif de la mesure du diamètre moyen (cm) d'une colonie mycélienne.

**Figure 13** : photo de la mesure des diamètre moyen (cm) d'une colonie mycélienne (Originale, 2024).

**Figure 14** : Dispositif expérimental des boites de Pétri contenant le milieu PDA +implant d'inoculum d'Agaricus bisporus + sachet blanc en plastique PE.

**Figure 15** : Dispositif expérimental des boites de Pétri témoins contenant le milieu PDA + implant d'inoculum d'Agaricus bisporus sans sachet blanc en plastique PE.

**Figure 16** : Dispositif expérimental des boites de Pétri témoins contenant le sachet blanc en plastique PE seul sur le milieu PDA.

**Figure 17** : Dispositif expérimental d'un sol inoculé par des fragment mycéliens *d'Agaricus bisporus* + quatre carrés sachets blancs+ un tube de NaOH et l'autre d'eau distillée.

**Figure 18 :** Dispositif expérimental d'un sol inoculé avec *Agaricus bisporus* sans les quatre carrés de sachets blancs PE+ un tube de NaOH et un d'eau distillé.

**Figure 19 :** Dispositif expérimental d'un sol + quatre carrés de sachets blancs PE sans inoculum d'*Agaricus bisporus* + tube de NaOH et l'autre d'eau distillée.

**Figure 20 :** Flacon contenant uniquement deux tubes à hémolyse (ni sol, ni quatre carrés de sachets blancs PE, ni inoculum d'*Agaricus bisporus*).

**Figure 21 :** Diamètre moyen des colonies mycéliennes d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA.

**Figure 22 :** Pourcentage moyen des zones claires d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA sans sachet blanc en PE avec champignon.

**Figure 23 :** Pourcentage moyen des zones claires d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA avec sachet blanc en PE.

**Figure 24 :** le Taux de dégradation des cercles de sachet blanc en PE (%).

**Figure 25 :** Quantité moyenne de CO<sub>2</sub> cumulée selon les différents traitements.

**Figure 26 :** Taux de dégradation des carrés de sachet blanc en PE en pourcentage dans le sol.

## **Liste des tableaux**

**Tableau 01** : La classification d'*Agaricus bisporus* (Chang ,1996).

**Tableau 02** : Composition chimique et mode de préparation du milieu PDA

**Tableau 03** : Rapport d'analyse du sol (laboratoire de pédologie, INRF d'Alger).

**Tableau 04** : Rapport d'analyse physicochimique du sol (SARL NEW LAB).

**Tableau 05** : Résultats de Mesure de la capacité au champ (%).

# Sommaire

<b>Introduction générale</b> .....	01
<b>Chapitre I : Bibliographie général</b>	
I) Revue historique de la création de la matière plastique.....	02
II) Constitution chimique de la matière plastique .....	02
II-1) Molécules monofonctionnelles.....	02
II-2) Molécules bifonctionnelles .....	02
II-3) Molécules trifonctionnelles .....	03
II-4) Matériaux thermoplastique .....	04
II-5) Plastique de type PE (polyéthylènes) .....	04
II-5-1) Structure du polyéthylène.....	04
II-5-2) Mise en forme de PE.....	05
II-5-3) Les différent types de PE.....	05
II-5-4) Application du PE.....	05
II-6) Matériaux thermodurcissable.....	07
II-7) Additifs ou adjuvantes .....	07
II-8) Évolution de la production mondiale des plastiques .....	07
II-9) Consommation des plastiques en Algérie .....	07
II-10) Consommation des plastiques à Tizi Ouzou .....	08
III) Pollution du sol par le plastique .....	08
IV) Biodégradable.....	09
IV-1) Le processus de la dégradation dans le sol .....	09
IV-2) Dégradation du plastique par les champignons de la pourriture blanche.....	10

IV-3) Enzymes associées à la décomposition du plastique .....	11
V) Le champignon <i>Agaricus bisporus</i> (champignon de Paris ou la pourriture blanche) .....	12
V-1) Le genre <i>Agaricus</i> .....	12
V-2) Classification d' <i>Agaricus bisporus</i> .....	13
V-3) Cycle de reproduction.....	13

## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**

I) Matériel utilisé.....	14
I-1) Plastique (Sachet blanc) .....	14
I-2) Matériel biologique (Champignon).....	14
I-3) Présentation de site d'échantillonnage.....	14
I-4) Matériel de laboratoire.....	14
II) Méthodes .....	15
II-1) Préparation du sol.....	15
II-2) Analyse granulométrique.....	16
II-3) Matière organique .....	16
II-4) Analyse physicochimique du sol .....	16
II-5) pH du sol .....	17
II-6) Détermination de la capacité au champ du sol.....	17
II-7) Activité biologique.....	18
II-8) Milieu de culture gélosé utilisé.....	20
II-8-1) Préparation de milieu de culture semi synthétique : Milieu PDA.....	20
II-8-2) Production d'inoculum sur milieux de culture géloses.....	20
II-8-3) Évaluation de la croissance mycélienne.....	21
II-9) Essai de biodégradation des sachets blancs en PE.....	23
II-9-1) Essais sur milieu PDA .....	23

II-9-2) Essais de Biodégradation dans le Sol .....	23
II-10) Analyse statistique des données.....	28
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
I) Résultats.....	29
I-1) Essais de biodégradation des sachets blancs en PE par <i>Agaricus bisporus</i> .....	29
I-1-1) Croissance mycélienne moyenne d' <i>Agaricus bisporus</i> sur milieu PDA après 96h d'incubation.....	29
I-1-2) Pourcentage des zones claires d' <i>Agaricus bisporus</i> sur milieu PDA après 144h d'incubation .....	29
I-1-3) Pourcentage moyen des zones claires d' <i>Agaricus bisporus</i> sur milieu PDA avec sachet blanc en PE .....	30
I-1-4) Taux de dégradation en pourcentage après deux mois d'incubation sur le milieu PDA inoculé par <i>Agaricus bisporus</i> .....	31
I-2) Essais de biodégradation des sachets blancs en PE par <i>Agaricus bisporus</i> dans le sol .....	32
I-2-1) Rapport d'analyse de sol.....	32
I-2-2) Rapport d'analyse physicochimique du sol.....	32
I-2-3) Résultats de Mesure de la capacité au champ (%) du sol .....	33
I-2-4) Détermination du potentiel hydrogène (pH de sol) .....	33
I-2-5) Test respirometrique dans le sol .....	34
I-2-6) Taux de dégradation de PE en pourcentage après deux mois d'incubation dans le sol inoculé par <i>Agaricus bisporus</i> .....	34
II) Discussion.....	35
Conclusion .....	39
Références bibliographiques	
Liste des annexes	

# Introduction générale

L'accumulation de déchets plastiques, en particulier de polyéthylène (PE), est un problème écologique majeur en raison de leur persistance dans l'environnement et de leurs effets néfastes sur les écosystèmes et la santé humaine. Ces plastiques, omniprésents dans la vie quotidienne, libèrent des micro- et nano-particules toxiques et contribuent aux émissions de gaz à effet de serre, exacerbant ainsi le changement climatique (Daussault,2017).

Face à ce défi, la recherche explore des solutions plus durables comme la biodégradation par des champignons. La bioremédiation, utilise des enzymes spécifiques produites par des micro-organismes pour décomposer les polluants. Comparée aux méthodes mécaniques et chimiques, cette approche minimise la production de sous-produits toxiques et peut permettre une minéralisation complète du PE en eau et en dioxyde de carbone (Saadi, 2008).

Ce mémoire examine la capacité de biodégradation des sachets en polyéthylène (PE) par le champignon *Agaricus bisporus* dans des conditions contrôlées, en utilisant un milieu gélosé (PDA) et des échantillons en sol. *Agaricus bisporus*, largement cultivé et disponible localement à Tizi-Ouzou, produit des enzymes capables de décomposer les structures carbonées complexes, en faisant un candidat prometteur pour la dégradation des plastiques. Cette étude est réalisée au sein du laboratoire PSEMRVC de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO).

Le premier chapitre de ce mémoire propose une revue exhaustive de la littérature sur les plastiques, ainsi que sur les mécanismes naturels de biodégradation. Ce chapitre aborde aussi les avancées récentes dans l'utilisation des champignons pour la dégradation des plastiques, avec un accent particulier sur *Agaricus bisporus*. Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodologies de l'étude, détaillant les procédures expérimentales, la préparation des échantillons, les types de milieux de culture utilisés et les protocoles d'analyse physico-chimique et biologique. Enfin, le troisième chapitre est consacré à l'analyse des résultats obtenus, suivi d'une conclusion générale et de perspectives de recherche.

CHAPITRE I  
Bibliographie  
générale

## I) Revue historique de la création de la matière plastique

Créé en 1907 par Leo Baekeland, au terme de quatre années de recherches intensives, il a enfin trouvé une matière plus résistante que le bois, plus légère que le fer et plus solide que le caoutchouc. Mais surtout, elle ne conduit pas l'électricité (Boote et Pretting, 2010). La grande réussite de Baekeland réside dans sa capacité à synthétiser de manière entièrement artificielle des chaînes de molécules très longues, qui existent naturellement. (Boote et Pretting, 2010) .

Dans les années 1950, l'industrie chimique trouve pour ses matières de synthèse une application qui touchera la vie des habitants : l'emballage plastique. Légumes, viande, yaourt ou sucreries, bientôt il n'existe presque plus d'aliment privés de contact avec le plastique. La diffusion de l'emballage plastique s'accompagne d'autres bouleversements sociaux qui interviennent au milieu de XX<sup>ème</sup> siècle. (Boote et Pretting, 2010). Quelques années plus tard, en 1966, déjà 1.3 million de tonnes d'emballages plastiques sont jetés à la poubelle ! (Boote et Pretting, 2010)

## II) Constitution chimique de la matière plastique

### II-1) Molécules monofonctionnelles

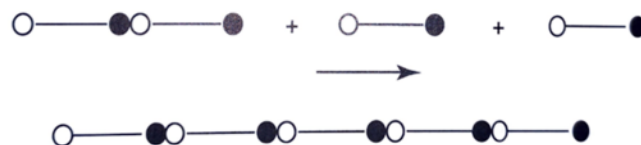
Les molécules organiques ainsi formées sont éventuellement capables de réagir ultérieurement entre elles. La réaction peut dans un certain nombre de cas se produire dans l'autre sens. On parle alors de *réaction réversible*. On peut schématiser cette réaction de la façon imagée suivante (Figure 01) (Duval, 2004).



**Figure 01** : Réaction de deux molécules monofonctionnelles (Duval, 2004)

### II-2) Molécules bifonctionnelles

Selon Duval (2004), certaines molécules sont capables de réagir plus d'une fois, deux fois. On parle de molécules *bifonctionnelles*. Ainsi on obtient un assemblage qui peut atteindre de grandes dimensions et qui fait penser à une chaîne dont les maillons issus des petites molécules de départ (figure 02).

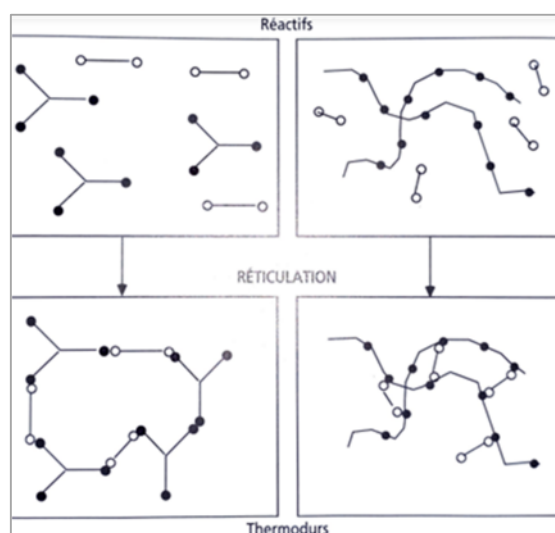


**Figure 02** : Réactions de molécules bifonctionnelles (Duval, 2004).

Les nouvelles molécules ainsi formées, dès d'elles atteignent des dimensions suffisantes, sont appelées **polymères** (du grec *poly*, plusieurs, et *meros*, parties). Dans ce cas, les petites molécules qui ont donné naissance au polymère sont appelées, par opposition, **monomères** (Duval, 2004).

### II-3) Molécules trifonctionnelles

Certaines molécules ont plus de deux capacités de réaction. Leur réaction sur d'autres molécules au moins bifonctionnelles vont donner naissance à des réseaux tridimensionnels plus ou moins complexes (Duval, 2004). Dans certains cas, des chaînes obtenues à partir de molécules bifonctionnelles suivant les modes vus plus haut, peuvent être reliées entre elles par d'autres molécules formant ainsi des ponts. On obtient, ainsi, des structures tridimensionnelles. Le phénomène qui conduit à ces réseaux est appelé *réticulation* (Figure 03) (Duval, 2004).



**Figure 03** : Phénomène de réticulation (Duval, 2004)

Lorsque les monomères réagissent deux fois, ils forment des **macromolécules** qui sont généralement linéaires, bien qu'elles puissent parfois présenter des ramifications. À l'intérieur de ces chaînes, les atomes sont étroitement liés par des liaisons covalentes, qui sont des liaisons **chimiques fortes** en chimie. Cependant, entre les chaînes, il existe également des liaisons beaucoup plus **faibles** qui contribuent à la cohésion du matériau. Bien que ces liaisons plus faibles soient moins robustes, leur abondance est cruciale, car elles assurent le maintien de l'intégrité structurale du matériau (Duval, 2004).

## II-4) Matériaux thermoplastique

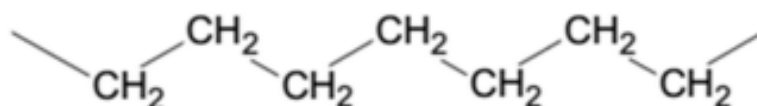
Toutefois, lorsqu'on augmente la température (l'agitation moléculaire), la distance entre les chaîne peut augmenter, localement et pendant des temps courts, pour que ces liaisons secondaires n'aient plus qu'une force négligeable. Cela se traduit à l'échelle macroscopique par une fusion du matériau. Dans ce cas, on a affaire à des *matériaux thermoplastiques* (Duval, 2004). Ils sont définis comme des plastiques qui peuvent être fondus et refondus (NWA, 2020). Parmi ces thermoplastiques, les catégories les plus utilisées sont : **PEHD** (Polyéthylène Haute Densité), **PE** (polyéthylène), **PET** (Polyéthylène Téréphtalate), **PEBD** (polyéthylène Basse Densité), **PP** (Polypropylène) **PVC** (Polychlorure de Vinyle), **PS** (Polystyrène).

## II-5) Plastique de type PE (polyéthylènes)

Les polyoléfines, en particulier les polyéthylènes et les polypropylènes, sont largement considérés comme les polymères les plus couramment utilisés dans l'industrie des plastiques à grande échelle (Chu, Swogger, 2008). En 1933. Le marché du plastique (PE) représente plus de la moitié de la production mondiale de matières plastiques, ce qui en fait le polymère le plus productif au monde (Dubrocq-Baritaud, 2008).

