



HAL
open science

Production de peroxyde d'hydrogène par le mycélium du champignon de couche et sa contribution à la dégradation des constituants humiques des composts

Jean-Pierre Goulas

► To cite this version:

Jean-Pierre Goulas. Production de peroxyde d'hydrogène par le mycélium du champignon de couche et sa contribution à la dégradation des constituants humiques des composts. *Agronomie*, 1987, 7 (10), pp.853-858. <hal-00884961>

HAL Id: hal-00884961

<https://hal.science/hal-00884961v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Production de peroxyde d'hydrogène par le mycélium du champignon de couche et sa contribution à la dégradation des constituants humiques des composts

Jean-Pierre GOULAS

I.N.R.A., Station de Recherches sur les champignons, Centre de Recherches de Bordeaux, F 33140 Pont-de-la-Maye

RÉSUMÉ

Le système catalase/3-aminotriazole se trouve inactivé au contact du mycélium du champignon de couche *Agaricus bisporus* (Lange) ce qui peut être interprété comme une preuve de la production active de peroxyde d'hydrogène par le thalle de cryptogame.

A des niveaux de concentrations tout à fait comparables, le peroxyde d'hydrogène en présence d'ions Cu II dégrade des produits du type mélanine, assimilables à ceux qui se forment au cours de la préparation des composts destinés à la culture du champignon.

Une représentation du mécanisme d'attaque de ces produits par la combinaison peroxyde d'hydrogène/Cu II est proposée.

Mots clés additionnels : *Agaricus bisporus, mélanines, cuivre, décoloration.*

SUMMARY

Production of hydrogen peroxide by mycelium of the cultivated mushroom and its involvement in decomposition of the humic compounds of composts.

The catalase/aminotriazole system was inactivated in contact with mycelium of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* (Lange), which may be interpreted as a proof of active production of hydrogen peroxide by the vegetative system of the fungus. At quite comparable concentration levels, hydrogen peroxide in the presence of cupric ions degraded melanin-like products similar to those that arise during the preparation of composts designed for mushroom cultivation. A scheme of the mechanism of attack of the hydrogen peroxide cupric combination on these products is proposed.

Additional key words : *Agaricus bisporus, melanins, copper, discoloration.*

I. INTRODUCTION

Un des traits marquants des transformations qui se déroulent au cours de la préparation des composts destinés à la production du champignon de couche se rapporte au processus d'humification qui intervient alors et qui se manifeste notamment par un brunissement de plus en plus prononcé des matériaux soumis à la fermentation.

Les caractéristiques des matières de type humique qui prennent ainsi naissance et leur évolution au cours du travail des fumiers ont déjà fait l'objet d'études détaillées (GRABBE & HAIDER, 1971 ; MAGGIONI, 1981).

Une fraction notable du carbone et de l'azote des composts peut être extraite en milieu alcalin et se trouve associée à des produits de couleur foncée qui précipitent par acidification.

On sait que ce processus d'humification va de pair avec le développement d'une certaine stabilisation des constituants organiques du milieu, en particulier des matières azotées.

Il a été montré à plusieurs reprises que l'azote protidique engagé dans des complexes avec des polymères de type humique (ou mélanique) présente une grande résistance à la dégradation par les microorganismes ; ce fait s'observe aussi bien dans le cas de substances modèles synthétisées *in vitro*, que dans celui des matiè-

res brunes élaborées par certains micromycètes isolés du sol (LADD & BRISBANE, 1967 ; MARTIN & HAIDER, 1969 ; VERMA *et al.*, 1975).

On peut se demander dans quelle mesure les matières azotées humifiées du compost restent utilisables par le mycélium du champignon de couche.

C'est un fait d'observation banal que la teinte du milieu se modifie au fur et à mesure que progresse l'invasion par le cryptogame, passant du brun noir au brun rougeâtre, ce qui amène à penser que les matières brunes sont activement dégradées par cet organisme (MAGGIONI, 1981). L'analyse de l'évolution des acides humiques au cours de la culture paraît contredire toutefois cette interprétation (GRABBE & HAIDER, 1971).

Dans le cas des composts de champignonnières, on en est encore réduit à des hypothèses quant au mode de formation de ces substances noires et à leur nature exacte. Les investigations de GRABBE & HAIDER (1971) ont montré que ces produits pourraient dériver en partie de métabolites d'origine microbienne et s'apparenteraient donc à des pigments du type mélanine (RAST *et al.*, 1981 ; HAIDER & MARTIN, 1970).

