



Biotransformation du lindane par le champignon filamentueux *Phanerochaete chrysosporium*

C. Pericaud, Christian Mougin, Jacqueline Dubroca, M. Asther

► To cite this version:

C. Pericaud, Christian Mougin, Jacqueline Dubroca, M. Asther. Biotransformation du lindane par le champignon filamentueux *Phanerochaete chrysosporium*. 24ème congrès du Groupe Français des Pesticides, 1994, Comptes rendus. hal-02779251

HAL Id: hal-02779251

<https://hal.inrae.fr/hal-02779251>

Submitted on 18 Mar 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.

BIOTRANSFORMATION DU LINDANE PAR LE CHAMPIGNON FILAMENTEUX *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM*

Claude PERICAUD¹, Christian MOUGIN¹, Jacqueline DUBROCA¹ et Marcel
ASTHER²

¹INRA, Unité de Phytopharmacie et des Médiateurs Chimiques, Route de Saint-Cyr, F-78026 VERSAILLES CEDEX

²INRA, Laboratoire de Biotechnologie des Champignons Filamenteux, Parc Scientifique et Technologique, Faculté des Sciences de Luminy, case postale 929, F-13288 MARSEILLE CEDEX 09

MOTS-CLE

basidiomycètes, champignons ligninolytiques, xénobiotiques, organochlorés

INTRODUCTION

Le champignon ligninolytique *Phanerochaete chrysosporium* présente des potentialités intéressantes pour transformer des composés organiques récalcitrants (1). Ces potentialités sont souvent décrites comme corrélées à la production par le champignon de peroxydases extracellulaires, les lignine (LiPs) et manganèse (MnPs) peroxydases (2,3). Cependant, le rôle direct de ces enzymes dans la dégradation des xénobiotiques n'est que rarement démontré. C'est en particulier le cas du lindane pour lequel nous ne disposons que de peu d'informations (2,4). Notre programme de recherches a pour objectif la compréhension des mécanismes mis en jeu lors de la transformation de pesticides persistants par *P. chrysosporium* (5). Les connaissances ainsi acquises permettront de développer des procédés de biotraitement des eaux et des sols contaminés par des composés naturellement peu biotransformés.

Nous avons étudié la transformation du lindane par *P. chrysosporium* sous diverses conditions de culture. Nous présentons ici les résultats obtenus avec des cultures qui produisent peu de peroxydases.

CONDITIONS EXPERIMENTALES

Les cultures sont conduites pendant 14 jours en conditions statiques, à l'obscurité, à 25°C, dans des Erlenmeyers contenant 10 ml de milieu (5), en présence de 2,4 mM d'azote et de 0,27 µM de ¹⁴C-lindane. Après ensemencement par les spores, les cultures sont placées dans des flacons étanches munis de pièges à CO₂ (NaOH 1N). Les flacons sont aérés et les pièges à CO₂ sont changés tous les 4 jours. La volatilisation du lindane a été mesurée en parallèle à différentes températures d'incubation. Des pièges à composés volatiles sont placés dans les bocaux. La radioactivité contenue dans les différents pièges est quantifiée par scintillation liquide.

Tous les 2 jours, milieux de culture et biomasse fongique sont séparés par filtration sur filtre fibre de verre et membrane 1,2 µm. Les milieux sont concentrés sur une précolonne CLHP C₁₈ et analysés en phase inverse avec détection de radioactivité. Les composés sont élués par un gradient eau/acétonitrile/H₃PO₄. Les mycéliums sont broyés dans un mélange acétonitrile/eau et la radioactivité est extraite par le dichlorométhane. Après concentration et reprise par le méthanol, une fraction aliquote est analysée en CLHP. La croissance est déterminée par la mesure du poids sec du mycélium après séchage à l'étuve. Les activités LiP et MnP sont mesurées par spectrophotométrie UV en suivant l'oxydation de substrats modèles (6,7).

RESULTATS

I.PRODUCTION DES PEROXYDASES ET CROISSANCE DE *P. CHRYSOSPORIUM*

La figure 1 présente les profils de production des peroxydases à 25°C (nos conditions), et 37°C (conditions ligninolytiques optimales)(5) à titre de comparaison. La croissance de *P. chrysosporium* à 25°C est également illustrée. Dans nos conditions de culture, la production des MnPs est très faible, mais non nulle. Les LiPs présentent quant à elles de

bons niveaux d'activité. Les maxima de production des LiPs et MnPs se situent à 6 jours à 25°C, et 4 jours pour des cultures à 37°C. Les peroxydases sont produites pendant la phase de croissance du champignon.

II.REPARTITION DE LA RADIOACTIVITE DANS LES CULTURES

La répartition de la radioactivité entre les compartiments solides (la biomasse fongique), liquides (le milieu) et gazeux des cultures est présentée figure 2. Le dernier compartiment renferme environ 25 % de la quantité initiale de lindane perdu par volatilisation et 4 % de $^{14}\text{CO}_2$ provenant de la minéralisation du lindane pendant les 14 jours d'incubation. Dès 2 jours, la quantité de radioactivité diminue dans le milieu et augmente dans le mycélium. Après 10 jours, une fraction de la radioactivité contenue dans le mycélium est relarguée dans le milieu de culture.

III.TRANSFORMATION DU LINDANE *IN VIVO*

Après extraction et analyse, seul le lindane a été détecté dans le mycélium. Des combustions de mycélium par "oxidizer" montrent que toute la radioactivité de la biomasse est extraite et qu'il n'existe pas de radioactivité liée. En revanche, le milieu de culture contient le lindane résiduel et les métabolites.

