



HAL
open science

Des champignons pour réhabiliter les sols pollués

Rachel Rama-Mercier, Jean-Claude Sigoillot, Christian Mougin

► **To cite this version:**

Rachel Rama-Mercier, Jean-Claude Sigoillot, Christian Mougin. Des champignons pour réhabiliter les sols pollués. *Biofutur*, 1997, 1997 (170), pp.34-36. <10.1016/S0294-3506(97)88265-8>. <hal-01600238>

HAL Id: hal-01600238

<https://hal.science/hal-01600238v1>

Submitted on 20 Jan 2023

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

Des champignons pour réhabiliter les sols pollués

Rachel Rama-Mercier¹, Jean-Claude Sigoillot², Christian Mougin³

¹Krebs reseau Eurysis, division réhabilitation des sites, 8, rue Jean- Pierre-Timbaud, 78184 Saint-Quentin-en-Yvelines

²INRA, Laboratoire de biotechnologie des champignons filamenteux. ESIL-CESB, CP 925, 163 av de Luminy, 13288 Marseille cedex 09

³INRA, Unité de Phytopharmacie et médiateurs chimiques, route de Saint-Cyr, 78026 Versailles cedex

Les champignons de la « pourriture blanche », producteurs d'enzymes qui dégradent la lignine du bois, peuvent contribuer à décontaminer les sites pollués par des hydrocarbures polycycliques, les composés chlorés ou les cyanures. Sur le terrain, des expériences sont en cours dont l'une a obtenu des résultats concluants.

Avec la diversification des produits d'origine industrielle, le nombre de substances totalement étrangères au monde vivant, dites xénobiotiques, a considérablement augmenté. Certains de ces polluants ont contaminé les sols, dans des décharges ou des installations industrielles non contrôlées, à l'occasion d'accidents de transport, par le biais de rejets urbains et industriels ou en raison de pratiques agricoles. En France, dans son dernier inventaire (à paraître à l'automne), le ministère de l'Environnement a ainsi recensé 896 sites contaminés (sites radioactifs et décharges d'ordures ménagères non compris).

Tous les xénobiotiques sont biodégradables, mais à plus ou moins long terme évidemment. En vue d'accélérer le processus et de dépolluer les sites contaminés, on songe de plus en plus à exploiter les propriétés de certains champignons dits de la « pourriture blanche » (lorsque ces champignons dégradent la lignine du bois, celui-ci apparaît blanc). En milieu liquide, ces champignons filamenteux dégradent parfaitement, grâce à des enzymes attaquant la lignine, un grand nombre de polluants organiques. Parmi eux, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) tels que le benzo(a)pyrène ou l'anthracène, les composés aromatiques chlorés (chlorophénols, polychlorophénols ou PCB, dioxines) (1), les insecticides chlorés comme le lindane (2), les produits nitrés tels que le 2,4,6-trinitrotoluène, les colorants azoïques (3) ou encore les cyanures et leurs dérivés. Une telle capacité de dégradation des polluants organiques est fondée sur l'existence de processus biochimiques naturels, propres au monde vivant. Les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux utilisent en général la même méthode pour favoriser, non pas la destruction, mais l'excrétion et donc l'élimination des toxiques hors de leurs cellules. Elle consiste en une hydroxylation, c'est-à-dire l'ajout de groupements hydroxyles (OH) sur la chaîne carbonée, réaction réalisée en présence d'oxygène, notamment par les systèmes enzymatiques à cytochrome P450.

Les champignons filamenteux ont, en outre, développé une stratégie de dégradation des produits organiques très différente de celle des bactéries, en raison de leur mode de vie : saprophytes, ils se nourrissent de cellulose et

d'autres polysaccharides du bois. Pour atteindre ces substrats, ils produisent des enzymes extracellulaires qui décomposent la lignine, polymère aromatique qui constitue un véritable ciment autour des fibres de cellulose et confère ainsi sa rigidité au bois (4). Les enzymes lignolytiques en jeu sont essentiellement des peroxydases dépendantes de l'eau oxygénée (H_2O_2), composé produit sous l'action d'oxydases (glucose oxydase, glyoxal oxydase...) à partir des produits de dégradation de la cellulose. Deux types de peroxydases sont généralement synthétisées : les lignine peroxydases (LiP) et les manganèse peroxydases (MnP). Ce sont toutes des hémoprotéines à protoporphyrine IX contenant un atome de fer (voir figure). Leurs gènes ont été clonés et séquencés (5).