Une caractéristique de cette catégorie de substances est la facilité avec laquelle elles sont décomposées par des agents oxydants forts tels que l'eau oxygénée (NICOLAUS *et al.*, 1964), espèce chimique dont l'utilisation pour ses propriétés décolorantes est bien connue (HOLST, 1954). L'action de H_2O_2 peut être considérablement renforcée par l'apport de certains catalyseurs tels que Fe II et s'exerce encore de façon notable à des concentrations très faibles comme cela a été prouvé pour la dégradation de la cellulose (HALLIWELL, 1965). Dans des conditions similaires, l'eau oxygénée oxyde les acides fulviques, ce qui se traduit par une réduction de la teneur en radicaux libres et une diminution de l'absorption en lumière visible (SENESI *et al.*, 1977).

KOENIGS (1972 et 1974) a démontré la production de peroxyde d'hydrogène dans le milieu environnant par un certain nombre de champignons destructeurs du bois.

On s'est proposé dans le présent travail de mettre en évidence l'élaboration de peroxyde d'hydrogène par le champignon de couche *Agaricus bisporus* (Lange) et de voir si, dans des conditions compatibles avec les exigences biologiques de cet organisme, cet agent d'oxydation pouvait contribuer à la dégradation des substances de type humique ou mélanique présentes dans le milieu.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Mise en évidence de la production d'eau oxygénée par le champignon

La technique adoptée, empruntée à KOENIGS (1974) après quelques modifications, utilise le fait que la catalase, en présence de 3-aminotriazole, donne avec le peroxyde d'hydrogène un complexe stable, ce qui se manifeste par une inhibition irréversible de l'activité enzymatique. La fraction de la catalase non convertie par H_2O_2 ne forme seulement avec l'aminotriazole

qu'une combinaison labile et se trouve réactivée par simple dilution. La détermination du pouvoir catalasique résiduel fournit alors une évaluation en retour de la quantité d'eau oxygénée qui est apparue au contact du système catalase/aminotriazole (COHEN & HOCHSTEIN, 1964).

A cet effet, 35 g de « blanc de champignon »* (souche 665 Somyel, préculture sur seigle) sont disposés dans des fioles coniques, additionnés de 7,5 ml de la préparation catalase/aminotriazole et sont laissés séjourner pendant le temps requis à une température de 21 ± 1 °C. A l'issue de cette période, une aliquote de 500 μ l est prélevée et diluée au 1/30^e avec de l'eau déionisée. L'activité catalase de la solution est aussitôt analysée selon le procédé décrit par COHEN & HOCHSTEIN (1964) (réaction avec une préparation 0,006 M d'eau oxygénée en milieu tampon pendant 3 mn à 0 °C et titrage du substrat non décomposé par le permanganate).

On détermine de façon concomitante :

— le titre T_m correspondant à l'activité maximum exercée par la préparation de catalase initiale à laquelle on a assigné arbitrairement la valeur 100 ;

— le titre T_0 correspondant à l'activité nulle en substituant à l'apport d'enzyme un volume équivalent d'eau déionisée.

La décomposition de l'eau oxygénée par la catalase suit une cinétique du premier ordre qui s'exprime par la relation

$$K = (1/\tau) \log (a_0/a)$$

où a = concentration au bout du temps τ et a_0 = concentration initiale en H_2O_2 . Pour une durée de réaction maintenue invariable, la constante de vitesse K est en relation linéaire avec le logarithme de la concentration résiduelle en H_2O_2

$$K = -A \log a + B.$$

La détermination des coefficients de cette droite à partir de T_m et T_0 fournit la relation qui permet de déduire en fonction du titre T mesuré, le pourcentage d'activité enzymatique qui subsiste après un certain temps de contact entre la préparation de catalase et le mycélium du champignon.

$$K = -100 \log T / (\log T_0 - \log T_m) + 100 \log T_0 / (\log T_0 - \log T_m).$$

La production de peroxyde d'hydrogène est alors considérée comme proportionnelle au degré d'inactivation de la catalase par le système aminotriazole/ H_2O_2 émis dans le milieu (KOENIGS, 1972).

Préparation de la solution de catalase/aminotriazole :

130 μ l de la suspension de catalase (EC1.11.1.6 Sigma C 30) correspondant à 138 000 unités Sigma sont filtrés sur membrane Millipore EG de 25 mm de diamètre, laissés essorer, puis entraînés dans une fiole jaugée avec un jet d'eau déionisée. Après addition de 4,2 ml d'une solution à 5 p. 100 de 3-amino 1,2,4-triazole (Aldrich), la solution est complétée à 50 ml avec de l'eau.

