

LA MYCOREMÉDIATION DES SOLS POLLUÉS PAR LE CUIVRE

Le traitement du bois par le cuivre dans le cadre de la sylviculture entraîne une pollution des sols. La capacité de certains champignons à chélater le cuivre réduit la toxicité. Nous allons voir comment l'action des pleurotes peut aider à purifier les sols pollués par les métaux lourds en les cultivant en présence de cuivre. On espère voir une diminution de la concentration en cuivre dans le milieu, à l'image des champignons à pourriture brune dans la nature.

Sommaire :

Introduction.	p. 3
I.Mise en culture des pleurotes.	p. 3
A. Mise en culture à partir de kits.	
B. Mise en place des différents milieux.	
C. Mesure de la croissance en fonction de la concentration de cuivre dans le milieu de culture.	
II.Mesure par spectroscopie.	p. 4
A. Fabrication de la solution de cuivre .	
B. Présentation des différentes solutions récupérées sous les quatre serres durant une période de trois semaines.	
C. Analyse des résultats.	
D. Dilution et gamme étalon.	
III.Expériences de diminution de la concentration en cuivre du milieu.	p. 6
IV.Conclusion et Bibliographie	p. 6

INTRODUCTION :

Les champignons font partie intégrante des écosystèmes forestiers. Certains champignons produisent des oxalates qui chélatent les métaux. Nous nous intéresserons en particulier à un champignon capable de chélater le cuivre. Nous allons voir dans quelle mesure la culture de pleurotes peut-elle constituer une méthode efficace de mycoremédiation pour réduire la concentration de cuivre dans les sols contaminés.

D'après nos recherches bibliographiques, seuls les champignons à pourriture brune sont capables de survivre à une exposition continue de cuivre. Parmi les champignons à pourriture brune, notre choix s'est porté sur *Pleurotus ostreatus*. En effet, c'est un champignon lignicole qui peut chélater le cuivre et qui est très résistant.

I. Mise en culture des pleurotes.

Dans un premier temps des expériences de mise en culture sur de la gélose et sur des copeaux de bois ont été réalisées mais non abouties à cause de la mort du champignon.

A. Expérience de mise en culture à partir de kits.

Nous nous sommes ensuite procuré des kits de *Pleurotus ostreatus* composés de paille mélangée avec du mycélium de champignons (Figure 4).



Figure 4 : Photographie montrant l'évolution de *Pleurotus ostreatus* à partir du premier kit, au bout d'une semaine

Commencer la numérotation à 1.

Au bout d'une semaine les champignons ont atteint leur taille maximale, nous les avons transférés dans 4 serres différentes.

B. Mise en place des différents milieux

Chaque serre reçoit un arrosage de 13 ml d'eau ou de cuivre par jour. De plus, chaque serre possède des trous qui laissent passer les liquides. De ce fait, les serres ont été surélevées afin de récupérer au fur et à mesure des jours, l'eau (avec ou sans cuivre) filtrée par la paille (avec ou sans champignon).

- La serre 1 sert de témoin négatif.
- La serre 2 permet de voir l'évolution ou non de la concentration de cuivre en présence de champignons.
- La serre 3 et 4 permettent de quantifier l'action de la paille qui absorbe une partie des liquides.

Chacune des serres a une masse en paille de 17g et nous avons rajouté 3g de champignons dans les serres d'intérêt.

numérotez ds le texte ce qu'il y a ds chaque serre -



Figure 6 : Réalisation des 4 nouvelles serres en conditions expérimentales contenant la deuxième génération de *Pleurotus*.

Numérotez les serres sous chaque photo

de rebouffez 1 feu + l'idée pour aider à la compréhension.

C'est un tri simple car vs un parking de 4 places pré-édifié.

C. Mesure de la croissance en fonction de la concentration de cuivre dans le milieu de culture

Nous avons mis en place 3 serres aux concentrations suivantes: 0,5 mol/L, 0,1 mol/L, 0,04 mol/L, afin d'observer l'effet du cuivre sur la croissance des pleurotes.

Ces croissances seront comparées à une serre témoin, ne contenant aucun cuivre dans le milieu.

(courbe à insérer)

II. Mesures par spectroscopie.

complexe $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$

complexe CuC_2O_4
et rep...?

L'utilisation de la spectroscopie est possible car le cuivre (II) absorbe dans le visible, contrairement aux oxalates de cuivre. Afin de mettre en évidence la formation d'oxalate de cuivre, on cherche à observer une diminution de la concentration de cuivre (II). ds l'eau récupérée sous la paille (de culture?)

A. Fabrication de la solution de cuivre.



Nous avons choisi de réaliser une solution de cuivre à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹ pour pouvoir l'observer par spectroscopie (Figure 7). La solution sera pulvérisée sur les champignons pendant 3 semaines tous les jours. 7,98 g de cuivre a ainsi été incorporé dans 0,5 L d'eau.