De nombreux atouts

Ces enzymes fongiques intéressent au premier chef les papetiers : grâce à elles, des procédés moins polluants que les procédés chimiques actuels pourraient éliminer la lignine des fibres de cellulose. Émerge aussi la possibilité de traiter les effluents des usines de pâte à papier, très chargés en lignine, voire en dérivés chlorés de ce polymère, rejetés lors des traitements de blanchiment (6).

Les champignons de la pourriture blanche et leurs peroxydases possèdent également plusieurs atouts pour dépolluer les sols : le système lignolytique étant extracellulaire, le champignon peut dégrader des produits très insolubles ou difficilement accessibles à d'autres microorganismes, car les polluants ne pénètrent pas dans les cellules fongiques ; la production des enzymes s'effectue lorsque les champignons doivent accéder à la cellulose, l'activité du champignon étant indépendante de la concentration et de la composition du polluant. Autre point fort, des mélanges organiques complexes tels que les HAP et les créosotes sont susceptibles d'être entièrement dégradés. De plus, le système d'enzymes lignolytiques, en transformant le polluant à distance, permet au champignon de tolérer des concentrations de produits toxiques considérablement plus élevées que les taux supportés par les autres organismes. Par exemple, bien que le pentachlorophénol (PCP) soit très toxique pour les spores de *Phanerochaete chrysosporium*, des cultures fongiques âgées de quelques jours tolèrent et dégradent des concentrations élevées de ce composé (7). Dernier avantage : contrairement aux bactéries cultivées in vitro, le champignon est capable de se développer dans un milieu hostile et de s'y implanter malgré la microflore endogène, surtout s'il bénéficie d'un support lignocellulosique naturellement présent dans le sol ou importé (pailles par exemple).

Reste à résoudre plusieurs problèmes de mise en œuvre. Les champignons naturellement présents en faible quantité dans les sols pollués ne sont pas forcément les plus aptes à dégrader les polluants qui s'y trouvent. Il est donc nécessaire, pour chaque cas particulier, de sélectionner par criblage la souche capable de dégrader de manière optimale les polluants dans un échantillon représentatif du sol à traiter (8).

Cette approche par essais en laboratoire rebute bien souvent les utilisateurs, qui sont demandeurs d'une technologie « clés en main » la moins coûteuse possible en temps et en moyens. C'est ce qui explique le succès des méthodes classiques dites de biostimulation, qui consistent à favoriser in situ le développement des microorganismes autochtones. Une première voie de biostimulation, la bioaération, fait circuler de l'air ou un gaz dans le sol pollué. Les gaz apportent des accepteurs d'électrons qui activent les microorganismes autochtones et peuvent entraîner des composés volatils. Des expérimentations en cours à l'Inra de Versailles montrent que des

molécules modèles d'HAP, telles que le phénanthrène, sont éliminées à près de 50 % en 28 jours par évaporation dans des échantillons témoins stériles. Les mêmes expériences ont également mis en évidence la production de métabolites volatils du benzo(a)pyrène, un HAP. Un traitement supplémentaire des effluents gazeux est donc, dans ce cas, indispensable, par exemple en utilisant des biofiltres tels que la tourbe. La seconde technique apportant des nutriments aux microorganismes est l'injection, le pompage et le traitement d'un milieu aqueux enrichi en nutriments ou en surfactants. Le milieu aqueux est traité éventuellement dans un réacteur biologique avant réinjection dans le sol.