* Blanc de champignon : culture pure du mycélium de l'*Agaricus* sur un milieu à base de grains de céréales (ou de fumier stérilisé) et qui sert de levain intermédiaire pour l'ensemencement des composts de champignonnières.

B. Action de H₂O₂ sur les matières humiques

Des essais préliminaires ont montré que l'activité décolorante de H₂O₂ était encore appréciable à des concentrations de l'ordre de 2 à 6.10⁻² M, soit sensiblement inférieures à celle indiquée par HALLIWELL (1965) lors de ses essais de dégradation de la cellulose. Pour illustrer l'importance de cette action, une dilution appropriée d'une préparation de substances humiques modèles a été laissée réagir avec le peroxyde d'hydrogène (180 μ moles) à la température de 24 °C en présence de Cu II (1,20 μ atome) comme catalyseur, dans un milieu tampon phosphate 0,1 M, pH = 7,3, le volume réactionnel final étant fixé à 4,5 ml.

L'évolution de la densité optique est relevée toutes les 8 h en opérant à 480 nm avec le tampon dilué pris comme référence.

Préparation des substances humiques modèles :

500 mg de pyrogallol (environ 4 mmoles/45 ml) ont été laissés s'oxyder à l'air en présence de 300 mg de glycine dans un milieu potassium hydrogencarbonate 0,2 M. Après 72 h d'agitation, la densité optique (D.O.) de la préparation diluée (1,2 ml de dilution au 1/10^e/4,5 ml) dans le milieu tampon phosphate 0,1 M pH = 7,3 était de l'ordre de 0,80.

III. RÉSULTATS

La figure 1 montre la réduction manifeste de l'activité enzymatique de la préparation catalase/aminotriazole après un temps de contact relativement court avec le mycélium du champignon. Au bout d'une durée d'incubation de seulement 6 h, plus de 97 p. 100 de l'enzyme présent dans la préparation initiale se trouve inactivé.

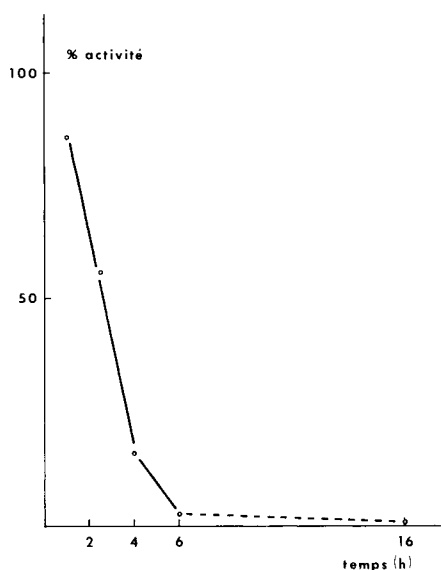


Figure 1
Réduction d'activité du système catalase/3-aminotriazole au contact du mycélium du champignon de couche en fonction du temps. Chaque point représente la moyenne de 2 répétitions.
Loss of activity of the catalase/3-aminotriazole system in contact with mycelium of the cultivated mushroom. Each point represents the average of 2 repeated experiments.

Les faits observés semblent bien constituer une démonstration de l'émission d'eau oxygénée par le mycélium du champignon. D'autres interprétations peuvent toutefois être suggérées. Au cours d'un travail antérieur, il avait été décelé une certaine activité protéase dans le blanc de champignon : de l'ordre de 60 nkatal pour 100 g de produit (65 p. 100 de M.S.) avec la caséine comme substrat (souche 56 Somycel). Il s'ensuit que la diminution du pouvoir catalasique peut aussi bien correspondre à une dégradation de l'enzyme par le système protéolytique présent dans le milieu. Pour examiner cette éventualité, on a suivi de façon comparative les modifications du degré d'activité de la catalase, après des périodes d'incubation d'une heure et 4 h dans 2 groupes d'essais différents : les uns avec l'enzyme seul, les autres avec l'enzyme associé au 3-aminotriazole.

La figure 2 révèle qu'en absence de cette dernière substance, compte tenu de l'écart assez grand entre les résultats obtenus d'une répétition à l'autre, l'activité de la catalase ne semble guère modifiée par le contact avec le thalle du champignon, alors que pour un même intervalle de temps, l'apport d'aminotriazole conduit à une diminution tout à fait démonstrative de la réponse enzymatique.