Figure 7 : Photographie de la bouteille contenant une solution à 0,1 mol.L⁻¹ de CuSO₄.

= pas bcp d'intérêt

B. Présentation des différentes solutions récupérées sous les quatre serres durant une période de 3 semaines.

Nous cherchons à déterminer la concentration de cuivre se trouvant dans les différents milieux, après chaque semaine d'arrosage.

Ainsi, chaque semaine l'eau (contenant ou non du cuivre) a été récupérée pour que les courbes d'absorbance soient déterminées à partir de l'analyse spectrophotométrique (Figure 8). Nous nous attendons donc à ce que le milieu avec le champignon ait une absorbance plus faible que celui sans le champignon. De plus, nous nous attendons à ce que la capacité du champignon à chélater le cuivre diminue dans le temps.

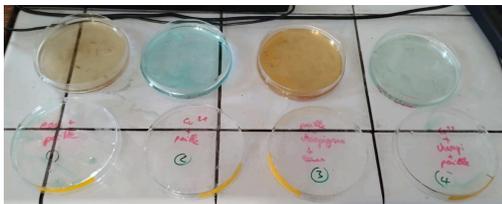


Figure 8 : Préparation des cuves contenant le blanc et les différentes solutions provenant des serres.

C. Analyse des résultats

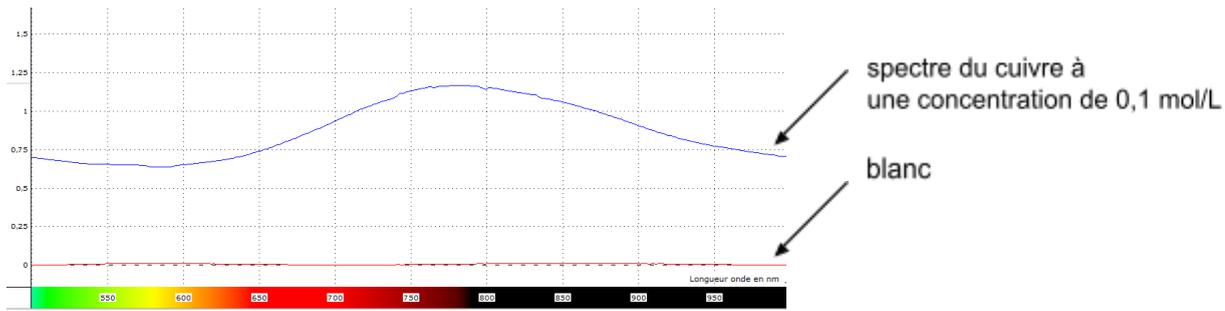


Figure 9: spectre d'absorbance d'une solution de cuivre à 0,1 mol/L.

On en déduit que le lambda max vaut 784 nm et la solution de cuivre initiale a une absorbance de 1,166 à ce lambda max.

La solution récupérée du milieu avec de l'eau et de la paille a une absorbance qui ne varie pas au cours des semaines : 0,247 au lambda max. De même, l'absorbance de la solution avec l'eau et le champignon sans cuivre reste autour de 0,266 au lambda max.

On voit sur le spectre que la longueur d'onde correspondant à l'absorbance maximale est de 784 nm

	Milieu cuivre sans champignon	Milieu cuivre avec champignon
Absorbance au lambda max pour la première semaine	0,925	0,588
Absorbance au lambda max pour la deuxième semaine	0,981	0,890
Absorbance au lambda max pour la troisième semaine	0,865	0,808

Beaucoup d'intérêt à voir que les absorbances de la paille et du champignon sont proches.

Figure 10 : Tableau récapitulatif des absorbances des solutions issues des 2 milieux d'intérêts pendant 3 semaines

Nous observons une diminution de l'absorbance du cuivre dans le milieu avec le champignon, proportionnelle à une diminution de concentration, d'après la loi de Beer-Lambert. Le champignon a donc bien chélaté une partie du cuivre sous forme d'oxalate.

D. Dilution et gamme étalon.

Afin d'estimer la quantité de cuivre absorbée dans notre expérience par les champignons, nous avons réalisé une gamme étalon. Pour cela, nous avons réalisé quatre dilutions à partir d'une solution mère de cuivre de concentration 0,1 mol.L⁻¹ et nous avons mesuré grâce à un spectrophotomètre les absorbances associées. (Figure 11).

Concentration mol/L	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02
Absorbance	1,166	0,623	0,325	0,133	0,023
Incertitude type sur les solutions d'étalons		$2,5 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-4}$

Figure 11 : Tableau des absorbances des différentes dilutions obtenues à partir de la solution en CuSO₄ mère.

de quelle incertitude s'agit-il? concentration? Absorbance?

A partir de ces données, nous avons ainsi tracé la droite d'étalonnage de l'absorbance du CuSO₄ en fonction de sa concentration grâce au module polyfit de python (Figure 12). Cette droite obtenue nous permettra d'estimer la concentration résiduelle de cuivre récupérées dans nos serres.