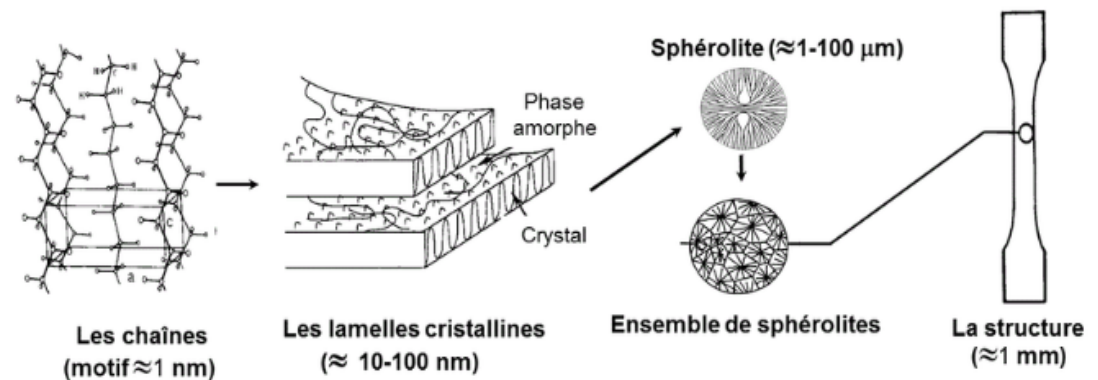
### II-5-1) Structure du polyéthylène

Le polyéthylène est un matériau thermoplastique obtenu par polymérisation de l'éthylène ( $C_2H_4$ ) menant à des macromolécules composées par la répétition du motif ( $CH_2$ ) (Saci, 2017), comme le montre la figure 04.



**Figure 04** : Représentation semi-développée de la chaîne macromoléculaire du polyéthylène ( Douminge, 2010)

La structure du polyéthylène peut être décrite à différentes échelles (Figure 05), partant de la macromolécule pour arriver à l'échantillon macroscopique.



**Figure 05** : Représentation multi-échelle de la microstructure d'un polymère semi-cristallin  
(Douming,2010)

- **L'échelle I** : où la structure moléculaire est directement issue des réactions de synthèse du polymère.
- **L'échelle II** : elle concerne, la structure conformationnelle, c'est-à-dire l'arrangement spatial de la chaîne macromoléculaire
- **L'échelle III** : appelée l'échelle microscopique, permettant de donner l'organisation des phases amorphe et cristalline entre elles sous forme de sphérolites.
- **L'échelle IV** : représentant l'échantillon macroscopique.

### II-5-2) Mise en forme de PE

Le polyéthylène (PE) présente une capacité remarquable à répondre à des exigences techniques élevées, permettant ainsi la fabrication de produits tels que des tuyaux pour l'eau ou le gaz capables de résister à des pressions élevées et à la fissuration, ainsi que des réservoirs d'essence pour automobiles résistant à la chaleur et aux radiations. En plus du PE standard, deux autres types de PE sont fabriqués : le polyéthylène à faible poids moléculaire et son homologue à haut poids moléculaire (Saci, 2017).

### II-5-3) Les différent types de PE

Selon National Waste Agency Algeria différents types de polyéthylènes sont classés en fonction de leur densité, qui dépend du nombre et de la longueur des ramifications sur les chaînes moléculaires. Parmi eux :

- Le PE-BD, ou **polyéthylène basse densité** (LDPE en anglais), présente un nombre plus élevé de ramifications que le HDPE. Sa structure moléculaire est moins compacte et son taux de cristallinité est plus bas.
- Le PE-HD, ou **polyéthylène haute densité** (HDPE), possède peu de ramifications, ce qui le rend plus rigide et moins perméable que le PE-BD.
- Le PE-UHPM, ou polyéthylène à masse molaire très élevée (UHMWPE), présente une très grande longueur de chaînes moléculaires.
- Le PE-BDL, ou polyéthylène à basse densité linéaire (LLDPE), se caractérise par des ramifications linéaires.
- Le PE-R, ou polyéthylène réticulé (PEX), est une forme de polyéthylène basse densité dans laquelle les chaînes moléculaires sont liées pour former un polymère en réseau tridimensionnel. Par rapport au PE-BD, il présente des propriétés thermomécaniques améliorées.
- Le PE-RHD, ou polyéthylène réticulé à haute densité (HDXLPE), est une version réticulée du HDPE.
- Le PE-MD, ou polyéthylène à moyenne densité (MDPE), se situe entre le LDPE et le HDPE en termes de densité (Taleb, 2011).
- Le PE-TBD, ou polyéthylène à très basse densité (VLDPE), possède une densité très faible (ELF ATCEEM,1995)

#### **II-5-4) Application du PE**

Les polyéthylènes sont parmi les polymères les plus largement utilisés en raison de leur faible coût de production et de leurs excellentes propriétés physiques et mécaniques (Douminge,2010). Le polyéthylène basse densité (PEBD) est principalement utilisé dans la fabrication de produits souples tels que des serres agricoles, des sachets, des sacs poubelles, des récipients souples, des jouets, etc. Quant au polyéthylène réticulé, il trouve des applications majeures dans des domaines tels que l'isolation et le gainage des câbles et des fils électriques, les tuyaux d'eau chaude, ainsi que dans la production de produits thermo-irrétrécissables ou thermo-étirables. Il est également utilisé comme revêtement dans diverses applications, allant du bois d'œuvre résineux aux pneus de chemin de fer, en passant par les dispositifs médicaux, la tuyauterie industrielle, les adhésifs, les composants électroniques, et

même dans la synthèse de résines d'échange ionique et d'hydrogels sensibles au stimulus, entre autres (Marghsi,2013).

### **II-6) Matériaux thermodurcissable**

Entre autre, Les matériaux formés à partir de molécules trifonctionnelles ou obtenus par pontage possèdent des liaisons covalentes dans les trois directions de l'espace. La réaction de réticulation qui permet de les obtenir est en général favorisée par le chauffage d'où le nom *thermodurcissable*. Après avoir chauffé et formés, ces plastiques ne peuvent pas être fondus ou refondus (NWA, 2020).

### **II-7) Additifs ou adjuvantes**

Ils sont, d'une part, les charges, les plastifiants et les renforts qui peuvent être utilisés en quantité importante. D'autre part, des colorants et des pigments, des amorceurs et des catalyseurs, des ignifugeants, des stabilisants, des antistatiques, des fongicides...employés en plus petite quantité. Ces ajouts d'additifs permettent de modifier les propriétés du matériau pour qu'il répond au cahier des charges (Duval, 2004).

D'après Stenmarck et al. (2017), parmi les variétés d'additifs utilisés, 144 ont été identifiés comme présentant des risques pour la santé.

### **II-8) Évolution de la production mondiale des plastiques**

En l'espace d'à peine deux décennies, la production annuelle de déchets plastiques dans le monde a doublé, passant de 180 millions à plus de 350 millions de tonnes, comme le révèle le rapport Global Plastics Outlook de l'OCDE. Une grande partie de ces déchets restent mal gérés. À l'échelle mondiale, près du quart d'entre eux (22 %) atterrit dans des décharges à ciel ouvert ou se retrouve dispersé dans la nature. Seulement 9 % sont recyclés, alors que le reste (69 %) est soit incinéré, soit enterré (Gaudiaut, 2023).

### **II-9) Consommation des plastiques en Algérie**

D'après les données du Centre National de l'Informatique et des Statistiques (CNIS), les importations d'intrants pour l'industrie plastique en Algérie ont atteint près de 2,03 milliards de dollars en 2017, en hausse par rapport aux 1,9 milliard de dollars de 2016 et aux 1,7 milliard de dollars de 2015 (NWA,2020).

En ce qui concerne la consommation de plastique, une croissance annuelle de 11% a été enregistrée au cours des dix dernières années, passant de 10 kg par habitant en 2007 à 23 kg en 2017, avec une estimation de 25,8 kg en 2020. Environ 60% de cette consommation est dédiée aux emballages, 20% au secteur du bâtiment et de la construction, tandis que le reste est utilisé dans diverses autres industries (NWA, 2020).

### **II-10) Consommation des plastiques à Tizi Ouzou**

Une quantité de 75% de déchets plastiques a été récupérée par le Centre d'enfouissement technique (CET) de Tizi-Ouzou, entre 2022 et 2023, a-t-on appris de la direction locale de l'Environnement. Pour l'année 2023 et selon un bilan arrêté au mois de mai écoulé, une quantité de 167 ,132 tonnes de déchets plastiques a été récupérée, dont 116 tonnes de PET, 25,72 tonnes de PEHD et 17,52 tonnes de films plastiques, a-t-on ajouté de même source.

### **III) Pollution du sol par le plastique**

L'agriculture constitue la principale source d'entrée des plastiques dans les sols. Notamment, l'utilisation de fertilisants organiques, comme les boues issues des stations d'épuration, a été identifiée comme l'une des premières causes de cette contamination (Ng et al., 2018 ; Qi et al., 2018 ; Raju et al., 2018 ; Sol et al., 2020 in Wahl, 2022).

Pendant le processus de traitement dans les stations d'épuration des eaux usées, les particules les plus fines sont généralement rejetées dans les effluents liquides, tandis que la majorité des microplastiques sont retenus dans les boues résiduelles utilisées ultérieurement comme fertilisants. Ainsi, les composts agricoles et les eaux d'irrigation provenant de ces sources peuvent contaminer les sols par les microplastiques.

La dégradation de ces microplastiques engendre la formation de nanoplastiques et d'une grande variété de molécules, modifiant ainsi la géochimie des sols avec des compositions diverses (Fuller et Gautan, 2016).

Selon Geo et al., 2019, une pratique largement répandue est l'utilisation de films et de paillis plastiques dans l'agriculture. Ces films plastiques, généralement fabriqués à partir de polyéthylène basse densité (LDPE), sont conçus pour se fragmenter pendant la croissance des plantes, ce qui les rend difficilement récupérables.

#### IV) Biodégradable

La dégradation peut être obtenue par des réactions chimiques, généralement photochimiques ou par des réactions biochimiques. Mais, si l'on cherche à protéger l'environnement, il faudra rester très attentif aux molécules produites par ces dégradations chimiques. L'autre mode de dégradation est celui employé par la nature pour détruire les polymères issus de l'activité de la vie. C'est la biodégradation (Duval, 2004).

En fait, l'Association Française de Normalisation subdivise la biodégradation en trois étapes successives ou concomitantes (NFU 52001, 2005 in Dussault, 2017) :

- **Fragmentation** : Ce processus comprend divers phénomènes physiques, chimiques et biologiques qui conduisent à la désagrégation d'un matériau en morceaux de plus en plus petit (Calmon-Decriaud et al., 1998 in Dussault, 2017).
- **Bioassimilation** : Il s'agit du processus par lequel la faune et/ou la flore microscopique, éléments constitutifs de la biomasse, utilisent le matériau comme source de nutriments. Les molécules ou fragments de molécules sont absorbés par les voies métaboliques des micro-organismes (Dussault, 2017).
- **Minéralisation** : C'est le processus au cours duquel les composés assimilés sont décomposés par les micro-organismes en eau et dioxyde de carbone dans des conditions aérobies, ou en eau et méthane dans des conditions anaérobies (Dussault, 2017).

#### IV-1) Le processus de la dégradation dans le sol

Une fois dans les sols, les débris plastiques subissent un processus de dégradation. Chaque type de polymère montre une sensibilité différente à cette altération dans les sols. Des études telles que celles menées par Otake et al. (1995) et Sullivan et al. (2019) ont révélé que le polyéthylène (PE) était plus sensible à la dégradation que le PVC et le polystyrène (PS).

La biodégradation est le principal mécanisme de dégradation observé dans les sols. Le taux d'humidité des sols et le pH sont des facteurs déterminants de la dégradation des plastiques car ils régulent l'activité bactérienne. Le type de sol et la rhizosphère peuvent également influencer la dégradation en régulant le pH. Cependant, la dégradation dans les sols est un processus très lent (Wahl, 2022). Dans les sols, la mobilité des plastiques est gouvernée par des paramètres intrinsèques et extrinsèques. Les paramètres intrinsèques incluent la taille et la forme des particules (Wahl, 2022). Plus elles sont petites, plus elles sont facilement transportées dans la porosité du sol (Gao et al., 2021 ; O'Connor et al., 2019 ; Zhang et al., 2022a in Wahl, 2022).

#### **IV-2) Dégradation du plastique par les champignons de la pourriture blanche**

Ces champignons peuvent parfois être visualisés sous forme de carpophores lorsqu'ils fructifient sur le bois. Mais généralement, ils se développent sous forme de croûtes ou sous forme de filaments mycéliens à la surface du bois. L'avantage de ces filaments est qu'ils sont capables de s'insinuer entre les fibres du bois et de permettre une dégradation beaucoup plus efficace, puisque le champignon est directement en contact avec le matériau (Morel-Rouhier, 2023).

Les champignons jouent un rôle essentiel dans la biodégradation des polymères naturels comme le bois et synthétiques (le plastique). Ils possèdent la capacité de synthétiser des réactions enzymatiques agissant sur les polymères, ce qui déclenche le processus de fragmentation et de minéralisation (Saadi, 2008). Plusieurs chercheurs se sont concentrés sur les traitements biologiques des déchets plastiques (Deguchi et al., 1997).

Selon Painting (2001), il a été démontré que les champignons ont la capacité de décomposer une variété de polluants de structures complexes et variées. Leurs productions enzymatiques variées et riches, y compris les enzymes ligninolytiques extracellulaires, contribuent à ces capacités. Ces enzymes, qui ne sont pas très spécifiques au substrat, sont capables de métaboliser une variété de polluants organiques. Par conséquent, le mycélium fongique possède un appareil capable de décomposer les xénobiotiques. Ces derniers peuvent être utilisés comme substrats pour les systèmes enzymatiques intracellulaires.

Selon Borràs et al., 2010, Les CPB peuvent détoxiquer ou supprimer divers polluants aromatiques et xénobiotiques, ils ne sont pas spécifiques et sont efficaces contre beaucoup de composés aromatiques (Gupta et Shrivastava, 2014). Les enzymes créées par les champignons de pourriture blanche ont la capacité de biodégrader les matières résiduelles de textiles synthétiques tels que le polyester et le nylon en créant les radicaux nécessaires pour rompre leurs liaisons (Dussault, 2017). Grâce à la production et à l'implication d'enzymes oxydatives extracellulaires dans la dépolymérisation de la lignine, les CPB sont les seuls organismes capables de dégrader à la fois la lignine, la cellulose et les hémicelluloses (Dussault, 2017). Les laccases, les peroxydases de manganèse et les lignines peroxydases sont quelques-unes des enzymes extracellulaires produites par les CPB (Dussault, 2017).

La masse molaire moyenne d'un polymère varie lentement avec une perte de masse globale, car les exo-enzymes hydrolysent spécifiquement les liaisons ester situées en bout de chaîne, libérant ainsi des monomères (Dussault, 2017). Entre autres choses, les endo-enzymes rompent les liaisons ester de la chaîne carbonée du polyester, ce qui libère des polymères à moins de masse molaire, ce qui réduit considérablement la masse molaire moyenne du polymère restant (Saha, 2006 in Dussault, 2017).

#### **IV-3) Enzymes associées à la décomposition du plastique**

Les enzymes jouent un rôle important car elles catalysent les réactions chimiques dans les organismes vivants. Les enzymes sont des protéines (polypeptides de grande masse molaire) produites par la condensation d'acides aminés. La chaîne peptidique est formée par les liaisons amide, qui sont le résultat de la réaction des fonctions amine sur les fonctions acides (Saadi, 2008 in Dussault, 2017).