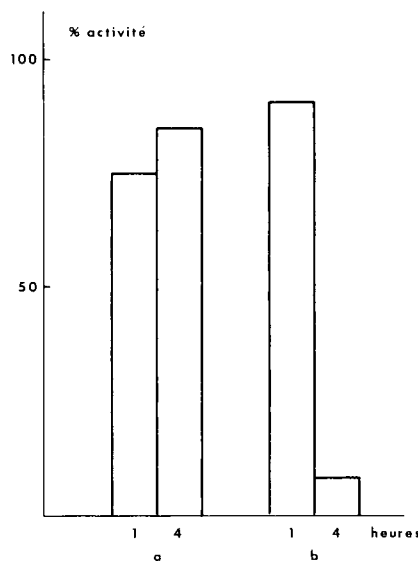


Figure 2
Représentation comparée des modifications d'activité de la catalase a) seule ou b) en présence de 3-aminotriazole après 1 ou 4 h au contact du mycélium du champignon de couche. Chaque barre se rapporte à la moyenne de 2 répétitions.
Comparison of changes in activity of catalase a) alone or b) in the presence of 3-aminotriazole after 1 or 4 h in contact with mycelium of the cultivated mushroom. Each bar represents the average of 2 repeated experiments.

L'ensemble de ces résultats paraît donc bien devoir être interprété dans le sens d'une production active d'eau oxygénée par le champignon.

On voit d'après l'évolution des D.O. représentée sur la figure 3 que des concentrations minimales de H₂O₂ (4 10⁻² M) exercent une action tout à fait remarquable sur les composés de type humique. On ignore à quel mode précis de dégradation correspond ce changement des propriétés optiques dans cette région définie du spectre, compte tenu des conditions expérimentales où

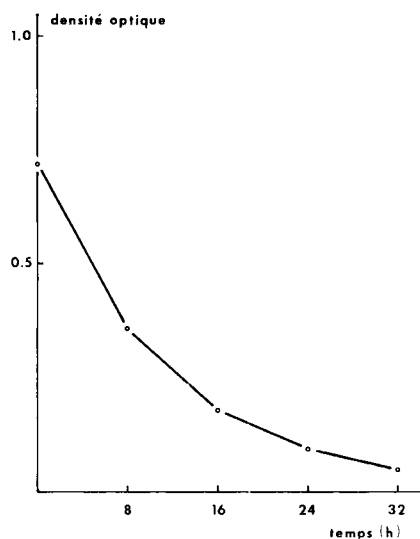


Figure 3

Diminution en fonction du temps de l'absorption à 480 nm des substances humiques modèles sous l'action du peroxyde d'hydrogène ($4 \cdot 10^{-2}$ M) en présence du cuivre II.

Decrease with time of the absorbance at 480 nm of model humic products by action of hydrogen peroxide ($4 \cdot 10^{-2}$ M) in the presence of cupric ions.

l'on s'est placé. A des concentrations plus élevées, l'action du peroxyde d'hydrogène entraîne une destruction profonde du squelette carboné des substances humiques avec libération de produits de faibles masses moléculaires. L'analyse de la courbe obtenue semble indiquer que la diminution de la densité optique suit une cinétique du premier ordre, ce qui incite à penser que la concentration en H_2O_2 mise en œuvre est encore en large excès par rapport à celle des groupes chromophores du substrat humique.

TABLEAU 1

Influence du peroxyde d'hydrogène ($4 \cdot 10^{-2}$ M) et/ou du cuivre (1.20μ atome) sur l'évolution de l'absorption à 480 nm des produits humiques modèles pendant 3 jours à 24 °C.

Effect of hydrogen peroxide ($4 \cdot 10^{-2}$ M) and/or copper (1.20μ atom) on changes in absorbance at 480 nm of model humic products over a 3 days period at 24 °C.

Additions		Temps 0		Temps 3 jours	
H_2O_2	Cu	D.O.	%	D.O.	%
—	—	0,718	100,0	0,762	106,1
+	—	0,714	99,4	0,451	62,8
+	+	0,718	100,0	0,003	0,4
—	+	0,721	100,4	0,781	108,8

Comme l'illustre le tableau 1, l'addition d'ion cuivre se révèle déterminante. L'apport de $1,2 \mu$ mole de sulfate de cuivre conduit à une décoloration complète au bout de 3 jours d'expérience, alors que dans le même temps, en absence de cet élément, l'absorption de la solution ne diminue guère de plus de 40 p. 100. Il n'est d'ailleurs pas exclu que les impuretés introduites à l'état de traces avec les divers produits chimiques intervenant dans l'expérience, puissent exercer alors une certaine action catalytique.