Premiers résultats prometteurs

Les techniques sur terres excavées permettent une meilleure maîtrise des conditions opératoires que les démarches in situ. Selon la forme des tas de terre excavée, on distingue l'épandage uniforme sur une hauteur qui peut atteindre 1 m, le compostage des sols en andains de 1,50 m ou en tertres qui peuvent atteindre des hauteurs de 3 m (la hauteur est limitée pour des raisons d'aération et de tassement). La terre est placée sur une « géomembrane » étanche qui permet de récupérer les lixiviats et de protéger la nappe phréatique (voir photo ci-contre). Ces techniques, plus coûteuses en terrassement, permettent de texturer le sol en apportant un support éventuel de croissance et un ensemencement dans la masse. Elles sont particulièrement adaptées à la mise en oeuvre d'une souche de champignons préalablement sélectionnée en laboratoire (bioaugmentation).

Les champignons de la pourriture blanche, *Phanerochaete chrysosporium* en particulier, ont des potentialités élevées de dégradation des HAP. Des expériences de terrain effectuées en Finlande par la firme de Cambridge, Biotal Ltd, en 1993, ont mis en évidence une baisse spectaculaire du taux d'HAP sous l'action de *P chrysosporium* (9). En laboratoire, d'autres souches fongiques donnent des résultats appréciables. On peut citer des souches de *Cunninghamella elegans*, *Aspergillus niger*, ou encore *Bjerkandera adusta* et *Lentinus lepideus*, isolées à l'Inra. Elles sont capables de se développer dans des sols industriels contenant près de 2 000 ppm de HAP. Des expérimentations pilotes sont en cours sur le site de la Cogema à Limoges.

Les souches fongiques isolées ne sont pas des organismes génétiquement modifiés et leur utilisation ne nécessite pas de réglementation particulière. Cela dit, l'analyse et les essais sur le terrain demandent du temps, pour pouvoir apporter, à un problème particulièrement complexe, une solution efficace et plus économique que les techniques physicochimiques.

Remerciements

Marcel Ashier, Veronique Chaplain et Laurent Sohier.

Références

- (1) MM Shah et al (1992) *Toxicol Let* 64/65, 493-501.
- (2) C Mougin et al (1997) *Soil Biol Bio- chem* (sous presse.)
- (3) FK Higson (1991) *Rev Environ Conta- min Toxicol* 122, 111-152.
- (4) T Higuchi (1990) *Wood Sci Technol* 24, 23-63.
- (5) M Tien, C-PD Tu (1987) *Nature* 326, 520-523.
- (6) JC Sigoillot et al (1997) *Holzfor- schung* 51(sous presse).
- (7) C Laugero et al (1997) *Can J Micro- biol* 43, 378-383.
- (8) L Sohier (1996) *Environnement et Techniques* 156, 46-52.
- (9) ML Holroyd, P Gaunt (1994) *Land Contamination and Reclamation* 2 (4), 183.

Légendes des figures

1. Une souche du champignon filamenteux *Pycnoporus cinabarinus*, producteur de plusieurs enzymes lignolytiques. Le pigment orange produit est la cinabarine.

2. Cycle catalytique de la manganèse peroxydase (MnP). La peroxydase sous la forme ferrique (Fe^{3+}) réagit avec l'eau oxygénée et forme alors un composé (appelé composé I) dans lequel le fer se trouve à un niveau d'oxydation +5. Il peut donc subir deux réductions monoélectroniques pour revenir à l'enzyme native à fer ferrique. Ces réductions se font par l'oxydation du Mn^{2+} (chélaté par un acide organique) en Mn^{3+} pour les manganèse peroxydases. D'où la formation de radicaux libres très réactifs qui donnent lieu à des réactions en cascade intéressantes en particulier les électrons Π des noyaux aromatiques et conduisant à la coupure aussi bien des liaisons C-C que des liaisons éther.

3. Une cuve de production d'un champignon lignolytique de la pourriture blanche, *Trametes versicolor*.

4. Les techniques qui permettent le développement de souches fongiques sélectionnées en laboratoire sont en cours d'expérimentation. On voit ici, sur le site de la Cogema, à Limoges, une « géomembrane » (une bâche) étanche sur laquelle est placée la terre. Elle permet de récupérer les lixiviats et de protéger la nappe phréatique. Les tuyaux servent à l'aération.