Les enzymes ligninolytiques se composent des peroxydases, laccases et d'autres enzymes nécessaires à la formation des radicaux dérivés réactifs de l'oxygène (Reddy et Matthew, 2001). Selon ces auteurs, ces enzymes, en plus de dégrader les HAP, catalysent l'oxydation des xénobiotiques, en brisant les liaisons carbone-carbone et carbone-oxygène, on site :

- **Cutinase** : Les cutinases sont une sous-classe d'enzymes estérases qui peuvent hydrolyser des polyesters de grande masse moléculaire (Chen et al. 2013).
- **Lipase** : Les lipases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des lipides. Elles appartiennent également à la sous-classe des enzymes estérases.
- **Laccases** : Les laccases sont des oxydases à cuivre multiples qui catalysent l'oxydation des composés phénoliques en utilisant l'oxygène moléculaire comme co-substrat, produisant ainsi de l'eau et des sous-produits (Nunes et Kunamneni, 2018).
- **Pro-oxidant** : Des entités chimiques appelées ions pro-oxydants provoquent un stress oxydatif en libérant des espèces réactives de l'oxygène ou en freinant le système antioxydant.
- **Enzyme cytochrome P450** : Selon Fontana (2005), Les enzymes cytochrome P450 sont des mono-oxygénases hémoprotéiques. Elles contiennent un groupe hème, qui est essentiel pour leur activité enzymatique.

**V) Le champignon *Agaricus bisporus* (champignon de Paris ou la pourriture blanche)**

L'*Agaricus bisporus* (figure 07), plus communément connu sous le nom de Champignon de Paris, est un champignon faisant partie de la division des Basidiomycota. Il est largement reconnu comme l'une des espèces comestibles les plus populaires et les plus cultivées à travers le monde. Ce champignon est un saprophyte humicole, ce qui signifie qu'il se nourrit de matière organique en décomposition présente dans le sol. Il est cultivé sur des composts composés de différents résidus végétaux ainsi que de fumiers ou de fientes de volailles, selon la recherche de Del Pilar et Rodriguez en 2014.

**V-1) Le genre *Agaricus***

Les champignons du genre *Agaricus* sont généralement caractérisés par un chapeau charnu, de couleur blanche, jaune ou brune, lisse lorsqu'ils sont jeunes et recouvert de fibrilles ou de squames de teinte ocrée à mesure qu'ils mûrissent. Leurs lames, initialement roses, deviennent brun-noir à noires avec l'âge. Les trames des lames sont régulières au début mais deviennent irrégulières avec le temps, et leur sporée présente une teinte allant du brun pourpre au brun foncé. Ces caractéristiques ont été observées dans l'étude de Del Pilar et Rodriguez en 2014.



**Figure 06 :** L'espèce *d'Agaricus bisporus*

**V-2) Classification d'*Agaricus bisporus*****Tableau 01** : La classification d'*Agaricus bisporus* (Chang ,1996).

<b>Règne</b>	<b>Fungi</b>
<b>Division</b>	Basidiomycota
<b>Classe</b>	Hymenomycets
<b>Ordre</b>	Agaricales
<b>Famille</b>	Agaricacea
<b>Genre</b>	Agaricus
<b>Espèce</b>	Agaricus bisporus

**V-3) Cycle de reproduction**

L'étude des divers modes de reproduction chez les champignons bénéficie d'*Agaricus bisporus* comme modèle intéressant. En effet, au sein des différentes souches et variétés de cette espèce, plusieurs cycles de reproduction se manifestent. Premièrement, la reproduction végétative se produit par mitose, engendrant un mycélium génétiquement identique à l'organisme parental. Ensuite, la reproduction sexuée intervient, créant par méiose des individus génétiquement distincts des parents. Enfin, d'autres processus, regroupés sous le terme de reproduction parasexuée, contribuent également à la diversification génétique. Ces modes de reproduction exercent une influence significative sur la structure génétique des populations, comme le souligne Banafsheh en 2014.

# CHAPITRE II

## Matériel et méthodes

## **I) Matériels utilisés**

### **I-1) Plastique (Sachet blanc)**

Le polluant étudié dans la biodégradation est un sachet en plastique blanc de type PE (polyéthylènes).

### **I-2) Matériel biologique (Champignon)**

Le matériel biologique utilisé dans la biodégradation du plastique est *Agaricus bisporus* appelé communément le champignon de Paris.

### **I-3) Présentation de site d'échantillonnage**

Les échantillons de sol ont été prélevés de manière aléatoire au niveau de la couche superficielle du sol (0 – 25 cm). Le site de prélèvement est située à l'université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou (Campus Bastos), Algérie. Le sol prélevé est destiné pour un essai dans laboratoire à l'objectif de la biodégradation de plastique par les champignons.

### **I-4) Matériel de laboratoire**

#### **Gros matériel**

- Hôte stérile
- Réfrigérateur ENIEM.
- Étuves BINDER.
- Balance de précision

#### **Petit matériel**

- Agitateur magnétique RUHROMAG.
- Bec bunsen.
- Pincés.
- Scalpels.
- Spatule.
- Emporte-pièce de 1 cm de diamètre.
- Cylindre gradué ou balance.
- Papier filtre.

**Verrerie**

- Boîtes de Pétri en plastique.
- Béchers de 1000 ml.
- Flacons
- Erlenmeyers de 1000 ml.

**Matériel consommable**

- Coton.
- Papier Aluminium.
- Boîtes de Pétri en plastique.
- Étiquettes.

**Produits chimiques**

- Agar-Agar.
- Éthanol à 75°.
- Glucose (CH,20%).
- Eau distillée (HO).
- Sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>).
- Hypochlorite de sodium (NaOH).

**II) Méthodes****II-1) Préparation du sol**

Le sol échantillonné sur le terrain a été transporté dans des sachets en plastique au laboratoire, où il a été étalé sur les paillages, nous l'avons laissé séché à température ambiante au laboratoire (figure 07). Ensuite, il est broyé manuellement et tamisé à travers un tamis de 2 mm. Le sol tamisé est placé dans des flacons en verre à raison de 100g par flacon, puis stérilisés dans un four à température maximale de 400° pendant 2 heures. Les échantillons ont été étiquetés et stockés dans un endroit sec. Une partie du sol tamisé pour l'effectuer la série d'analyse suivante : pH, MO, CO<sub>2</sub>, N, analyse granulométrie, et la capacité au champ.



Figure 07 : Étape de préparation de sol

## II-2) Analyse granulométrique

La vitesse de sédimentation des particules séparées et dispersées par destruction de la matière organique par une attaque à l'eau oxygénée. Le fractionnement de ces particules se fait par l'intermédiaire de la pipette de Robinson qui permet la détermination des fractions argileuses et limoneuses fines. Ensuite, les sables fins et grossiers sont mesurés par tamisage (Baize, 2000; Boudrhem, 2011)

## II-3) Matière organique

Les classes d'appréciation de la teneur du sol en matière organique sont réalisées en fonction du taux de carbone. La détermination de la matière organique est effectuée par la méthode de Walkley- Black : le carbone organique est oxydé par du bichromate de potassium en milieu sulfurique.

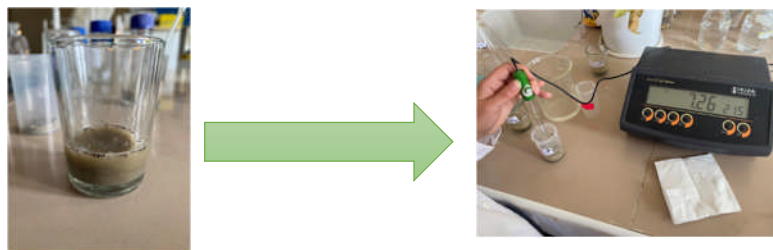
## II-4) Analyse physicochimique du sol

La méthode employée est celle de Kjeldahl, par l'acide sulfurique. Ainsi la matière organique azotée est minéralisée par l'acide sulfurique concentré à chaud (action oxydante du  $H_2SO_4$ ). L'azote transformé en ammoniac est fixé par l'acide sulfurique à l'état de sulfate d'ammoniac. Le sulfate de potassium permet d'élever la température d'ébullition de l'acide sulfurique (de 317 à 330 °C). Cette première phase s'appelle la digestion, l'acide sulfurique sera additionné à l'acide salicylique. Dans cette méthode de Kjeldahl, l'ion  $NH_4^+$  est déplacé par l'hydroxyde de sodium et entraîné à la vapeur d'eau puis fixé par l'acide

borique à l'état de borate, lui-même dosé par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> titré. Cette dernière phase s'appelle la distillation

### II-5) pH du sol

Dans un bécher, nous avons préparé une suspension de sol dans l'eau au rapport de 1/ 2,5 (p/v). Pour obtenir ce rapport, nous avons donc mélangé avec une baguette en verre 10 g de sol dans 12.5 ml d'eau distillée. La suspension obtenue est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique pendant environ 15 minutes pour assurer une bonne dispersion du sol dans l'eau. Enfin, nous avons laissé la suspension décanter pendant deux heures 2h pour permettre la lecture au pH mètre (Duchauffour, 2001).



**Figure 08** : Mesure du pH du sol avec un pH-mètre

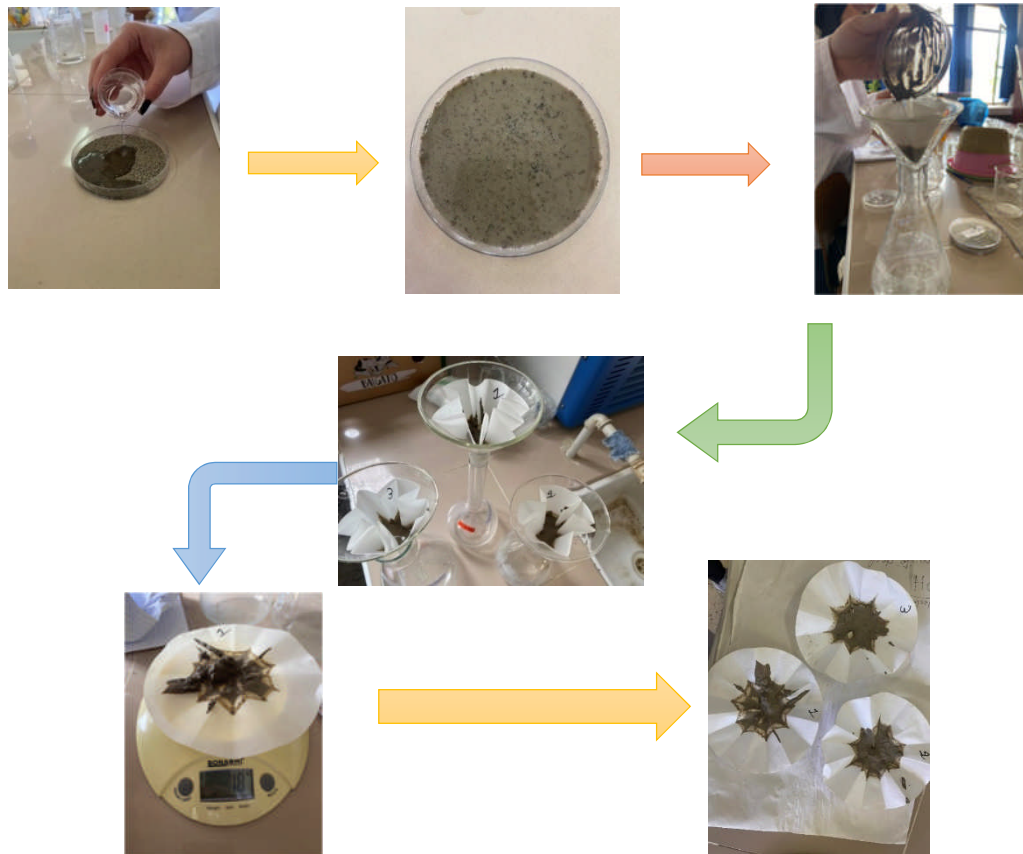
### II-6) Détermination de la capacité au champ du sol

Nous avons pris un échantillon de sol représentatif du site à tester puis tamiser 10g de sol pour éliminer les grosses particules. Nous avons rempli un récipient avec le sol tamisé puis nous avons rajouté de l'eau lentement jusqu'à ce que le sol soit complètement saturé. Après 24h nous avons rempli les papier filtres avec (sol+ eau) et laissé de l'eau s'écouler (figure 09). Ensuite, on a pesé le sol humide, puis le laissé sécher. Après 48h on a pesé à nouveau le sol sec (Bouderhem, 2011). Nous avons calculé la capacité au champ en utilisant la formule suivante :

$$\text{Capacité au champ (\%)} = (P1 - P0 / P0) \times 100$$

P1 : Poids du sol humide.

P0 : Poids du sol après séchage pendant 48h.



**Figure 09** : étapes de la détermination de la capacité au champ du sol

### II-7) Activité biologique

Pour déterminer l'activité biologique dans le sol inoculé par les implants d'inoculum d'*Agaricus bisporus* et les différents témoins, nous avons suivi la méthode de Dommerges (1968) (modifié). Nous avons récupéré les tubes à hémolyse de NaOH à 0.5M, des différents flacons. D'autre part nous avons dissous 20g de baryum dans 100ml d'eau distillée. Nous avons agité la solution jusqu'à dissolution complète du baryum. Dans un tube contenant une solution de NaOH récupéré, on a ajouté 3 gouttes de la solution de baryum préparée.

La solution deviendra immédiatement blanche en raison de la formation d'un précipité. Nous avons rajouté quelques gouttes de phénolphtaléine à la solution (NaOH, baryum). Elle va changer de couleur pour devenir rose, indiquant la présence d'une base forte (NaOH). À l'aide d'une pipette de titrage nous avons ajouté lentement la solution d'HCl à 0.25M, à la solution rose. On continuera le titrage jusqu'à ce que la couleur rose disparaisse et que la solution redevienne transparente, indiquant que la réaction acide-base est complète (figure 10).