IV. DISCUSSION

L'activité enzymatique de la combinaison catalase/3-aminotriazole est rapidement annihilée sous l'effet d'une culture mycélienne du champignon de couche : *Agaricus bisporus* (Lange). Il paraît exclu que ce résultat soit le fait de l'action protéolytique du cryptogame. En absence de 3-aminotriazole, l'activité de la catalase introduite dans le milieu se maintient à un niveau élevé, même après 6 h d'incubation. Il est également peu probable que les faits observés correspondent à un processus d'adsorption de l'enzyme par un quelconque constituant du milieu sur lequel est cultivé le mycélium (grain de seigle stérilisé et divers adjuvants). L'essentiel du processus d'inhibition se développe surtout après la première heure de contact avec le grain, or les phénomènes d'adsorption atteignent généralement leur état d'équilibre beaucoup plus rapidement.

On peut en conclure que l'agaric cultivé possède en commun avec les quelques trente espèces de champignons destructeurs du bois examinés par KOENIGS (1972, 1974) la particularité de libérer du peroxyde d'hydrogène de façon active dans le milieu environnant.

Si on se réfère aux données rapportées par KOENIGS (1972), on peut considérer que, dans les conditions expérimentales où s'est placé cet auteur, une production de 150μ moles d'eau oxygénée entraîne une inhibition d'environ 50 p. 100 du système catalase/aminotriazole. Compte tenu de l'effet de dilution dû à l'humidité du grain, on peut admettre que ces conditions sont très proches de celles réalisées dans la présente étude, en ce qui concerne notamment la concentration en enzyme, soit approximativement 10 000 unités Sigma pour 10 ml de milieu.

Entre 1 h et 4 h d'incubation, on note un degré d'inactivation de 70 p. 100 de l'activité catalase, ce qui équivaut, si l'on s'en tient aux données ci-dessus, à une émission par le mycélium de l'Agaric d'environ 200μ moles de peroxyde pour une période de 3 h.

A des niveaux de concentration tout à fait comparables, le peroxyde d'hydrogène en présence de Cu II exerce une action de dégradation importante sur les produits de type humique ou mélanique.

Les résultats obtenus montrent que ce processus de décomposition reste encore très sensible pour des teneurs en H_2O_2 de l'ordre de 20μ moles/ml.

Il y a lieu de remarquer que les conditions expérimentales où l'on a opéré s'écartent sans doute notablement de celles qui s'établissent *in vivo* ; dans ce cas, la production d'eau oxygénée par le mycélium du champignon se trouve alors constamment renouvelée, ce qui en amplifie considérablement l'effet.

L'activité du système ion cuprique/péroxyde d'hydrogène a été reconnue depuis longtemps (BATTIE & SMEDLEY MC LEAN, 1929) et sa participation à des réactions d'oxydation de types variés a été rapportée à plusieurs reprises (SAUNDERS *et al.*, 1964). Cu II catalyse, entre autres, l'oxydation du catéchol par l'eau oxygénée (INGRAHAM, 1959). L'étude méthodique de cette réaction a permis de montrer que c'est l'ion $[Cu OOH]^+$ qui semble être l'espèce réagissante. L'ion $[Cu OOH]^+$ représente un oxydant plus actif que le peroxyde d'hydrogène, intervenant aussi bien dans les mécanismes d'oxydation homolytique que dans ceux de type ionique mettant en jeu 2 électrons. Dans

cette dernière éventualité, l'ion cuprique peut être assimilé à un acide de LEWIS qui en polarisant la liaison entre les atomes d'oxygène du groupement peroxyde, facilite le clivage de cette liaison selon un mode hétérolytique.

Comme c'est le cas pour d'autres substances organiques, la couleur caractéristique des polymères de type humique ou mélanique est en relation avec la présence d'électrons mobiles dont les transitions entre différents états d'énergie correspondent justement à l'adsorption d'un ensemble de radiations dans le domaine visible du spectre. Ces électrons appartiennent à des groupements chromophores constitués par des systèmes de doubles liaisons carbone-carbone et, le cas échéant, carbone-oxygène ou carbone-azote conjugués.

Ces systèmes se retrouvent en particulier dans la configuration moléculaire des substances du type quinone.

Dans le cas d'acides humiques isolés du sol, jusqu'à 70 p. 100 des groupes C = O totaux peuvent être identifiés, à l'analyse, à des fonctions quinones (SCHNITZER & RIFFALDI, 1972). L'important signal observé en résonnance paramagnétique électronique reste en outre significatif de la présence probable de structures semi-quinones dans la composition des groupements fonctionnels associés aux polymères humiques (STEELINK, 1964 ; SCHNITZER *et al.*, 1984).