Trois métabolites principaux sont séparés par CLHP. Leur évolution est représentée figure 3. De plus une fraction hydrosoluble très polaire (non retenue par la colonne CLHP) augmente avec le temps de culture. L'ensemble des métabolites représente 18 % de la quantité initiale de lindane après 14 jours de culture.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La production du système ligninolytique par *P. chrysosporium* n'est pas supprimée dans des cultures sous haut niveau d'azote, faible pression partielle en oxygène et basse température. Dans nos conditions, les cultures de *P. chrysosporium* sont capables de dégrader le lindane. Le pesticide est partiellement minéralisé et est transformé en métabolites polaires.

L'identification des métabolites et l'établissement du schéma de dégradation du lindane par *P. chrysosporium* restent à faire. De plus l'étude des systèmes enzymatiques impliqués dans la dégradation du pesticide est en cours.

REMERCIEMENTS

Nous remercions RHONE POULENC AGROCHIMIE pour nous avoir fourni le lindane marqué.

REFERENCES

- 1.Higson F.K. (1991) Rev. Environ. Contam. Toxicol. 122, 111-152.
- 2.Bumpus J.A., Tien M., Wright D. and Aust S.D. (1985) Science 228, 1434-1436.
- 3.Bumpus J.A. and Aust S.D. (1987) BioEssays 6, 166-170.
- 4.Kennedy D.W., Aust S.D. and Bumpus J.A. (1990) Appl. Environ. Microbiol. 56, 2347-2353.
- 5.Mougin C., Laugero C., Asther M., Dubroca J., Frasse P. and Asther M. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60, 705-708.
- 6.Tien M. and Kirk. T.K. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **81**, 2280-2284.
- 7.Paszczynski, A., Huynh V.B., and Crawford R. (1986) Arch. Biochem. Biophys. **244**, 750-765.

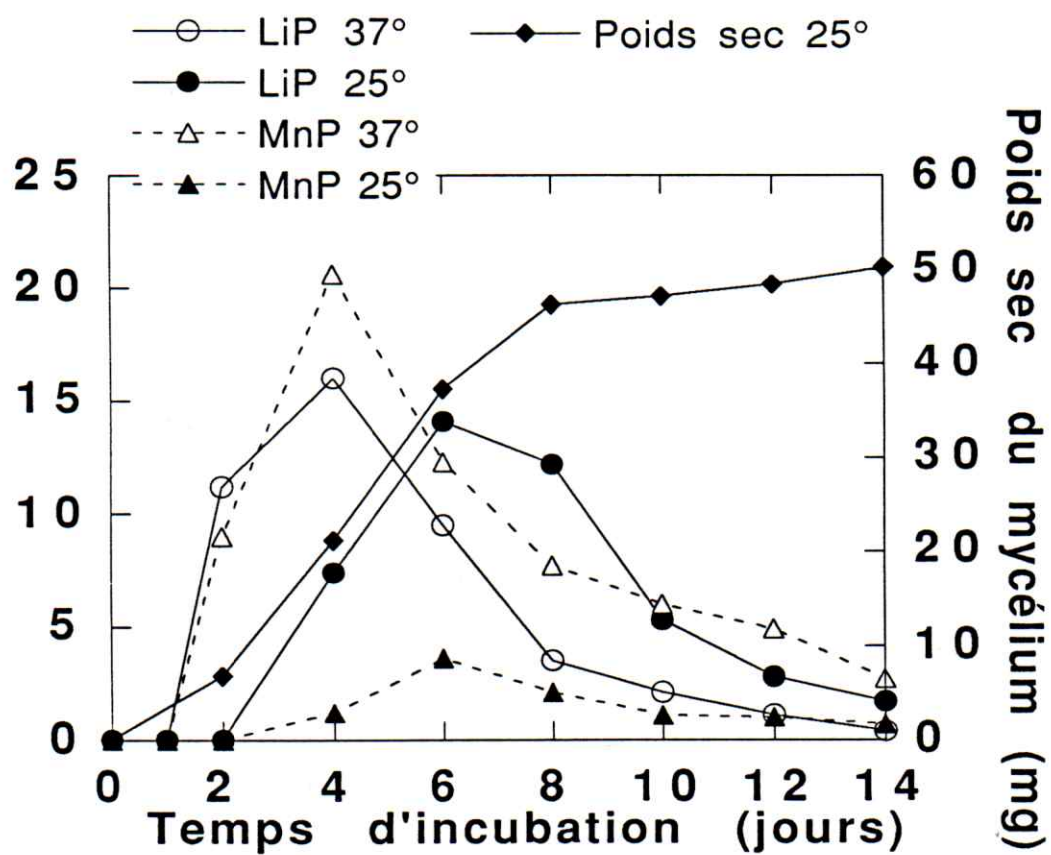
LEGENDE DES FIGURES

Figure 1 : Profils de production des peroxydases extracellulaires et courbe de croissance de *P. chrysosporium*.

Figure 2 : Répartition de la radioactivité dans les cultures de *P. chrysosporium*.

Figure 3 : Evolution des métabolites formés au cours des incubations de *P. chrysosporium* en présence de lindane.

Activités enzymatiques (nkat/ml)



Répartition de la radioactivité
(% de la radioactivité initiale)