La régression linéaire nous donne l'équation suivante : $f(x) = 13,88x - 0,3788$ où $f(x)$ est l'absorbance et x la concentration en CuSO₄.

A C

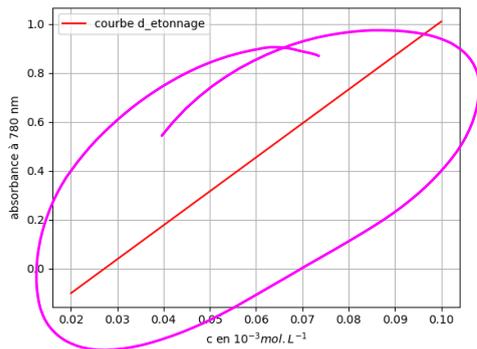


Figure 12 : Droite d'étalonnage du cuivre.

il faut que les points expérimentaux de la gamme étalon apparaissent.

Au cas incertitude n'est donnée

Pour nos incertitudes, nous avons utilisé la méthode de Monte Carlo sur chaque solution fille.

Grâce à cette courbe étalon, nous avons reporté les absorbances mesurées chaque semaine et calculé les concentrations associées (Figure 13) de la manière suivante: $c = (A) + 0,3788) / 13,88$

Expérience 1	Concentration du milieu sans champignon	Concentration du milieu avec champignon
Semaine 1	x = 0,094 mol/L	x = 0,070 mol/L
Semaine 2	x = 0,098 mol/L	x = 0,091 mol/L
Semaine 3	x = 0,090 mol/L	x = 0,085 mol/L

Figure 13 : Tableau des concentrations en $CUSO_4$ résiduel de nos serres.

⇒ et là vous concluez.

III. Expérience de diminution de la concentration en cuivre du milieu.

Pour pallier la perte d'efficacité du champignon sur la première semaine, nous avons essayé de diminuer la concentration en cuivre initiale du milieu. Nous espérons que le champignon absorbe le cuivre avec un rendement constant sur au moins 2 semaines.

Nous avons pulvérisé une solution de cuivre de concentration 0,06 mol/L.

CONCLUSION :

Conclusion à faire

Pour finir, au cours de notre TIPE, nous avons rencontré des limites puisque nos conditions expérimentales ne sont pas représentatives des conditions observées dans les écosystèmes forestiers. Notamment le manque de variations de températures entre le jour et la nuit, les transports fréquents qui provoquent des brusques changements de température ainsi que le repiquage qui induit du stress biologique. De plus, les champignons de nos expériences poussent sur de la paille et non du bois.

Réponse à la problématique ouverture

Bibliographie.

- <https://www.escarchgale.net/profile/Mildred-Osci-Kwarteng=2/publication/314050832> ACCUMULATION OF HEAVY METALS BY PLEUROTUS OSTREATUS FROM SOILS
- [OFMETALSCRAPSITES/links5862285/ac2725654170b&6/ACCUMULATION-OF-HEAVY-MIDTALS-BY-PL EUROTUS-OSTREATUS-FROM-SOILS-OF-METAL-SCRAP-SITS.pdf?origin=publicationdetail&tp=cxj2507Nhljplm ZpenNolCEzSonYmpy20auliwinzSonYmpy20aubmxyyWi.CJwemV2a191c1Bh720iQj\)wdWJsa WNhdcI»bi1212](https://www.escarchgale.net/profile/Mildred-Osci-Kwarteng=2/publication/314050832)
- <https://selecdepel.fr/fiche-technique/phytodegradation.html> le%20hut%20de%20cctle%20technique nembreuses%20enzymes"20de%20certaines"20plantes
- <https://theses.hal.science/tel-04357161x1/document>
- <https://theses.hal.science/tel-00639468/file/THESE.J.Romann.pdf>
- https://bieresources.cnumesu.cdu/wp-content/uploads/2018/08/BioRes_13_3_7155_Akgul0414:Mycoremediation_Copper_Tolerant_Brown_Rot_Eung_13152.pdf
- <https://www.researchgate.net/publication/322068211> اسعنت as322-06p8
- <https://theses.hal.science/tel-01259180x1/document>
- https://www.facorgB/A364053610E0_Lhm.html https://sordalab.com RESSOURCES documents ERENZYVELLO ERpde
- <https://www.laboiteachampignons.com/blog/blog-1/le-champignon-mieux-que-un-pesticide-28>
- <https://www.alcor-controles.fr/champignons-mangeurs-de-pollution-sols/#:~:text=L.es%20champignons%20sont%20une%20m%C3%A9thode.caux%20souill%C3%A9s%20par%20ces%20substances>
- Bioresources.cnr.ncsu.edu
- msdmanuals.com
- Wikipédia
- atamanchemicals.com