Les observations de SENESI *et al.* (1977) laissent supposer que les radicaux libres qui sont en relation avec ces structures sont une composante active des agencements moléculaires constitutifs des groupes chromophores.

On peut penser que l'oxydation de ce type de fonctions représente sans doute la première phase de l'action du système cuivre/eau oxygénée. L'étape déterminante du mécanisme proposé par INGRAHAM (1959) suppose l'oxydation de la semiquinone dérivée du catéchol par l'ion [Cu OOH]⁺. Il a déjà été rapporté qu'à faible concentration, H₂O₂ oxyde les acides fulviques avec notamment pour effet une diminution du contenu en radicaux libres.

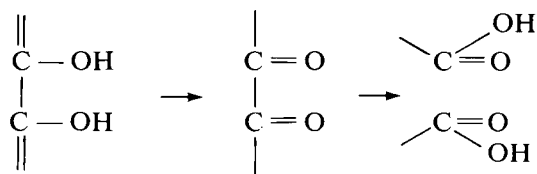
En général, l'augmentation du nombre de doubles liaisons conjuguées s'accompagne d'un déplacement de l'absorption de l'ultra-violet vers les régions visibles du spectre traduisant une diminution de l'énergie de transition des électrons mobiles et, par voie de conséquence, un abaissement relatif du niveau d'énergie des états excités (HOLST, 1954).

Dans des composés complexes tels que les matières humiques, la double liaison constitue donc ainsi un point de moindre résistance dans l'édifice moléculaire et peut représenter aussi le site au niveau duquel va s'effectuer la dégradation par les oxydants (GEISSMAN, 1965).

L'oxydation à l'endroit de la double liaison peut être interprétée comme l'attaque de l'un des doublets électroniques par l'ion [Cu OOH]⁺ faisant intervenir une réaction d'addition électrophile et amenant la formation transitoire d'un cycle époxyde lié à un proton.

L'ouverture du cycle, avec apparition du glycol, résulte alors, suivant un mécanisme connu, de l'attaque nucléophile par une molécule d'eau à l'arrière de l'un des atomes de carbone (GEISSMAN, 1965).

L'oxydation de l'αdiol peut se poursuivre selon le schéma classique aboutissant à la rupture de la liaison carbone-carbone (HOLST, 1954).



Il est difficile d'apprécier dans quelle mesure *in situ*, le cuivre à l'état libre ou complexé, peut effectivement prendre part, comme catalyseur, à ce processus d'oxydation.

D'après les analyses de FLECKENSTEIN & GRABBE (1981), la teneur en cuivre du compost de fumier de cheval au moment de l'ensemencement avec le champignon est de l'ordre de 30 p.p.m. de matière sèche. Environ 1/5 est soluble dans le réactif d'extraction au CaCl₂. Rapportée à l'eau d'humidification du compost, cette fraction n'équivaut guère qu'à 0,05 μatome de Cu/ml de solution. Il est possible qu'à des niveaux de concentration notablement inférieurs à ceux auxquels se rapportent les résultats du tableau 1, l'activité du cuivre reste encore appréciable.

Comme c'est le cas pour quelques autres ions métalliques, à l'état libre ou complexé, l'effet catalytique qu'exerce le cuivre peut être assimilé dans une certaine mesure à une activité peroxydase (SAUNDERS *et al.*, 1964).

INGRAHAM (1959) a fait remarquer la similitude qui existe entre l'ion [Cu OOH]⁺ et l'ion [Fe OOH]⁺⁺.

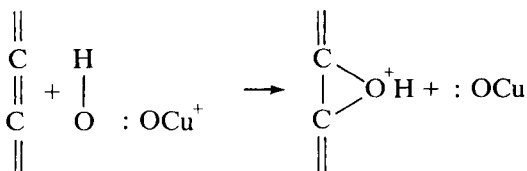
Quelques essais ont montré à l'occasion de la présente étude que le fer pouvait avoir également une action marquée sur la vitesse de décoloration des produits bruns par H₂O₂.

C'est le fer ferrique associé à un groupement porphyrine (protoporphyrine IX) qui constitue le cofacteur des enzymes végétales du type peroxydase.

D'après MISHUSTIN & NIKITIN (1961), la décomposition des humates par les bactéries est due principalement à une activité peroxydase.

