

Étude de la toxicité des composés phénoliques modèles de la lignine vis-à-vis de 1040 souches de champignons

Mohamed RAHOUTI¹, Françoise SEIGLE-MURANDI²,
Régine STEIMAN² & Jean-Louis BENOIT-GUYOD²

(Reçu le 03/12/1996 ; Accepté le 26/02/1997)

دراسة لسمية المواد الفينولية إزاء الفطريات

يتناول هذا البحث دراسة 7 مواد فينولية تستعمل كنموذج للنين إزاء 1040 من الفطريات المجهرية. الأحماض الأقل سمية هي الأحماض البرتكاتشك، السرنجك و الفانك، و الأكثر فاعلية هي الفينول و الكاتيكول، أما الحامض الفيرليك و الكياكول فسميتهما متوسطة. بعض مجموعات الصنافة مثل النظيريات لهن مقاومة كبيرة لسمية هذه الفينوليات، أما أخريات كالفطريات العقيمة فهن أقل مقاومة. الفطريات الغير المنتجة للأنزيمات الفينول أكسدازيكية تتحمل أكثر وجود الكاتيكول و الفينول، أما الفينوليات الأخرى فيتحمل بأن سميتها لاتتغير بوجود أو غياب هذه الأنزيمات. إن زيادة كربوكسيل على النواة البنزينية للكاتيكول و الكياكول تنقص بكيفية واضحة من سمية هاتين المادتين، لكن زيادة هيدروكسيل للفينول أو زمرة أثيلينية للحامض الفانك فيزيد منها بصفة محسوسة.

الكلمات المفتاحية : الحامض الفيرليك - الحامض البرتكاتشك - كياكول - فينول - فطريات - الأنزيمات الفينول أكسدازيكية - سمية

Étude de la toxicité des composés phénoliques modèles de la lignine vis-à-vis de 1040 souches de champignons

La toxicité de 7 composés phénoliques modèles de la lignine vis-à-vis de 1040 champignons est étudiée. La plupart des souches ont une bonne tolérance à ces composés. Les acides protocatéchuic, syringique et vanillique sont les moins toxiques, alors que le phénol et le catéchol sont les plus toxiques. L'acide férulique et le gaiacol sont moyennement toxiques. Certains groupes taxonomiques comme les Zygomycètes sont très résistants à la toxicité de ces phénols; tandis que d'autres tels que les Agonomycètes le sont moins. Les champignons dépourvus d'activité phénoloxidasique tolèrent mieux la présence du catéchol et du phénol. Quant aux autres phénols, leur toxicité ne semble pas être modifiée par la présence ou non de ces enzymes. L'addition d'un carboxyle sur le noyau aromatique du catéchol et du gaiacol diminue nettement la toxicité de ces 2 composés; alors que l'addition d'un hydroxyle au phénol ou d'un groupement éthylenique à l'acide vanillique l'augmente sensiblement.

Mots clés : Acide férulique - Acide protocatéchuic - Champignons - Gaiacol - Phénol - Phénoloxidas - Toxicité - Lignine

Study of the toxicity of phenolic lignin model compounds towards 1040 strains of fungi

Toxicity of 7 phenolic lignin model compounds towards 1040 fungi was studied. Most of strains showed good resistance to these compounds. Protocatechuic, syringic and vanillic acids were the less toxic. Phenol and catechol were the most toxic, while ferulic acid and guaiacol were moderately toxic. Some taxonomic groups like Zygomycetes were very resistant to the toxicity of these phenols; while others such as Agonomycetes were less. Fungi without phenoloxidase activity tolerate better the presence of catechol and phenol. It seems that toxicity of other phenols was not affected by the presence or absence of these enzymes. The addition of a carboxyl to the aromatic ring of catechol and guaiacol decreases the toxicity of these 2 compounds; however the adjunction of a hydroxyl to phenol or an ethylenic chain to vanillic acid increases perceptibly their toxicity.

Key words : Ferulic acid - Fungi - Guaiacol - Phenol - Phenoloxidas - Protocatechuic acid - Toxicity - Lignin

¹ Laboratoire de Microbiologie, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, BP 1014, Rabat, Maroc

² Groupe pour l'Étude du Devenir des Xénobiotiques dans l'Environnement (GEDEXE), UFR de Pharmacie, Université Joseph Fourier, BP 138, 38243 Meylan, France

□ Auteur correspondant

INTRODUCTION

En plus de leur toxicité, certains composés phénoliques causent des problèmes de mauvais goût de l'eau potable, surtout lorsque celle-ci a été chlorée. Ces composés sont présents dans les effluents de nombreux procédés industriels (Anonyme, 1979). Dans l'industrie de pulpation, les effluents produits au moment du blanchiment par chloration provoquent la pollution de l'eau parce qu'ils contiennent des lignines fortement modifiées et des chlorolignines, ainsi que des phénols et des chlorophénols (Eriksson *et al.*, 1990).