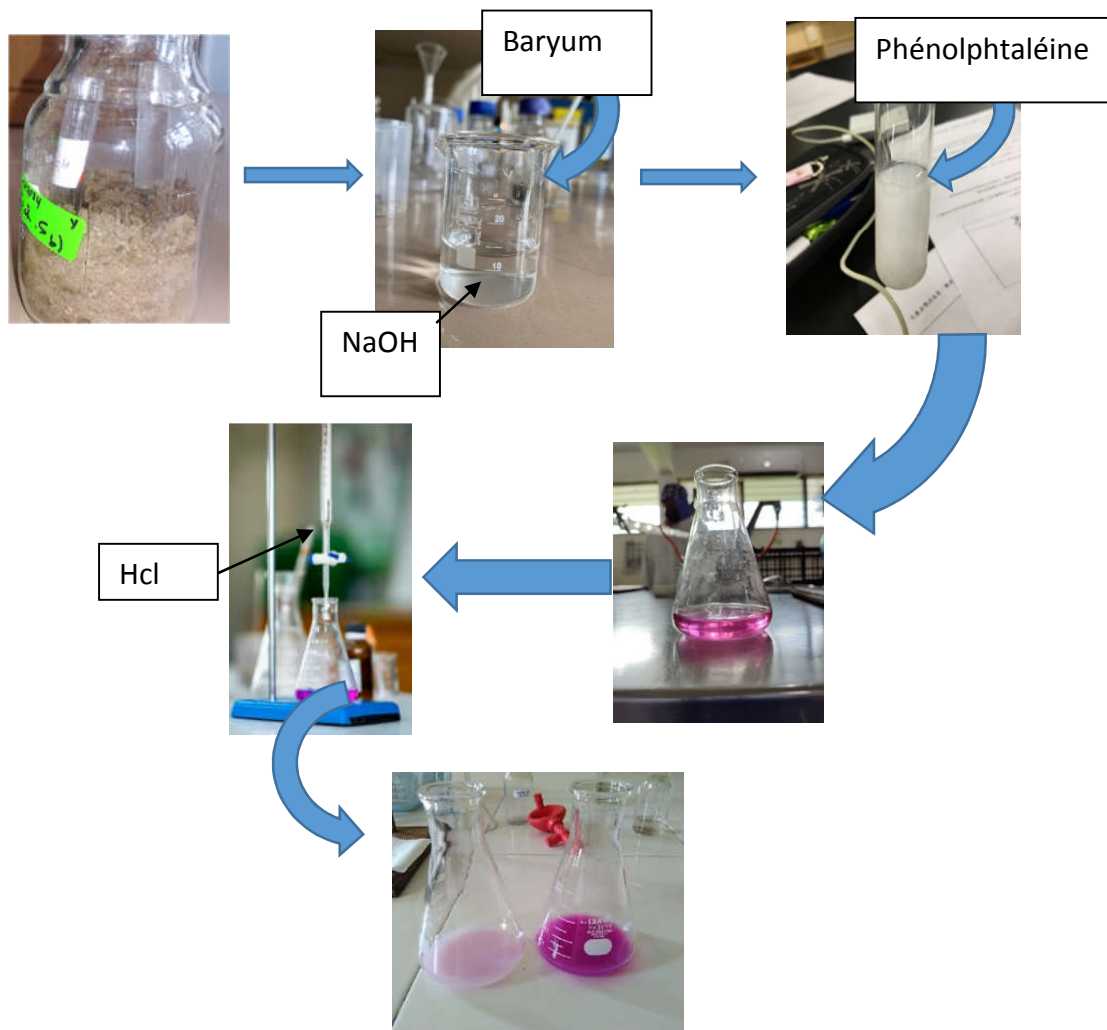
Nous avons calculé la quantité de CO<sub>2</sub> fixée en utilisant la formule suivante :

$$(8,6 - V) \times 2,2 = \text{Quantité de CO}_2 \text{ fixée}$$

8,6 : la quantité de Hcl titrer.

V : le volume de Hcl dans la pipete.

2,2 : Quantité en g de CO<sub>2</sub> fixée.



**Figure 10** : Étapes de la détermination de l'activité biologique dans le sol inoculé par les implants d'inoculum d'*Agaricus bisporus*

## II-8) Milieu de culture gélosé utilise

### II-2-1) Préparation de milieu de culture semi synthétique : Milieu PDA (pomme de terre –Dextrose- Agar)

La composition et le mode de préparation de **milieu PDA** est présenté dans le tableau 02.

**Tableau 02** : Composition chimique et mode de préparation du milieu PDA (Rapilly 1968)

Composition chimique	Mode de préparation
-200g de pomme de terre lavée et épluchée puis coupé en petits cubes -20g du glucose -20g de gélose	Cuire 15 à 20 min la pomme de terre dans 200 ml d'eau distillée pendant 20mn ; récupérer le filtrat, ajouter au glucose et à la gélose, ajuster à 1 litre d'eau distillée. Homogénéiser et stériliser à 120°C pendant 20mn.

### II-8-2) Production d'inoculum sur milieux de culture géloses

Après stérilisation, le milieu de culture (PDA) a été coulé aseptiquement dans des boîtes de Pétri à raison de 23 ml de milieu par boîte, puis laissé à température ambiante pour solidification.

#### a) Bouturage des carpophores

Les carpophores de champignon de Paris sont des souches locales commercialisées.

Pour le bouturage des carpophores, nous avons adopté la technique de Mansour-Benamar et al (2013) : Le bouturage nécessite des conditions d'asepsie rigoureuse. Il faut bouturer le mycélium dicaryotique qui compose le carpophore. Bien sûr, il faudrait d'abord choisir un carpophore en très bon état, puis l'ouvrir à l'aide d'un couteau stérile dans le sens de la longueur ou le déchirer à la main, puis découper à l'aide d'un scalpel stérile des morceaux de mycélium du carpophores dans les parties mises à nu, car ce se sont les plus stériles. Ensuite à l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé des fragments de mycélium, puis chacun des fragments est déposé au centre des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes ainsiensemencées sont filmées à l'aide d'un film étirable (figure 11).



**Figure 11** : Technique de bouturage des carpophores *d'Agaricus bisporus* et ensemencement des fragments mycéliens sur milieu PDA

### **b) Incubation**

Une fois les boîtes de Pétri refermées et scellées avec du ruban adhésif, elles sont mises à incuber à 24°C.

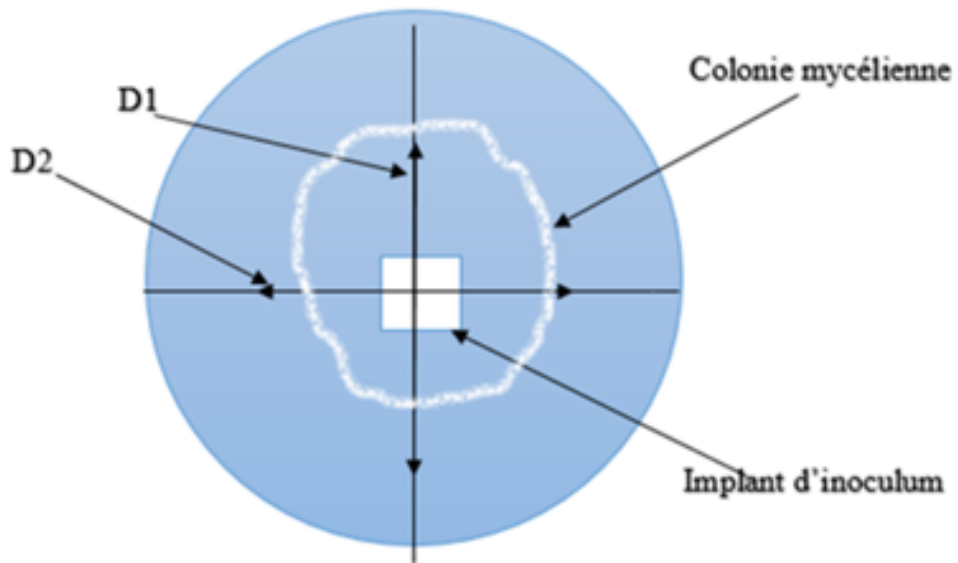
### **c) Entretien du mycélium et repiquage**

Après solidification du milieu de culture PDA dans des boîtes Pétri, nous avons procédé à l'ensemencement d'explant mycélien *d'Agaricus bisporus* prélevé à partir des cultures mycéliennes âgées de 8 jours. Il faut d'abord stériliser une pince et un scalpel à la flamme sous hôte à flux laminaire puis les laisser refroidir.

Ensuite, à l'aide de la pince stérile, il faut prélever, chaque implant d'inoculum de 1 cm<sup>2</sup> de côté et le déposer au centre d'une des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, enfin refermer la boîte et la sceller à l'aide d'un ruban adhésif ou d'un film étirable. Afin de multiplier les cultures mycéliennes, nous avons procédé à de nouveaux prélèvements d'implants d'inoculum de 1cm de côté que nous avons repiqué sur le milieu PDA.

### **II-8-3) Évaluation de la croissance mycélienne**

La croissance mycélienne est estimée par la mesure du diamètre moyen  $((D1+D2) / 2)$  en (cm) des colonies développées à partir des implants d'inoculum selon deux axes perpendiculaires tracés sur le couvercle de chacune des boîtes de Pétri et passant par le centre de l'implant (figure 12).



**Figure 12 :** Schéma explicatif de la mesure du diamètre moyen (cm) d'une colonie mycélienne



**Figure 13 :** photo de la mesure des diamètre moyen (cm) d'une colonie mycélienne

## II-9) Essai de biodégradation des sachets blancs en PE

### II-9-1) Essais sur milieu PDA

Pour cet essai, on coupe des disques de sachets blancs en PE de même diamètre que les boîtes de Pétri. Ces derniers sont préalablement stérilisés dans un autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Ces disques sont déjà pré-peser.

Les disques de sachets blancs stériles sont déposés aseptiquement sur milieu gélosé PDA contenant l'inoculum de 1 cm<sup>2</sup> d'*Agaricus bisporus* posé préalablement au centre de chaque boîte de Pétri. Les boîtes de pétri contenant le milieu PDA, l'implant d'inoculum et les disques de sachets blancs en PE sont fermées à l'aide d'un film transparent puis mise à incuber à une température de 24°C. Nous avons réalisé 10 répétitions pour cet essai (figure 14).

Des témoins ont été réalisés en parallèles et qui sont les suivants :

**Témoin 1 :** boîte de Pétri contenant le milieu PDA avec l'inoculum d'*Agaricus bisporus* sans disque de sachet blanc en plastique PE (figure 15).

**Témoin 2 :** boîte de Pétri contenant le sachet blanc en plastique PE seul sur le milieu PDA (figure 16).

L'évaluation de la biodégradation des sachets sur milieu PDA se fait par le calcul des zones claires qui est estimé toutes les 48 heures selon la formule suivante :

$$\text{Taux de dégradation (\%)} = (\text{la surface claire} / \text{la surface du boîte}) \times 100$$

Pour se faire, nous avons placé d'abord du papier calque sur les faces supérieures des boîtes pétrées mises en évidence. Ensuite nous avons procédé, pendant 21 jours, et périodiquement à chaque 48 heures à calquer les formes des zones claires apparentes. Puis, nous nous sommes mis à reproduire ces mêmes formes sur du papier millimétré pour pouvoir calculer (en mm<sup>2</sup>) les surfaces des zones claires.

### II-9-2) Essais de Biodégradation dans le Sol

Dans des flacons en verre, nous avons mis 100g de sol stérilisé et humidifié avec 1 ml d'eau stérile. Ce dernier a été inoculé avec l'inoculum d'*Agaricus bisporus* prélevé sur milieu PDA, ensuite nous avons introduit 4 carrés de sachets blancs en PE de 1 cm dans chaque flacon contenant le sol inoculé. Nous avons réalisé 10 répétitions pour cet essai (figure 17). Les flacons sont incubés à l'obscurité à 24°C. Chaque flacon contient deux tubes à hémolyse : un tube

contenant 5 ml de solution mère de NaOH et l'autre 5 ml d'eau distillée. En parallèle des témoins ont été réalisés comme suit :

À l'intérieur de chaque flacon témoin, nous avons placé deux tubes à hémolyse. Un tube contenant 5 ml de solution mère de NaOH pour mesurer la respirométrie (quantité de CO<sub>2</sub> dégagée) et l'autre tube contenant 5 ml d'eau distillée pour maintenir une atmosphère humide dans le flacon. Tous les flacons témoins sont incubés à l'obscurité à 24°C.

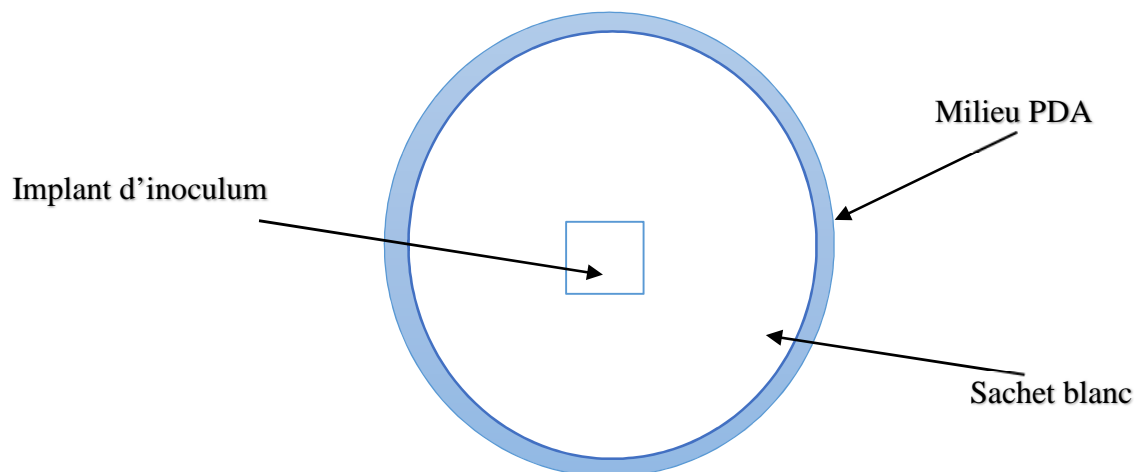
**Témoin 2** : sol inoculé avec l'inoculum d'*Agaricus bisporus* sans les quatre carrés de sachets blanc PE (figure 18).

**Témoin 3** : sol sans inoculum des fragments mycéliens d'*Agaricus bisporus* + quatre carrés sachets blanc PE (figure 19).

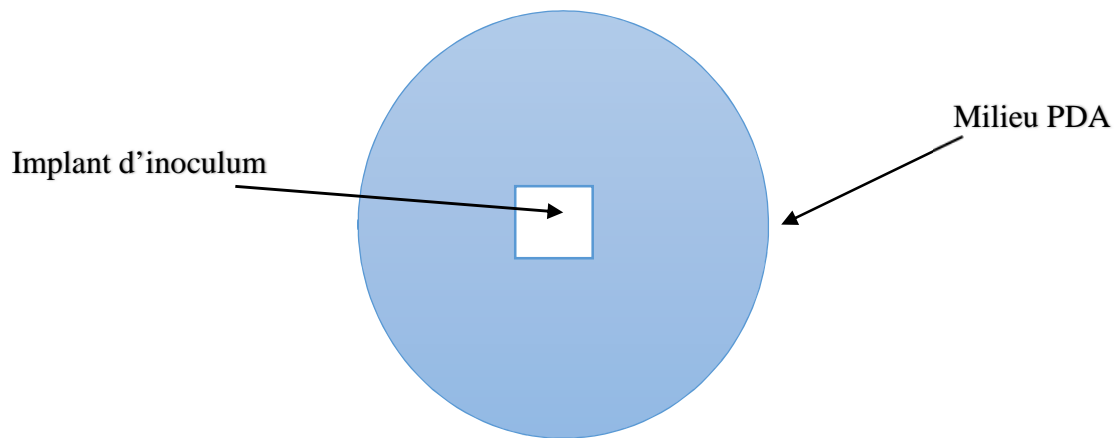
Nous avons réalisé trois répétitions pour chaque témoin.

**Témoin 4** : flacon contenant uniquement deux tubes à hémolyse (ni sol, ni polluant, ni champignon). Une seule répétition (figure 20)

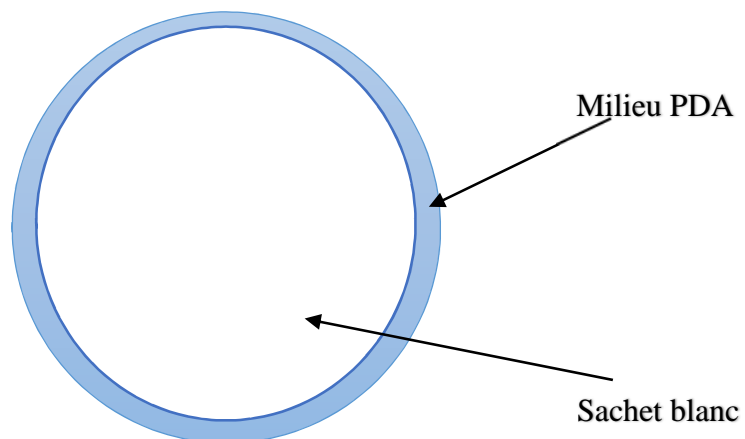
L'évaluation de la biodégradation des sachets blanc en PE se traduit par l'évaluation de l'activité biologique dans le sol en mesurant la respirométrie, et en mesurant le poids final des sachets et l'observation des changements de l'état physique des sachets.