Avec le substrat humique particulier sur lequel on a expérimenté, l'addition de peroxydase (EC 1.1.1.7 Sigma type 1) ne modifiait pratiquement pas la marche de la dégradation par l'eau oxygénée. On observait cependant un léger signe d'activité en présence d'un apport complémentaire de résorcinol (cf. SAUNDERS *et al.*, 1964). L'inhibition de l'enzyme par les matières humiques pourrait expliquer ce défaut apparent d'efficacité (PEREIRA & MENDEZ, 1976 ; SCHNITZER *et al.*, 1984). Par ailleurs, les échantillons de blanc sur grains que l'on a examinés pour leurs propriétés enzymatiques paraissaient présenter, comparativement à celle de la laccase, une activité peroxydase très faible, sinon nulle.

La décomposition des acides humiques par les champignons basidiomycètes supérieurs a déjà fait l'objet d'un certain nombre d'expérimentations qui ont montré la réalité du phénomène pour plusieurs espèces lignicoles (BURGES & LATTER, 1960 ; HURST *et al.*,



1962 ; TESAŘOVÁ & SCHÁNĚL, 1968). Les diverses interprétations avancées pour expliciter la biochimie de ce genre d'activité paraissent toutefois quelque peu contradictoires.

Il apparaît maintenant que les modalités de dégradation d'un certain nombre de polymères naturels font intervenir l'action du peroxyde d'hydrogène.

Pour KOENIGS (1975), l'association fer/peroxyde d'hydrogène peut être considérée comme équivalente à un système cellulolytique microbien. L'enzyme active dans la dégradation de la lignine que TIEN & KIRK (1984) ont purifié à partir des cultures du basidiomycète *Phanerochaete chrysosporium* requiert la présence d'eau oxygénée pour exercer son effet.

Pour ce qui est de la décomposition des matières humiques dans le cas particulier des composts de champignonnières, on est à même d'admettre, à la suite de la présente étude, qu'il y a également production extracellulaire d'eau oxygénée par le champignon de couche *Agaricus bisporus* et que ce métabolite peut très bien agir comme agent de dégradation des constituants humiques du milieu dans des conditions compatibles avec la biologie du cryptogame.

On ignore encore cependant si cette action du

peroxyde d'hydrogène pourrait être induite par la peroxydase, par un autre type d'enzyme, ou simplement résulter de l'effet catalytique de certains ions métalliques présents dans le compost.

Une telle interprétation de l'action possible du champignon sur les composés humiques se trouve en accord avec les observations rapportées il y a plusieurs décennies par WAKSMAN & ALLEN (1932), selon lesquelles les constituants organiques du compost, une fois qu'ils ont été soumis, pendant un certain temps, à l'action du mycélium de l'Agaric, sont rendus plus facilement décomposables par la population microbienne du sol.

Ces premiers résultats définissent en partie la nature des rapports sur lesquels se fonde l'adaptation du champignon à son milieu. Si, dans cet ordre d'idée, le rôle essentiel des phénomènes d'humification et de « déshumification » pouvait être confirmé, il y aurait lieu d'en tenir compte dans la mise en œuvre des techniques de préparation des composts en s'efforçant de mieux contrôler l'action des facteurs qui entrent en jeu dans l'élaboration et l'évolution des constituants humiques.

Reçu le 25 septembre 1986.