Dans ce travail, on a choisi 7 phénols dérivés de la lignine, qui sont les acides férulique, syringique, vanillique et protocatéchique, le gaïacol, le catéchol et le phénol. On a ensuite exploré leur toxicité vis-à-vis de plus d'un millier de souches de champignons.

Les 3 premiers acides apparentés à la lignine ont été utilisés par plusieurs chercheurs comme modèles monomères pour l'étude du métabolisme de la macromolécule par voie microbienne (Eriksson *et al.*, 1990). L'acide protocatéchique et le gaïacol proviennent du métabolisme de l'acide vanillique par certains champignons et bactéries (Nazareth & Mavinkurve, 1986; Crawford & Olson, 1978). Le catéchol représente le substrat des enzymes qui catalysent l'ouverture du noyau aromatique des diphénols. Le phénol ne provient pas principalement de la lignine, mais a été choisi comme modèle de composé toxique, afin de le

comparer aux autres substances phénoliques. Dans la littérature, ce sont surtout les bactéries et les champignons de pourriture blanche qui sont utilisés dans les études du métabolisme des 7 molécules phénoliques précitées.

L'idée de tester la capacité des micromycètes à utiliser les 7 substances phénoliques comme seules sources de carbone vise à élucider, dans le futur, les voies métaboliques empruntées par ces champignons pour assimiler ce type de substances.

À la lumière des résultats obtenus, deux types de champignons ont été sélectionnés : ceux qui sont sensibles à la toxicité des phénols seront utilisés comme bioindicateurs et les autres résistants et capables de dégrader ce type de substances serviront à dépolluer les écosystèmes contaminés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Micro-organismes

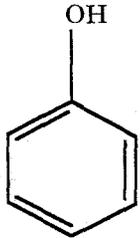
Les 1040 champignons utilisés appartiennent à la collection de notre laboratoire (CMPG : Collection Mycologie Pharmacie Grenoble). Leur répartition taxonomique figure dans le tableau 1. La plupart des souches sont des *Fungi imperfecti* isolées de différents substrats : sol, sédiments, aliments et bois en décomposition (Seigle-Murandi *et al.*, 1980, 1981; De Hoog *et al.*, 1985; Gams *et al.* 1990). Elles sont entretenues sur milieu gélosé à base d'extrait de malt (1,5%) et conservées à 4 °C.

Tableau 1. Tolérance des souches en fonction de leurs groupes taxonomiques

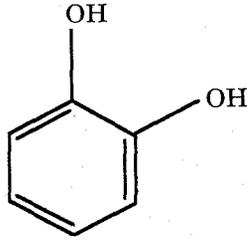
| Taxons | Nombre de souches par taxon | Catéchol | Phénol | Acide férulique | Gaïacol | Acide syringique | Acide vanillique | Acide proto- catéchique | Moyenne par taxon |
|-------------------------------|--------------------------------|------------|------------|--------------------|------------|---------------------|---------------------|----------------------------|----------------------|
| Agonomycètes | 4 | 0% | 75% | 50% | 75% | 50% | 50% | 50% | 50% |
| Levures | 44 | 34% | 43% | 32% | 45% | 55% | 77% | 70% | 51% |
| Stilbellales | 11 | 18% | 55% | 64% | 45% | 73% | 73% | 73% | 57% |
| Ascomycètes | 112 | 53% | 52% | 72% | 72% | 85% | 79% | 83% | 71% |
| Basidiomycètes | 40 | 45% | 73% | 68% | 78% | 85% | 80% | 88% | 74% |
| Dematiaceæ | 199 | 39% | 58% | 81% | 80% | 88% | 89% | 90% | 75% |
| Mucedinaceæ | 395 | 69% | 62% | 84% | 84% | 90% | 91% | 92% | 82% |
| Mélanconiales | 14 | 57% | 79% | 93% | 79% | 100% | 93% | 93% | 85% |
| Tuberculariales | 102 | 71% | 63% | 86% | 93% | 95% | 95% | 95% | 85% |
| Sphærospidales | 50 | 58% | 82% | 82% | 88% | 98% | 98% | 98% | 86% |
| Zygomycètes | 69 | 51% | 93% | 88% | 93% | 94% | 94% | 96% | 87% |
| Moyenne par phénol | 1040 | 45% | 67% | 73% | 76% | 83% | 84% | 84% | 73% |

2. Produits chimiques

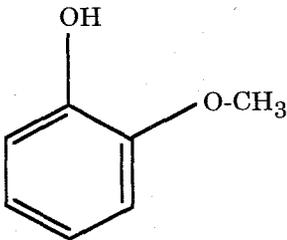
Les acides férulique et vanillique proviennent de Fluka (Suisse), les acides protocatéchique et syringique de Sigma (USA), le gaïacol de Merck (Allemagne), l'extrait de malt de Difal (France) et les autres produits de Prolabo (France).