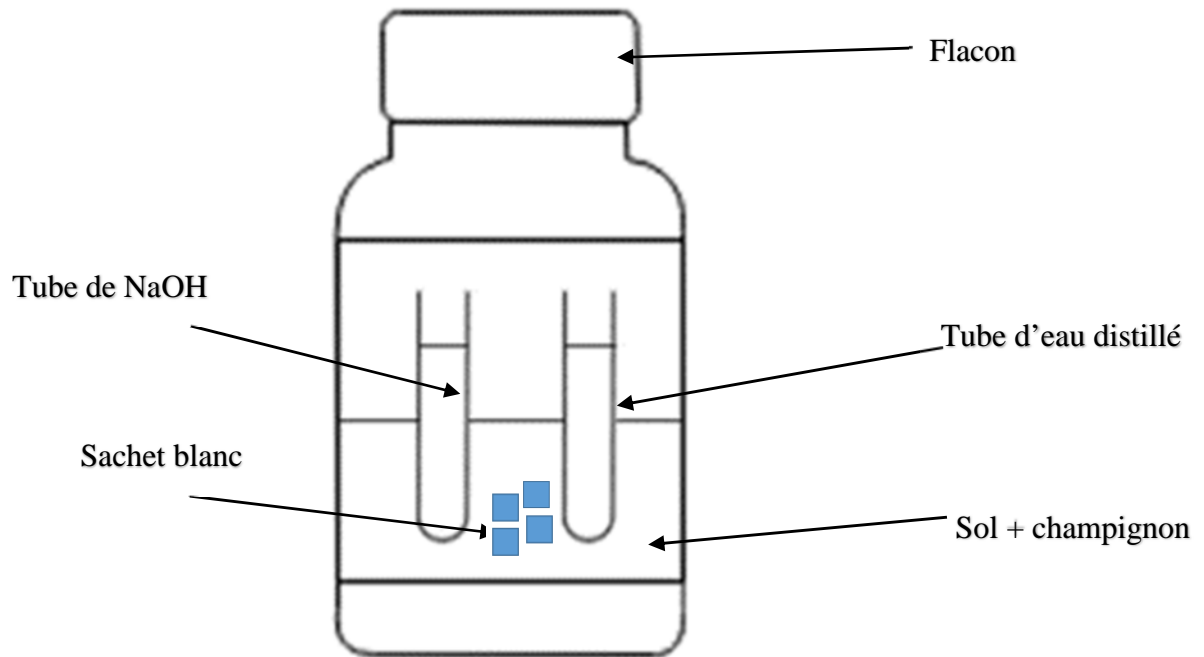
**Figure 14** : Dispositif expérimental des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA +implant d'inoculum d'*Agaricus bisporus* + sachet blanc en plastique PE.



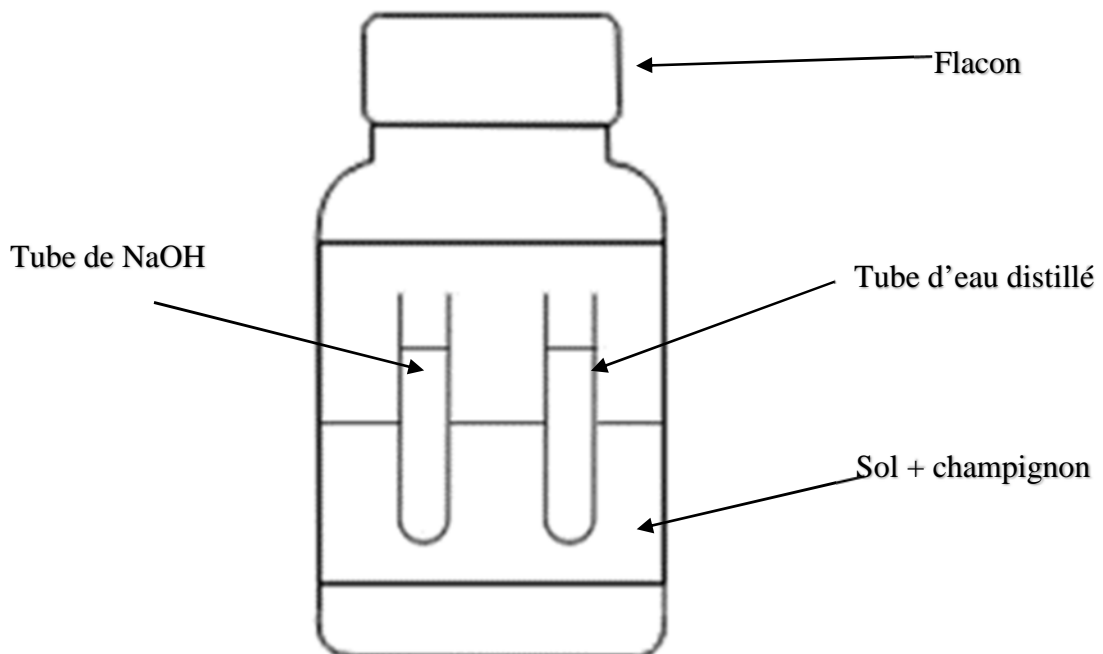
**Figure 15 :** Dispositif expérimental des boîtes de Pétri témoins contenant le milieu PDA + implant d'inoculum d'*Agaricus bisporus* sans sachet blanc en plastique PE.



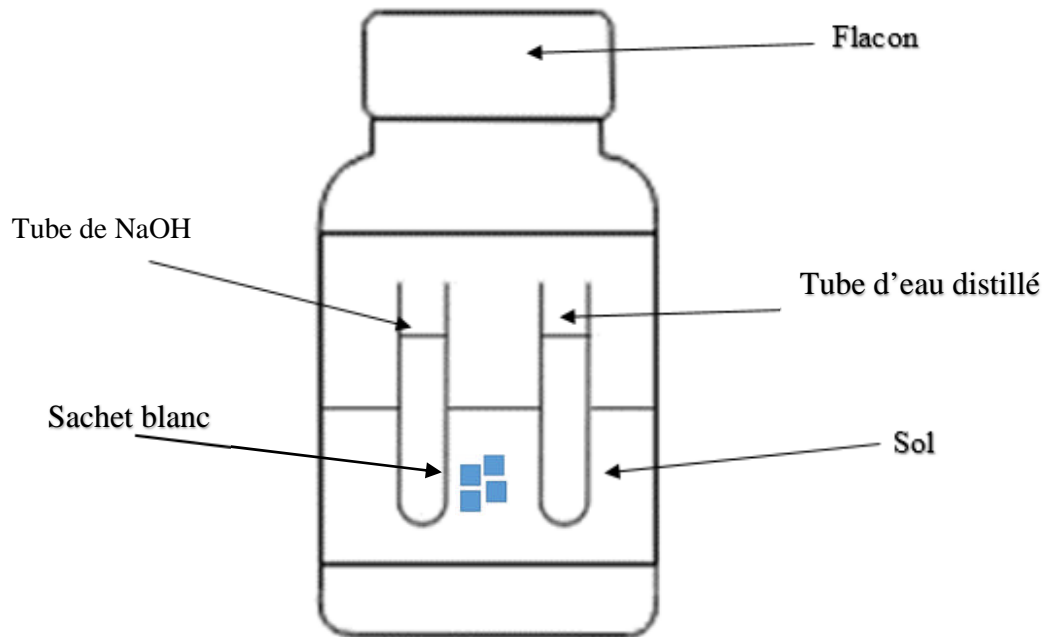
**Figure 16 :** Dispositif expérimental des boîtes de Pétri témoins contenant le sachet blanc en plastique PE seul sur le milieu PDA.



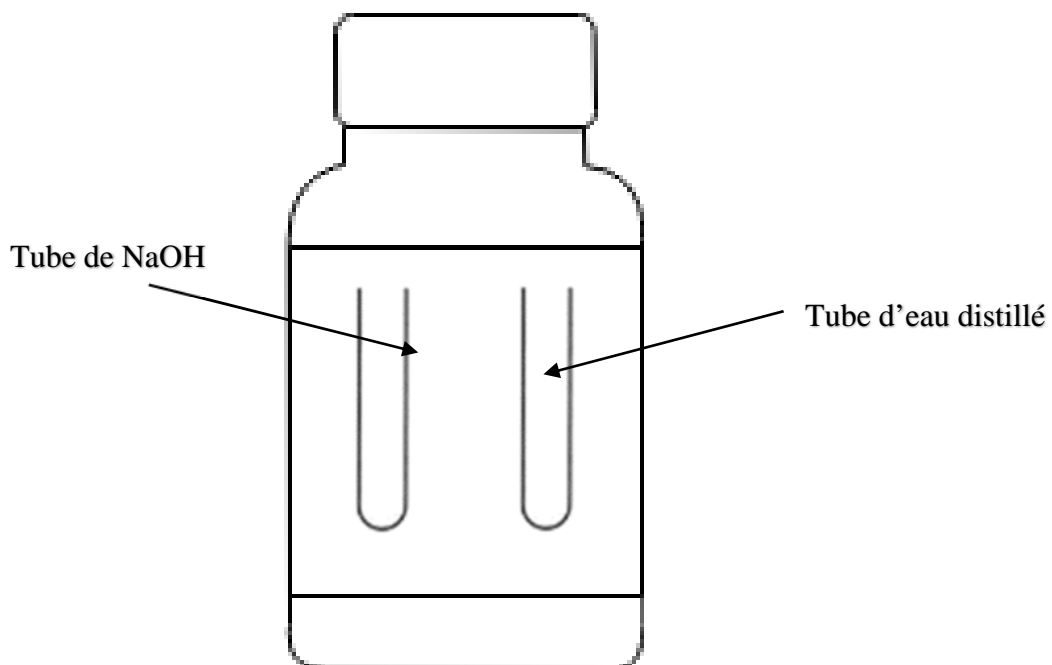
**Figure 17 :** Dispositif expérimental d'un sol inoculé par des fragment mycéliens d'*Agaricus bisporus* + quatre carrés sachets blancs+ un tube de NaOH et l'autre d'eau distillée.



**Figure 18 :** Dispositif expérimental d'un sol inoculé avec *Agaricus bisporus* sans les quatre carrés de sachets blancs PE+ un tube de NaOH et un d'eau distillé.



**Figure 19** : Dispositif expérimental d'un sol + quatre carrés de sachets blancs PE sans inoculum *d'Agaricus bisporus* + tube de NaOH et l'autre d'eau distillée.



**Figure 20** : Flacon contenant uniquement deux tubes à hémolyse (ni sol, ni quatre carrés de sachets blancs PE, ni inoculum *d'Agaricus bisporus*).

- L'évaluation de la biodégradation des sachets blancs en PE dans le milieu PDA et dans le sol se traduit par la mesure de poids final des disques et des carrés de sachets blancs en PE. La mesure du poids a été réalisée à l'aide d'une balance de précision.

Le taux de dégradation est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de dégradation (\%)} = (\text{Poids initial} - \text{Poids final} / \text{Poids initial}) \times 100$$

### II-10) Analyse statistique des données

Le traitement des résultats obtenus a été réalisé avec le logiciel R.4.1.0. Les différents tests ont été réalisés pour interpréter les données et en tirer des conclusions significatives.

Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour toutes les analyses où la normalité des données n'était pas vérifiée. Ce test a permis de déterminer des groupes homogènes et d'identifier des différences significatives entre les périodes et les traitements pour la croissance mycélienne, les surfaces claire d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA, et l'activité biologique d'*Agaricus bisporus* dans le sol. Le test de Wilcoxon a été réalisé Pour le poids des sachets blancs en PE dans le milieu PDA et dans sol.

# CHAPITRE III

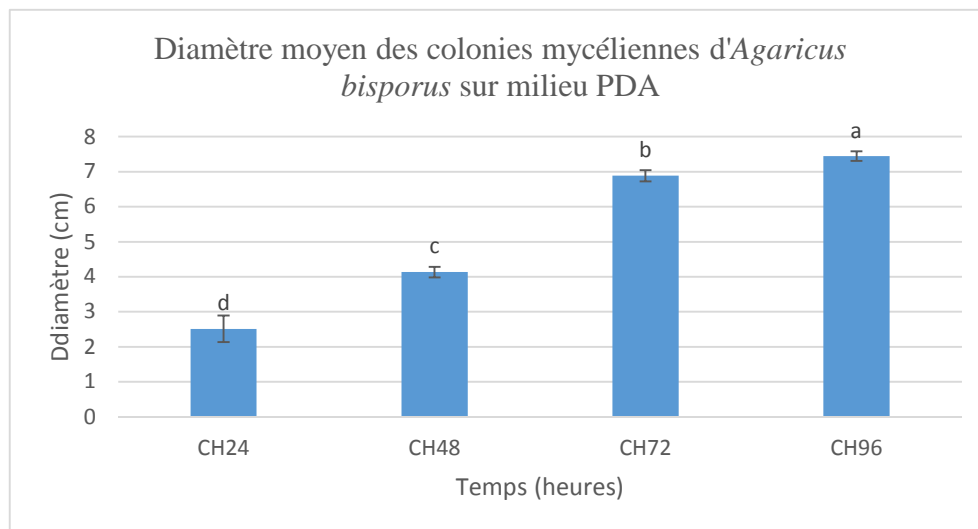
## Résultats et discussion

## I) Résultats

### I-1) Essais de biodégradation des sachets blancs en PE par *Agaricus bisporus* sur milieu PDA

#### I-1-1) Croissance mycélienne moyenne d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA après 96h d'incubation

Les résultats du diamètre moyen des colonies mycéliennes d'*Agaricus bisporus* sur le milieu PDA sont illustrés par la figure 26. Le diamètre moyen après 24h d'incubation est de l'ordre de 2,51 cm. Il augmente à 4,13 cm après 48h d'incubation. Enfin, la croissance mycélienne moyenne devient maximale après 96h d'incubation, elle est de l'ordre de 8.5cm (figure 21).

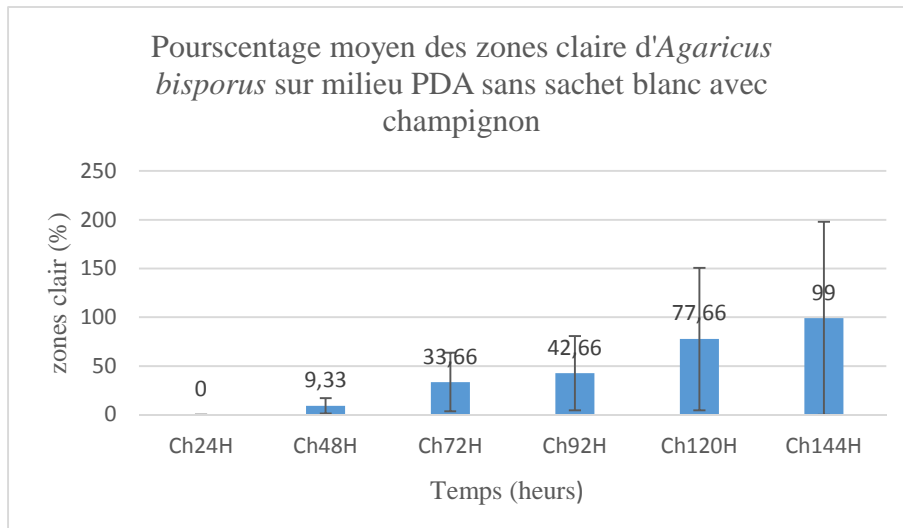


**Figure 21** : Diamètre moyen des colonies mycéliennes d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA

Le test de kruskal-wallis, révèle une différence très hautement significative pour le facteur temps, avec une p-value=  $1,158 \times 10^{-7}$ . IL classe les groupes homogènes en quatre groupes. Le groupe (a) correspond à 96h, les groupe (b) (c) correspond à 72h et 48, et enfin le groupe (d) qui correspond à 24h (voir annexe 01).