Accepté le 14 juillet 1987.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Battie M. A., Smedley-Mac Lean I.**, 1929. The catalytic action of cupric salts in promoting the oxidation of fatty acids by hydrogen peroxide. *LXVIII. Biochem. J.*, 23, 593-599.
- Burges A., Latter P.**, 1960. Decomposition of humic acid by fungi. *Nature, London*, 186, 404-405.
- Cohen G., Hochstein P.**, 1964. Generation of hydrogen peroxide in erythrocytes by hemolytic agents. *Biochemistry*, 3, 895-900.
- Fleckenstein J., Grabbe K.**, 1981. Quantitative Aufnahme von Schwermetallen aus kontaminierten Substraten des Pilzbaus durch *Agaricus bisporus*. *Mushr. Sci.*, XI, Part 2, 35-40.
- Geissman T. A.**, 1965. *Principles of organic chemistry*. Trad. française J. Colonge, G. Chapas et R. Marey. Dunod, Paris, p. 839.
- Grabbe K., Haider K.**, 1971. Die Huminstoffbildung und der Stickstoffumsatz bei der Bereitung des Kultursubstrats und während des Wachstums von *Agaricus bisporus*. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.*, 129, 216-226.
- Haider K., Martin J. P.**, 1970. Humic-acid type phenolic polymers from *Aspergillus sydowi* culture medium, *Stachybotrys* spp. cells and autoxidized phenol mixtures. *Soil Biol. Biochem.*, 2, 145-156.
- Halliwell G.**, 1965. Catalytic decomposition of cellulose under biological conditions. *Biochem. J.*, 95, 35-40.
- Holst G.**, 1954. The chemistry of bleaching and oxidizing agents. *Chem. Rev.*, 54, 169-194.
- Hurst H. M., Burges A., Latter P.**, 1962. Some aspects of the biochemistry of humic acid decomposition by fungi. *Phytochemistry*, 1, 227-231.
- Ingraham L. L.**, 1959. Model copper oxidases: the cupric ion-catalyzed hydrogen peroxide oxidation of catechol. *Arch. Biochem. Biophys.*, 81, 309-318.
- Koenigs J. W.**, 1972. Production of extracellular hydrogen peroxide and peroxidase by wood-rotting fungi. *Phytopathology*, 62, 100-110.
- Koenigs J. W.**, 1974. Production of hydrogen peroxide by wood-rotting fungi in wood and its correlation with weight loss, depolymerization and pH changes. *Arch. Microbiol.*, 99, 129-145.
- Koenigs J. W.**, 1975. Hydrogen peroxide and iron: a microbial cellulolytic system. In Wilke C. R. (Ed.) — *Biotechnology and bioengineering Symposium*, n° 5, *Cellulose as a chemical and energy resource*. Conference Proceedings Berkeley (Calif. U.S.A.), 25-27 juin 1974, 361 p. John Wiley and Sons: New York/London.
- Ladd J. N., Brisbane P. G.**, 1967. Release of amino acids from soil humic acids by proteolytic enzymes. *Aust. J. Soil Res.*, 5, 161-171.
- Maggioni A.**, 1981. Changes of the humus-like material during composting. *Mushr. Sci.*, XI, Part 2, 47-61.
- Martin J. P., Haider K.**, 1969. Phenolic polymers of *Stachybotrys atra*, *Stachybotrys chartarum* and *Epicoccum nigrum* in relation to humic acid formation. *Soil Sci.*, 107, 260-270.
- Mishustin E. N., Nikitin D. I.**, 1961. (Destructibility of humic acids by soil microflora.) *Mikrobiologiya*, 30, 841-848 — en russe — *In Soils & Fertilizers XXV* (1962), 19 (101).
- Nicolaus R. A., Piattelli M., Fattorusso E.**, 1964. The structure of melanins and melanogenesis. IV. On some natural melanins. *Tetrahedron*, 20, 1163-1172.
- Pereira J. R., Méndez J.**, 1976. Inhibition of peroxidase by algal humic and fulvic acids. *Biol. Plant.*, 18, 179-182.
- Rast D. M., Stüssi H., Hegnauer H., Nyhlen L. E.**, 1981. Melanins. In *The fungal spore: morphogenetic controls*. G. Turian et M. R. Hohl (Ed.), 507-531. Academic Press., Inc, New York.
- Saunders B. C., Holmes-Siedle A. G., Stark B. P.**, 1964. *Peroxydase*. Butterworths, London, 281 p.
- Schnitzer M., Riffaldi R.**, 1972. The determination of quinone groups in humic substances. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 36, 772-777.
- Schnitzer M., Barr M., Hartenstein R.**, 1984. Kinetics and characteristics of humic acids produced from simple phenols. *Soil Biol. Biochem.*, 16, 371-376.
- Senesi N., Chen Y., Schnitzer M.**, 1977. The role of free radicals in the oxidation and reduction of fulvic acid. *Soil Biol. Biochem.*, 9, 397-403.
- Steelink C.**, 1964. Free radical studies of lignin, lignin degradation products and soil humic acids. *Geochim. cosmochim. Acta*, 28, 1615-1622.
- Tesařová M., Scháněl L.**, 1968. Humus acids as a nutrition source for some white-rot fungi. *Biol. Plant.*, 10, 135-141.
- Tien M., Kirk K.**, 1984. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase. *Proc. natl. Acad. Sci. USA*, 81, 2280-2284.
- Verma L., Martin J. P., Haider K.**, 1975. Decomposition of carbon-14-labeled proteins, peptides, and amino acids; free and complexed with humic polymers. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39, 279-284.
- Waksman S. A., Allen M. C.**, 1932. Comparative rate of decomposition of composted manure and spent mushroom soil. *Soil Sci.*, 34, 189-195.