#### I-1-2) Pourcentage des zones claires d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA après 144h d'incubation

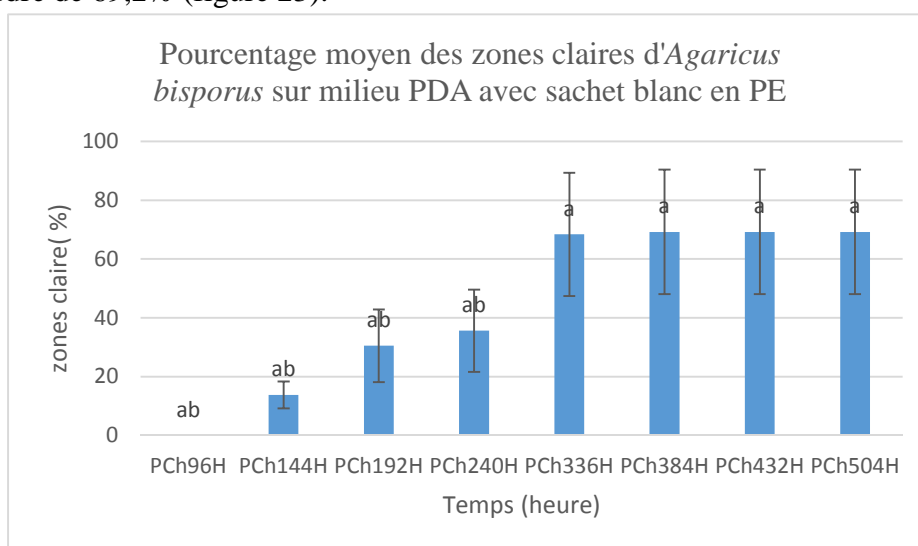
Selon les résultats de la figure 29, le pourcentage moyen des zones claires, après 24h d'incubation est de 0%. Il augmente à 9,33% après 48h d'incubation et devient maximal après 144h d'incubation avec un pourcentage le plus élevé de l'ordre de 99% (figure 22).



**Figure 22** : Pourcentage moyen des zones claires d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA sans sachet blanc en PE avec champignon.

### I-1-3) Pourcentage moyen des zones claires d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA avec sachet blanc en PE

Selon les résultats présentés par la figure 27, après 96h d'incubation, le pourcentage moyen des zones claires d'*Agaricus bisporus* sur sachets blancs en PE est nul (0%). Après 48h d'incubation, nous avons constaté l'apparition des zones claires avec un pourcentage moyen de l'ordre de 13,8%. Ensuite, nous avons enregistré une augmentation progressive des pourcentages moyens des zones claires, ce dernier devient maximal après 384h d'incubation, il est de l'ordre de 69,2% (figure 23).



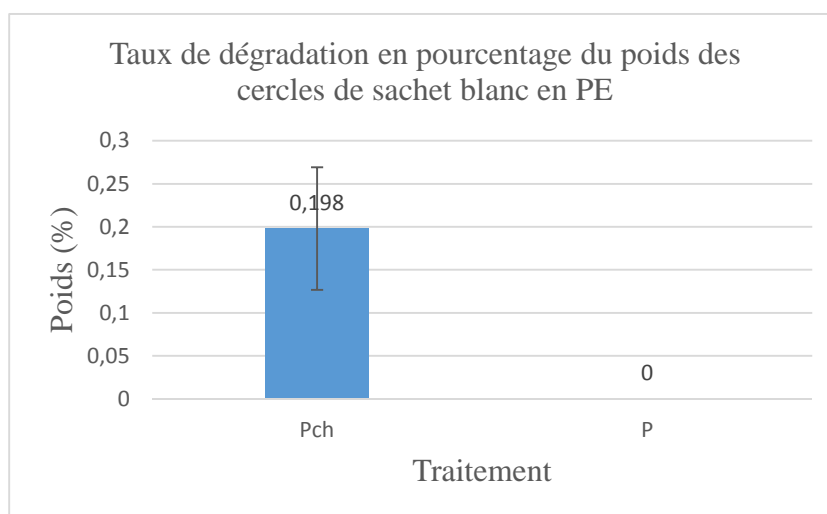
**Figure 23** : Pourcentage moyen des zones claires d'*Agaricus bisporus* sur milieu PDA avec sachet blanc en PE.

Nous avons effectué un test statistique pour constater s'il y avait une différence entre les différents traitements Ch, Pch et P. Le test de Kruskal wallis révèle une différence très hautement significative pour le facteur temps ( $p$ -value = 0.001031). Il classe le temps en deux groupes homogènes qui sont les suivants : a représente 96h, 144h, 192h, 240h et ab représente 336h, 384h, 432h, 504h. (voir annexe 02)

Le test de Kruskal-Wallis, révèle également une différence très hautement significative pour le facteur traitement avec une  $p$ -value = 2.432e-09. Les données des pourcentages ont été classées en 3 groupes basés sur le test de Kruskal-Wallis : Deux groupes a et b. le groupe (a) correspond aux traitements suivants : Ch et PCh et le groupe (b) comprend le traitement P (voir annexe 02).

#### **I-1-4) Taux de dégradation en pourcentage après deux mois d'incubation sur le milieu PDA inoculé par *Agaricus bisporus***

Le graphique montre le taux de réduction du poids ou (le taux de dégradation) des cercles de sachets blancs en PE après 2 mois de dégradation, Pour le traitement Pch (avec champignon) : Le graphique indique un taux de réduction de poids de 0,198%, et pour le traitement P (sans champignon) : Aucun taux de réduction n'est observé (0%) (figure 24).



**Figure 24** : le Taux de dégradation des cercles de sachet blanc en PE (%)

Le test de Wilcoxon révèle une différence significative pour le facteur traitement ( $p$ -value = 0.0231).

**I-2) Essais de biodégradation des sachets blancs en PE par *Agaricus bisporus* dans le sol****I-2-1-) Rapport d'analyse de sol**

Les résultats du rapport de l'analyse du sol sont présentés dans le tableau 03 :

**Tableau 03** : Rapport d'analyse du sol (laboratoire de pédologie, INRF d'Alger)

Paramètre	Résultat	Commentaire
Carbone total (%)	1.78	/
Matière organique (%)	3.07	Moyenne pauvre en MO
Granulométrie (%)	A (%) : 31.45 L (%) : 52.308 S (%) : 18.384	Texture : Limon argilo-sableux

**I-2-2) Rapport d'analyse physicochimique du sol**

Les résultats du rapport d'essai sont reçus et soumis à l'analyse (IN ISO/IEC 17025) dans laboratoire de contrôle de qualité et de conformité (SARL NEW LAB).

**Tableau 04** : Rapport d'analyse physicochimique du sol (SARL NEW LAB).

Paramètre	Résultat	Méthode d'analyse
Azote (%)	0.35	Kjeldahl

### I-2-3) Résultats de Mesure de la capacité au champ (%) du sol

La détermination de la teneur pondérale en eau du sol par la méthode gravimétrique, les résultats est présentés dans le tableau 05.

**Tableau 05** : Résultats de Mesure de la capacité au champ (%)

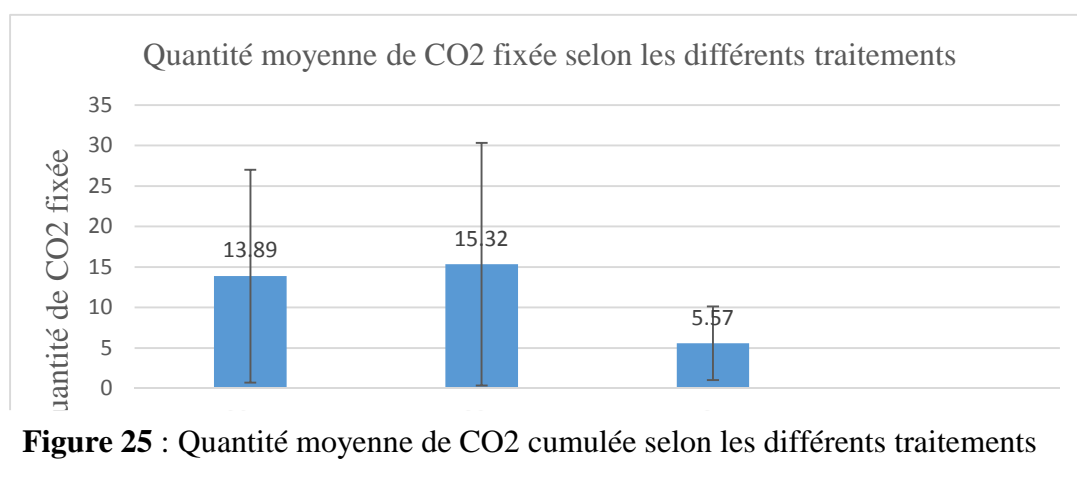
	Poids du sol mouillé	Poids du sol sec	Capacité au champ (%)
<b>Moyenne</b>	18,66	10,66	73,33
<b>Ecartype</b>	0,57	0,57	5,77

### I-2-4) Détermination du potentiel hydrogène (pH de sol)

La Valeur moyenne du pH est d'environ 7,23 ( $\pm$  ectype). Cette valeur indique que le sol est neutre à légèrement alcalin (Voir annexes 01).

### I-2-5) Test respirometrique dans le sol

Les résultats de la figure 30, révèlent que la respiration fongique est importante au niveau des deux traitements inoculés par *Agaricus bisporus* SCHP et SCH, la quantité de CO<sub>2</sub> cumulée est de l'ordre de 13,86 et 15,32 mg respectivement. Cette respiration diminue pour les deux traitements SP et NaOH. Nous avons enregistré 8,6 mg pour le traitement SP (sol + PE), et 8.6 mg pour le NaOH (seul, ni sol, ni champignon, ni PE).

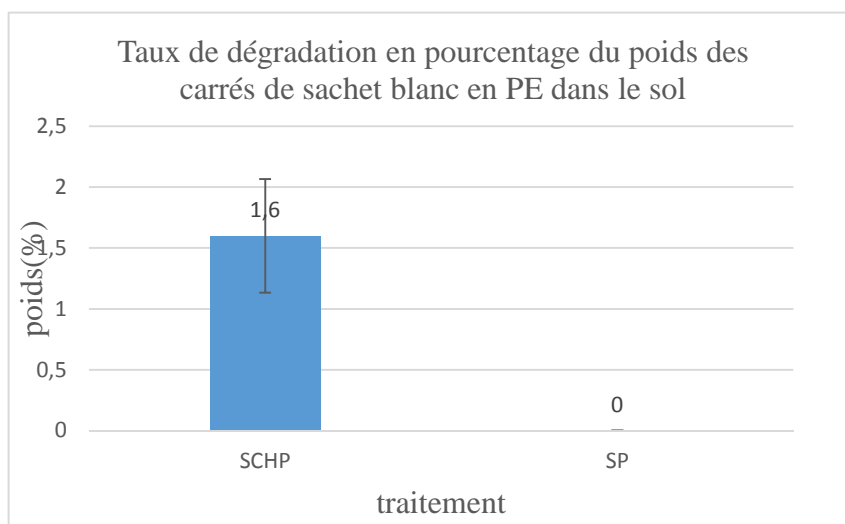


**Figure 25** : Quantité moyenne de CO<sub>2</sub> cumulée selon les différents traitements

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une différence statistiquement significative entre les groupes ( $p\text{-value} = 0.026 < 0.05$ ). Cela signifie que la quantité de  $\text{CO}_2$  fixée varie de manière significative en fonction du traitement appliqué (voir annexe 03).

#### I-2-6) Taux de dégradation de PE en pourcentage après deux mois d'incubation dans le sol inoculé par *Agaricus bisporus*

Ce graphique montre le **taux de réduction en pourcentage** du poids des carrés de sachets blancs en PE après 2 mois de dégradation dans le sol, sous deux conditions expérimentales, pour le **traitement SCHP (sol + champignon + plastique)** : Le graphique indique un taux de réduction de poids de **1,6%**, et pour **SP (sol + plastique sans champignon)** : Aucun taux de réduction n'est observé (0%), ce qui indique que le poids des carrés de PE est resté constant (figure 26).



**Figure 26 :** Taux de dégradation des carrés de sachet blanc en PE en pourcentage dans le sol

Le test de Wilcoxon révèle une différence significative pour le facteur traitement ( $p\text{-value} = 0.0415$ ).

## II) Discussion

Les essais de biodégradation des sachets en PE par *Agaricus bisporus* sur milieu PDA, montrent des résultats prometteurs. Le pourcentage des zones claires, est interprété comme une mesure de l'activité du mycélium dans le milieu PDA.

Durant les premières 96 heures, aucune zone claire n'a été observée. À partir de 144 heures, des zones claires commencent à apparaître avec un taux de 13,8 %, suivies d'une augmentation continue jusqu'à un plateau d'environ 69,2 % entre 384 et 504 heures. La présence de ces zones claires indique une activité de dégradation, confirmant que le champignon *Agaricus bisporus* a la capacité d'altérer le polyéthylène où le champignon a commencé à envahir le plastique en dégradant ses composants. L'augmentation progressive de ces zones indique que le mycélium d'*Agaricus bisporus* développe progressivement une capacité à interagir avec le plastique, soit par une dégradation enzymatique, soit par un autre mécanisme d'altération.

La diminution du poids des disques de sachets blancs en plastique dans les échantillons où *Agaricus bisporus* est inoculé sur milieu PDA dans le traitement (Pch) passant de 69,29mg à 69,15 mg après deux mois d'incubation révèle l'effet de biodégradation. En revanche, dans les échantillons sans champignon tel que le traitement P, le poids reste constant (le poids initial est égal au poids final (69,33mg)). Le test de Wilcoxon révèle une différence significative pour ces deux traitements. Cette diminution suggère qu'*Agaricus bisporus* peut avoir un effet dégradant sur le plastique en milieu PDA. Bien que la différence soit subtile, elle indique une possible action enzymatique ou chimique du champignon sur le plastique. Cette observation est cohérente avec d'autres études montrant que certains champignons de la pourriture blanche peuvent dégrader des polymères complexes comme le PE, bien que ce processus soit généralement lent et nécessite des conditions spécifiques.

Les mesures de fixation du CO<sub>2</sub> dans les différents traitements dans le sol ont révélé que la présence du champignon augmente l'activité biologique, avec des valeurs plus élevées de CO<sub>2</sub> fixé dans les échantillons contenant *Agaricus bisporus*. Cette augmentation est indicative d'une activité métabolique accrue, potentiellement liée à la dégradation du plastique. Le test de Kruskal-Wallis a confirmé une différence significative entre les différents groupes, renforçant l'hypothèse d'une contribution biologique du champignon à la dégradation du PE.

Les résultats de perte en poids dans le sol, montrent également une diminution du poids des carrés de sachets blanc en en PE dans les échantillons avec champignon (SCHP), passant de

2,45 mg à 2,41 mg après deux mois d'incubation. Cependant, dans les échantillons sans champignon (SP), le poids reste constant (2,43mg à l'état initial et final de la dégradation).

La diminution de poids observée, bien que légère, dans les deux milieux expérimentaux à savoir le milieu PDA et le sol, souligne l'effet potentiel du champignon sur la dégradation des sachets blancs en plastique. Le test de Wilcoxon a confirmé une différence significative entre les deux traitements (SCHP) et (SP). Cela renforce l'idée qu'*Agaricus bisporus* peut jouer un rôle dans la biodégradation des plastiques, un domaine de recherche prometteur pour la gestion des déchets plastiques. Cependant, la dégradation observée sur les deux milieu PDA et sol a nécessité un temps d'incubation long, ce qui suggère que ce processus est lent et pourrait nécessiter des conditions optimisées pour être plus efficace.

L'étude de Maisto et al. (2024) offre des perspectives sur la capacité des champignons, en particulier *Pleurotus ostreatus* et *Agaricus bisporus*, à dégrader les polymères plastiques, notamment le polyéthylène basse densité (LDPE) oxydé, en conditions in vitro. En revanche, l'étude de Dussault et al. (2017) se concentre sur la biodégradation des matières résiduelles de textile synthétique en polyester et nylon. La dégradation de ces polymères peut être facilitée par des champignons de la pourriture blanche qui sécrètent des enzymes capables de briser les liaisons carbone-oxygène. Plusieurs espèces de ces champignons sont analysées pour identifier celles produisant les enzymes les plus efficaces pour décomposer ces polymères.

Maisto et al. (2024) ont utilisé des films de LDPE oxydé comme source de carbone, tandis que notre étude s'est concentrée sur la dégradation du polyéthylène de basse densité (sachet blanc) par *A. bisporus* dans deux différents milieux, milieu à savoir gélosé et dans sol. Les deux études montrent une dégradation substantielle par *A. bisporus* de la même matière, renforçant l'hypothèse que ce champignon possède des capacités enzymatiques robustes pour décomposer ce type de polyéthylène, que ce soit sous forme oxydée ou standard.

L'étude de Maisto et al., mettent en lumière l'implication de complexes enzymatiques spécifiques, tels que les laccases (Lac) et les peroxydases au manganèse (MnP), dans la dégradation du LDPE. Notre étude n'a pas directement examiné ces mécanismes moléculaires, mais les résultats de Maisto et al., suggèrent que des processus enzymatiques similaires pourraient être impliqués dans nos conditions expérimentales, ce qui pourrait expliquer la dégradation plus marquée observée dans les échantillons avec champignons par rapport aux contrôles. Selon Chonde et al. (2013), *Trametes versicolor* utilise des enzymes capables de

dégrader le nylon, probablement des hydrolases spécifiques aux liaisons amides. Cette étude montre que la biodégradation s'accompagne d'une réduction du poids du polymère, en partie due à la dépolymérisation des chaînes polymériques et à l'utilisation des fragments de polymères comme source de carbone par les champignons ce qui concorde avec nos résultats de perte en poids des sachets blancs en PE sur milieu PDA et dans le sol inoculé par *Agaricus bisporus*.

Maisto et al. ont observé une croissance mycélienne d'*Agaricus bisporus* à la surface des films de LDPE dans un milieu gélosé, attribuable à l'utilisation de ce matériau polymérique comme source de nutriments par le champignon. Cette croissance rapide initiale, due à l'utilisation du glucose, est suivie d'une dégradation plus lente du LDPE une fois le glucose épuisé. Cette observation est comparable à notre étude où une réduction du poids des échantillons plastiques a été observée dans les milieux PDA et sol. Le glucose présent dans le milieu PDA pourrait avoir favorisé une phase de croissance initiale rapide, similaire à celle observée par Maisto et al. Cependant, la dégradation continue du PE suggère une adaptation métabolique où le champignon utilise ensuite le PE comme source de carbone.

Les résultats de l'étude de Chonde et al. (2012) indiquent une réduction significative du poids du nylon 6 lorsqu'il est dégradé par *Trametes versicolor* ; après 90 jours de traitement, une réduction de plus de 50 % du poids du nylon 6 a été observée. Cela montre que *Trametes versicolor* est efficace pour dégrader le nylon, entraînant une perte de masse substantielle du polymère. Les données montrent une diminution progressive du poids de l'échantillon de 0,013g au jour 0 à 0,006 g au jour 90. Cela suggère que les champignons possèdent une capacité de biodégradation du nylon, ce qui indique leur potentiel dans les applications de gestion des déchets de polymères synthétiques.

Les techniques telles que la spectroscopie ATR FT-IR et la microscopie électronique à balayage (SEM), utilisées par Maisto et al. (2024), ont confirmé des modifications structurales et morphologiques du LDPE après traitement. Notre étude, qui mesure principalement la perte de poids et les taux de réduction en pourcentage, pourrait bénéficier de l'application de telles techniques pour obtenir des preuves plus directes de la dégradation chimique du PE. Ces méthodes analytiques permettraient non seulement de corroborer nos résultats, mais aussi de fournir une compréhension plus fine des modifications chimiques impliquées dans le processus de biodégradation.

Dans l'étude de Maisto et al. (2024), les fragments de LDPE ont subi un prétraitement chimique par oxydation activé par la chaleur, afin de simuler une dégradation abiotique. Ce prétraitement chimique s'est avéré crucial pour faciliter la biodégradation. Les résultats de Dussault et al. (2017) montrent que le processus de biodégradation des textiles en nylon peut également se produire sans prétraitement abiotique, mais que les conditions de culture et la sélection des champignons sont cruciales pour optimiser la dégradation. Cette observation suggère que l'absence de prétraitement chimique dans notre méthodologie pourrait être un facteur limitant pour l'efficacité de la dégradation. Par conséquent, une stratégie optimale pourrait inclure l'utilisation de plusieurs champignons en combinaison ou des conditions de culture modifiées, telles que la variation de la température, du pH, et l'introduction d'agents chimiques pour simuler une dégradation abiotique avant l'inoculation fongique dans le sol. Ces considérations suggèrent qu'il serait pertinent d'explorer des conditions expérimentales alternatives dans le cadre de recherches futures, afin d'améliorer les taux de biodégradation du PE. L'utilisation combinée de techniques analytiques avancées et de modifications méthodologiques pourrait permettre de mieux comprendre et d'optimiser le processus de biodégradation du polyéthylène par *Agaricus bisporus* et d'autres champignons.

# Conclusion générale

Nous concluons que le milieu PDA est favorable à la croissance mycélienne d'*Agaricus bisporus* et à son entretien et sa multiplication car il est riche en nutriments, ce qui favorise une croissance rapide et étendue du mycélium. Nous avons eu une croissance mycélienne de 8.5cm après 96 heures d'incubation.

Le champignon *Agaricus bisporus* dégrade les disques de sachets blancs en plastique en utilisant ce dernier comme substrat pour sa croissance mycélienne. Cela s'explique par le pourcentage le plus élevé des zones claires qui atteint 69,2% après 21jours.

Le sol étudié au laboratoire contient une fraction de matière organique (3,07 %) et de l'azote organique (0,35 %) et son pH qui de l'ordre de 7,23 sont des facteurs qui créent un environnement propice qui favorise la biodégradation des sachets blancs en PE par *Agaricus bisporus*. La texture limono-argileuse sableuse du sol étudié a permis une bonne aération et une rétention d'eau modérée, conditions idéales pour la biodégradation des sachets blancs en PE par *Agaricus bisporus*.

La respiration fongique s'avère importante dans les traitements inoculés par *Agaricus bisporus*, avec des valeurs de 15,32 g et 13,86 g pour les traitements SCH et SCHP respectivement. Elle est faible dans les sols sans inoculum SP.

Enfin, la biodégradation des sachets blancs en PE est plus efficace en présence d'*Agaricus bisporus*, comme l'indique aussi la perte en poids de ces sachets au niveau du sol inoculé SCHP par rapport au sol non inoculé par *Agaricus bisporus* qui est SP.

Au terme de notre étude, nous concluons que les champignons de la pourriture blanche particulièrement *Agaricus bisporus* est capable de s'adapter à des environnements pollués par des plastiques en PE et de les dégrader.

Les essais de mycorémédiation par *Agaricus bisporus* réalisés dans notre laboratoire constituent une première étape vers l'élaboration d'un protocole de bioremédiation des sols à plus grande échelle. Nous prévoyons de mener des études complémentaires pour approfondir ces résultats et explorer l'utilisation de ce champignon dans la dégradation du plastique en PE, nous proosons en perspectives :

- Améliorer la qualité du sol selon les besoins d'*Agaricus bisporus* en éléments minéraux et organiques comme l'apport supplémentaire en paille, fumier de cheval, gypse et calcaire.

- La présence de matière cellulosique peut stimuler la production d'enzymes par *Agaricus bisporus* pour dégrader le plastique. De ce fait, il serait intéressant d'apporter l'inoculum d'*Agaricus bisporus* sur un support ligniocellulosique comme la paille de blé, des grain d'orge, des emballages cartonnés etc.
- Étudier à l'avenir les enzymes d'*Agaricus bisporus* qui interviennent dans la biodégradation des sachets blancs en PE.
- Introduire d'autres champignons qui ont une relation symbiotique avec *Agaricus bisporus* qui peuvent améliorer l'efficacité de la dégradation.
- Tester les concentrations minimale d'inoculum fongiques requise pour l'inoculation des sols contaminés par les plastiques, tout en optimisant les conditions de bioremédiation ex-situ.

# **Références bibliographiques**

## Bibliographie

**Abdely C.**, 2006. Bioremédiation / phytoremédiation, Institut supérieur de l'éducation et de la formation continuer : SN232, p-p.6-8.

**Addiego, F.**, 2006. Caractérisation de la variation volumique du polyéthylène au cours de la déformation plastique en traction et en fluage. Thèse de Doctorat, Science et Ingénierie des Matériaux, Institut National Polytechnique de Lorraine.

**Andersson, L.H.U., Hjertberg, T., 2006.** The effect of different structure parameters on the crosslinking behaviour and network performance of LDPE. *Polymer*, Vol. 47, pp. 200-210.

**Aurélie Wahl, 2022.** Distribution et comportement de débris plastiques dans un sol agricole amendé en compost de déchets ménagers. Sciences de la Terre. Université de Rennes.

**Banafsheh, Jalal zadeh Moghaddam Shahri, 2014.** Évolution intraspécifique du génome de diversité. Thèse de doctorat en biologie végétale. Université de Bordeaux. Format PDF.

**Bläsing, M., Amelung, W., 2018.** Plastics in soil: Analytical methods and possible sources. *Science of The Total Environment*.

**Boote, W., et Pretting, G., 2010.** *Plastic planet : la face cachée des matières synthétiques*.

**Bolgar, M., Hubball, J., Groeger, J., Meronek, S., 2007.** *Handbook for the Chemical Analysis of Plastic and Polymer Additives*. CRC Press. ed.

**Bonneau, M., et Souchier, B., 1979.** *Pédologie. Constituants et propriétés du sol*. Ed MASSON. Paris. 459 p.

**Borràs, E., Caminal, G., Sarrà, M. et Novotny, C., 2010.** Effect of soil bacteria on the ability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal by *Trametes versicolor* and *Irpex lacteus* from contaminated soil. *Soil Biology and Biochemistry*.

**Buttler, A., 1992.** Hydrochimie de nappes des prairies humides de la rive sud du lac de Neuchâtel. *Bull. Ecol.*, t.23 (3-4) pp 415-421.

**Calmon-Decriaud, A., Bellon-Maurel, V. et Silvestre, F., 1998.** Standard methods for testing the aerobic biodegradation of polymeric materials. Review and perspectives, in *Blockcopolymers Polyelectrolytes Biodegradation*, 207-226.

**Calvet, R., 2003.** *Propriétés et fonctions (tome1), constituants et structure, phénomènes aux interfaces*. Edition France agricole. 455 p.

- Chandra, R.**, et Rustgi, R., 1998. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23 (7), 1273-1335.
- Chang, S. T** (1999). World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on lentinuse dodesin china international journal of medicinal mushrooms, 1:291-300P.
- Chen, S.**, Su, L., Chen, J., Wu, J., 2013. Cutinase: characteristics, preparation and application. *Biotechnol Adv* 31:1754–1767. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.09.005>
- Chonde, S.**, Chonde, G., Bhosale, P., Nakade, D. B. Et Raut, P. D. (2012a). Studies on degradation of synthetic polymer Nylon 6 by fungus *Trametes versicolor* NCIM 1086. *International Journal of Environmental Sciences*, 2(3), 2435-2442.
- Chu, P. S.**, Swogger, K.W., 2008. Olefin polymer technologies - History and recent progress at The Dow Chemical Company. *Polymer Science*, Vol. 33, pp 797-819.
- Clément, M.**, Pieltain, F., 2003. *Analyse chimique du sol*. Edition TEC&DOC, 387 p.
- Claude Duval**, 2004. *Matières plastiques et environnement*.
- Comité Européen de Normalisation**. (2006). *Plastiques - Guide pour le vocabulaire dans le domaine des polymères et des produits plastiques dégradables et biodégradables*.
- Cornu, P.**, 2012. Les polychlorobiphényles : Enjeux environnementaux et sanitaires, et mycoremédiation. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier.
- Courtecuisse, R.**, et Duhem, B., 2007. *Guide des champignons de France et d'Europe*.
- Delachaux et Niestlé**, Paris, 7-12.
- Dajoz, R.**, 2000. *Précis d'écologie*. Ed. DUNOD. Paris. 542 p.
- Deguchi, T.**, Massuki, K., et Nishida, T., 1997. Nylon biodegradation by lignin-degrading fungi. *Applied Environmental Microbiology*, 63(1), 329-331.
- Deprince, A.**, 2003. La faune du sol : diversité, méthodes d'étude, fonctions et perspectives. *Le courrier de l'environnement*, n°49.
- Douminge L.,2010**, « Étude du comportement du polyéthylène haute densité sous irradiation ultraviolette ou sollicitation mécanique par spectroscopie de fluorescence », Thèse de doctorat, Sciences des Matériaux, Université de La Rochelle,.
- Dubrocq-Baritaud C.,2010**, « Mécanismes d'action de - polymer processing aids- fluores durant l'extrusion d'un polyéthylène basse densité linéaire : Etudes expérimentales et interprétations », Thèse de Doctorat, Sciences et Génie des Matériaux, L'Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris.

**Dussault, D.**, 2017. Thèse présentée comme exigence partielle du doctorat en sciences de l'environnement, Université du Québec à Montréal.

**Fuller, S.**, Gautam, A., 2016. A Procedure for Measuring Microplastics using Pressurized Fluid Extraction. *Environ. Sci. Technol.* 50, 5774-5780. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00816>

**Gao, H.**, Yan, C., Liu, Q., Ding, W., Chen, B., Li, Z., 2019. Effects of plastic mulching and plastic residue on agricultural production: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 651, 484–492.

**Gobat, J.M.**, Aragno, M. et Matthey, W., 2003. *Le sol vivant*. Ed. LAUSANNE. 569 p.

**Gobat, J.M.**, Aragno, M., et Matthey, W., 2010. *Le sol vivant, bases de pédologie–biologie des sols* (3ème Ed.). Presses polytechniques et universitaires romandes, p 5153 62.

**Gupta, M.** Et Shrivastava, S. (2014). Mycoremediation: A Management Tool for Removal of Pollutants from Environment. *Environmental Science*, 4(8), 289-291.

**Hakkarainen, M.**, Karlsson, S. et Albertsson, A.C., 2000. Rapid (bio)degradation of polylactide by mixed culture of compost microorganisms: Low molecular weight products and matrix changes. *Polymer*, 41(7), 2331-2338.

**Harms, H.**, Schlosser, D., et Wick, L.Y., 2011. Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. *Nature Reviews Microbiology*, 9(3), 92-177.

**Hawksworth, D.L.**, 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological research*, 105(12), 1422-1432.

**He, D.**, Luo, Y., Lu, S., Liu, M., Song, Y., Lei, L., 2018. Microplastics in soils: Analytical methods, pollution characteristics and ecological risks. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 109, 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.006>

**Heredia, A.**, 2003. Biochemical and biophysical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochim Biophys Acta*, 1620:1–7. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(02\)00510](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00510)

**Henin S.** Directeur de Recherches à l'I.N.R.A. Professeur de Physique du Sol à l'ORSTOM  
Membre de l'Académie d'Agriculture, Cours de physique du sol, 1976, ORSTOM Paris, EDITEST Bruxelles.

**Jakubowicz, I.**, 2003. Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE). *Polym Degrad Stabil*, 80:39–43.

**Kirk, J.L.**, Beaudette, L.A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, J.N., Lee, H., 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*, 58(2), 169-88.

- Kolattukudy, P.E.**, Brown, L., 1975. Fate of naturally occurring epoxy acids: a soluble epoxide hydrolase, which catalyzes cis hydration, from *Fusarium solani* pisi. *Arch Biochem Biophys* 166(2) :599–607. [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(75\)80050-8](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(75)80050-8)
- Koller, E.**, 2004. *Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchet, sol, boues)*. Edition DUNOD Paris. 424 p.
- Koutny, M.**, Lemaire, J., Delort, A.M., 2006. Biodegradation of polyethylene films with pro-oxidant additives. *Chemosphere*, 64 :1243–1252.
- Laurent, Patrick**, 2015. *La microfaune du sol – Structure trophique et impact sur les matières organiques*. Société Botanique du Centre Ouest. 308 pages.
- Lefaux, S.** (2005). Biodégradation de films polymères à usage agricole : Caractérisation physico-chimique des résidus et identification biomoléculaire des bactéries actives. Thèse de doctorat. Université du Maine - U.F.R. Sciences et Techniques.
- Lekounougou, S.-T.** (2008). Evaluation et compréhension des mécanismes fongiques impliqués dans la dégradation du bois. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences et Techniques, Nancy, France.
- MaistroM.** Et al,2024,Science of the Total Environment, journal homepage: [www.elsevier.com/locate/scitotenv](http://www.elsevier.com/locate/scitotenv), Available online 14 July 2024, Received 22 April 2024; Received in revised.
- Mélanie MOREL-ROUHIER**, 2023. MOOC UVED Arbres – Transcription - La dégradation du bois mort par les champignons, <https://www.canal-u.tv/chaines/canal-uvéd/la-degradation-du-bois-mort-par-les-champignons>.
- NFU 52001.** (2005). Le Service Études Recherches Polymères Biodégradables. Récupéré de : [http://193.252.109.17/cpa/contenu/documentation/normes/normes\\_plastiques\\_degradables.pdf](http://193.252.109.17/cpa/contenu/documentation/normes/normes_plastiques_degradables.pdf).
- Ng, Ee-Ling, Huerta Lwanga, E., Eldridge, S.M., Johnston, P., Hu, H.-W., Geissen, V., Chen, D.**, 2018. An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems. *Science of The Total Environment* 627, 1377–1388. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.341>
- Nunes CS, Kunamneni A** (2018) “Chapter 7—laccases—properties and applications. In: Nunes CS, Kumar V (eds) *Enzymes in Human and Animal Nutrition*. Academic Press, Cambridge. pp. 133–161.
- NWA: National waste agency**, 2019,2020., Regard croise sur les plastique a usage unique.

- Okamoto, Y.**, Ueda, K., Kojima, N., 2011. Potential Risks of Phthalate Esters: Acquisition of Endocrinedisrupting Activity during Environmental and Metabolic Processing. *JOURNAL OF HEALTH SCIENCE* 57, 497–503. <https://doi.org/10.1248/jhs.57.497>
- Osma JF**, Toca-Herrera JL, Rodríguez-Couto S (2010) Uses of laccases in the food industry. *Enzyme Res* 2010:918761. <https://doi.org/10.4061/2010/918761>.
- Otake, Y.**, Kobayashi, T., Asabe, H., Murakami, N., Ono, K., 1995. Biodegradation of low-density polyethylene, polystyrene, polyvinyl chloride, and urea formaldehyde resin buried under soil for over 32 years. *J. Appl. Polym. Sci.* 56, 1789–1796. <https://doi.org/10.1002/app.1995.070561309>.
- Pereira EB**, De Castro HF, De Moraes FF, Zanin GM (2001) Kinetic studies of lipase from *Candida rugosa*. *Appl Biochem Biotechnol*:739
- Pointing, S. B.** (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1 -2), 20-33.
- Reddy, C. A.** et Mathew, Z. (2001). Bioremediation potential of white rot fungi. Fungi in bioremediation. In: Gadd GM (Ed.), Cambridge University Press, Cambridge, 52-78.
- Rillig, M.C.**, 2012. Microplastic in Terrestrial Ecosystems and the Soil? *Environ. Sci. Technol.* 46, 6453– 6454. <https://doi.org/10.1021/es302011r>.
- Ronqvist ÅM**, Xie W, Lu W, Gross RA (2009) Cutinase-catalyzed hydrolysis of poly(ethyleneterephthalate). *Macromolecules* 42 :5128–5138. <https://doi.org/10.1021/ma9005318>.
- Saadi, Z.** (2008). Étude de la dégradation fongique des polymères : cinétique de dégradation des polymères et caractérisation des sous-produits de dégradation -Etude de l'écotoxicité de ces polymères. Thèse de doctorat. Université du Maine -U.F.R. Sciences et Techniques. Récupéré de : <http://cyberdoc.univ-lemans.fr/theses/2008/2008LEMA1004.pdf>
- Saha, S. K.** et Tsuji, H. (2006). Effects of molecular weight and small amounts of D-lactide units on hydrolytic degradation of poly (L-lactic acid) s. *Polymer Degradation and Stability*, 91 (8), 1665-1673.
- Srikanth et al.**,2022, *Bioresources and Bioprocessing*, Biodegradation of plastic polymers by fungi. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00532-4>.
- Steinmetz, Z.**, Wollmann, C., Schaefer, M., Buchmann, C., David, J., Tröger, J., Muñoz, K., Frör, O., Schaumann, G.E., 2016. Plastic mulching in agriculture. Trading short-term agronomic benefits for long-term soil degradation? *Science of The Total Environment* 550, 690–705. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.153>

**Stenmarck, A.,** Belleza, E.L., Frane, A., Busch, N., Larsen, A., Wahlström, M., 2017. Hazardous substances in plastics: ways to increase recycling, Nordic Council of Ministers. ed.

**Tokiwa Y,** Calabia BP, Ugwu CU, Aiba S (2009) Biodegradability of plastics. *Int J Mol Sci* 10(9):3722–3742

**Vertommen MAME,k** Nierstrasz VA, van der Veer M, Warmoeskerken MMCG (2005) Enzymatic surface modification of polyethylene terephthalate. *J Biotechnol* 120:376–386. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec>.

**Weiland M,** Daro A, David C (1995) Biodegradation of thermally oxidized polyethylene. *Polym Degrad Stabil* 48:275–289.

**Zhang, X., Chen, Y., Li, X., Zhang, Y., Gao, W., Jiang, J., Mo, A., He, D.,** 2022a. Size/shape-dependent migration of microplastics in agricultural soil under simulative and natural rainfall. *Science of The Total Environment* 815, 152507. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152507>

# **Liste des annexes**

➤ **Annexe 01**

**Résultats de pH moyen du sol**

	<b>pH</b>
<b>moyen± écart</b>	7,23±0,025

➤ **Résultats de Mesure de la capacité au champ (%) du sol**

<b>Échantillon</b>	<b>Poids du sol mouillé</b>	<b>Poids du sol sec</b>	<b>Capacité au champ (%)</b>
<b>1</b>	18	10	80
<b>2</b>	19	11	70
<b>3</b>	19	11	70

➤ **Résultat de la croissance mycélienne moyen sur milieu PDA**

<b>Heure</b>	<b>CH24</b>	<b>CH48</b>	<b>CH72</b>	<b>CH96</b>
<b>Moy±Ecar</b>	2,51±0,76	4,135±0,31	6,886±0,33	7,445±0,28

➤ **Les résultats de test de Kruskal- Wallis pour la croissance mycélienne**

Les données de croissance ont été classées en 4 groupes basés sur le test de Kruskal-Wallis :

<b>Groupe</b>	<b>heur</b>	<b>Valeur moyenne</b>
<b>Groupe a</b>	96h	34,4
<b>Groupe b</b>	72h	26,55
<b>Groupe c</b>	48h	15
<b>Groupe d</b>	24h	5,60

➤ **Annexe 02**

- Pourcentage des zones claires d'Agaricus bisporus sur milieu PDA avec sachet blanc en PE

<b>PCh96H</b>	<b>PCh144H</b>	<b>PCh192H</b>	<b>PCh240H</b>	<b>PCh336H</b>	<b>PCh384H</b>	<b>PCh432H</b>	<b>PCh504H</b>
<b>0±0</b>	13,8±9,16	30,5±24,73	35,6±28,09	68,4±41,88	69,2±42,37	69,2±42,37	69,2±42,37

- Pourcentage des zones claires d'Agaricus bisporus sur milieu PDA avec sachet blanc en PE sans champignon

<b>Heure</b>	<b>P24H</b>	<b>P48H</b>	<b>P72H</b>	<b>P96H</b>	<b>P120H</b>	<b>P144H</b>	<b>P168H</b>	<b>P192H</b>
<b>Moy±Ecar</b>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

- Pourcentage des zones claires d'agaricus bisporus sur milieu PDA sans sachet blanc en PE avec champignon

<b>Heure</b>	<b>Ch24H</b>	<b>Ch48H</b>	<b>Ch72H</b>	<b>Ch92H</b>	<b>Ch120H</b>	<b>Ch144H</b>
<b>Moy±Ecar</b>	0±0	9,33±1,52	33,66±3,7	42,66±4,6	77,66±4,6	99±0
<b>r</b>			8	1	1	

- Les résultats de test de Kruskal-Willis des zones claires pour le facteur temps

<b>Groupe a</b>	<b>Groupe ab</b>
<b>336 heures : 80,00%</b>	192 heures : 63,91%
<b>504 heures : 77,23%</b>	240 heures : 62,85%
<b>384 heures : 76,84%</b>	144 heures : 53,59%
<b>432 heures : 68,19%</b>	96 heures : 29,00%

- Les résultats de test de Kruskal-Wallis des zones claire pour le facteur traitement

Test de Kruskal-Wallis pour le facteur traitement :

Groupe a	Groupe b
-Avec champignon (Ch) : 79,28%	-Sans champignon et avec sachet blanc en PE
-Avec champignon et sachet blanc en PE (PCh) : 74,49%	(P) : 29,00%

➤ **Annexe 03**

➤ Quantité moyenne de CO<sub>2</sub> fixée

traitement	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP
<b>Moy±Ecar</b>	13,86±0,70	15,32±0,33	5,57±1,01	8,6±

➤ Les résultats de test Kruskal-Wallis de quantité moyenne de CO<sub>2</sub> fixée

Les données des quantités ont été classées en 3 groupes basés sur le test de Kruskal-Wallis :

Groupe	Traitement	Quantité
<b>Groupe a</b>	SCH	8
<b>Groupe</b>	SCHP	5
<b>Groupe</b>	SP	2

➤ **Annexe 04**

➤ Poids moyen des cercles de sachets blancs avant d'être placés dans le milieu PDA

Traitement	Pch	P
<b>moy</b>	0,0692	0,06933333
<b>Ecartype</b>	0,00078881	0,0011547

➤ Poids moyen des disques de sachets blancs après d'être placés dans le milieu PDA

Traitement	Pch	P
<b>moyenne</b>	0,0687	0,06933333
<b>Ecartype</b>	0,00082327	0,0011547

- Poids moyen des carrés de sachets blancs avant d'être placés dans le sol

<b>Traitement</b>	<b>Schp</b>	<b>Sp</b>
<b>Moyenne</b>	0,00243	0,00243333
<b>Ecartype</b>	0,00012517	5,7735E-05

- Poids moyen des carrés de sachets blancs après d'être placés dans le sol

<b>Traitement</b>	<b>Schp</b>	<b>Sp</b>
<b>Moyenne</b>	0,00241	0,00243333
<b>Ecartype</b>	0,00011005	5,7735E-05

## Résumé

Notre étude porte sur la capacité de biodégradation des sachets blancs en polyéthylène par le champignon *Agaricus bisporus* sur milieu de culture gélosé PDA et dans le sol. La croissance mycélienne a montré une activité dégradante significative dans les deux milieux, avec des réductions mesurables du poids des carrés de sachets en plastique blanc, passant de 2,45 mg à 2,41 mg pour le traitement SCHP après deux mois d'incubation dans le sol. Le test de Wilcoxon a révélé une différence significative entre les deux traitements SCHP et SP (p-value = 0,0415). La respiration fongique est également importante dans les traitements inoculés par *Agaricus bisporus*, avec des valeurs de 15,32 g et 13,86 g pour les traitements SCH et SCHP respectivement. Le test de Kruskal-Wallis indique une différence statistiquement significative entre les groupes (p-value = 0,026 < 0,05). Les résultats de ces tests ont montré que le champignon *Agaricus bisporus* s'avère prometteur dans la dégradation des sachets blancs en polyéthylène en l'utilisant comme substrat pour sa croissance mycélienne dans le sol et sur milieu PDA.

Mots clés : sachets blanc en Polyéthylène, *Agaricus bisporus*, biodégradation, sol.

## Abstract

Our study focuses on the biodegradation capacity of white polyethylene bags by the fungus *Agaricus bisporus* on PDA agar medium and in soil. Mycelial growth demonstrated significant degrading activity in both environments, with measurable weight reductions of white plastic bag squares, decreasing from 2.45 mg to 2.41 mg for the SCHP treatment after two months of incubation in soil. The Wilcoxon test revealed a significant difference between the SCHP and SP treatments (p-value = 0.0415). Fungal respiration was also substantial in treatments inoculated with *Agaricus bisporus*, with values of 15.32 g and 13.86 g for SCH and SCHP treatments, respectively. The Kruskal-Wallis test indicated a statistically significant difference between the groups (p-value = 0.026 < 0.05). These results demonstrate that *Agaricus bisporus* is a promising candidate for degrading white polyethylene bags by using them as a substrate for its mycelial growth in soil and on PDA medium.

**Keywords:** white polyethylene bags, *Agaricus bisporus*, biodegradation, soil.