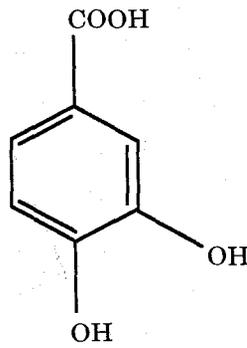
Phénol



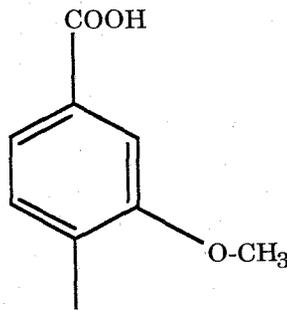
Catéchol



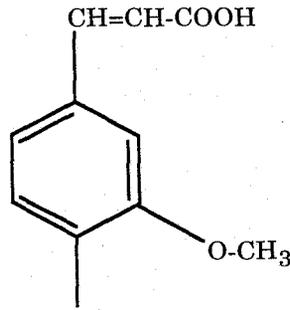
Gaïacol



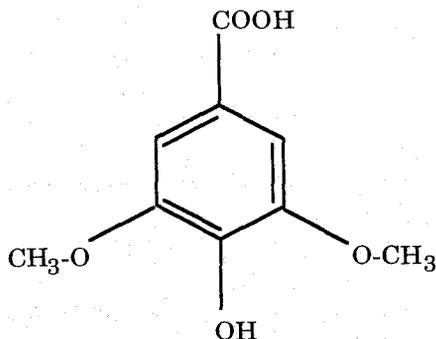
Acide procatéchique



Acide vanillique



Acide férulique



Acide syringique

Structure des 7 composés phénoliques étudiés

3. Milieu et conditions de culture

Le milieu utilisé est à base d'extrait de malt (1,5%), gélosé (1,5%) et additionné d'un composé phénolique à la concentration de 0,5 g/l.

La substance testée est dissoute dans l'éthanol à raison de 2,5%, puis stérilisée par filtration sur membrane (Millipore type FH, 0,22 µm) et ensuite ajoutée stérilement au milieu de culture, avant que celui-ci ne soit coulé dans les boîtes de Pétri. Après un ensemencement ponctuel au centre de la boîte, les cultures sont incubées pendant 15 jours à la température de 24 °C. Tous les essais sont réalisés en triple exemplaires.

La croissance des champignons est appréciée par la mesure du diamètre des colonies. Les modifications physiologiques éventuelles sont notées en fonction des observations portant sur les fructifications ou la production anormale de pigments ou de substances visqueuses. Après 15 jours d'incubation, la croissance des champignons est notée en fonction du diamètre des colonies.

Elle est appréciée selon 4 degrés : bonne, moyenne, médiocre et nulle auxquels correspondent respectivement les diamètres d'inhibition suivants: 0 à 15 mm, 30 à 50 mm, environ 70 mm et 90 mm.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Action des 7 composés phénoliques sur le développement des micromycètes

En général, la tolérance des micromycètes aux 7 phénols est bonne puisque le pourcentage des champignons qui ont une croissance bonne ou moyenne sur ces composés varie entre 57 et 90% (Figure 1).

Des 7 molécules phénoliques testées, ce sont les acides protocatéchique, syringique et vanillique qui sont les moins toxiques; le nombre moyen de champignons qui ont une croissance nulle ou médiocre en présence de ces composés est seulement de 11%. Le gaïacol et l'acide férulique sont légèrement plus toxiques que les 3 premiers acides car les micromycètes à croissance nulle ou médiocre représentent 20% des souches. Les 2 composés les plus toxiques sont le phénol et le catéchol, puisque 37 et 43% des souches ont respectivement une croissance nulle ou médiocre. La croissance de certains micromycètes en

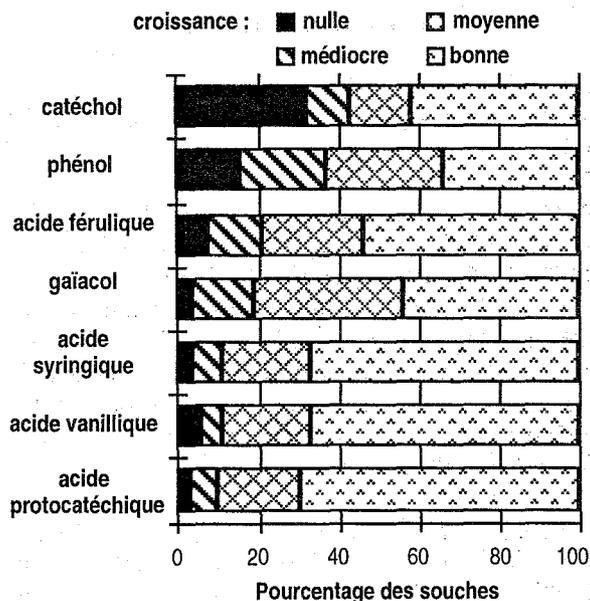


Figure 1. Croissance des champignons en présence des phénols

présence de composés phénoliques peut s'accompagner de modifications physiologiques, qui se manifestent chez certaines souches par des perturbations des fructifications ou par une production anormale de pigments ou de substances visqueuses.

En présence des phénols, certaines souches se reproduisent normalement alors que d'autres voient leurs fructifications perturbées ou totalement inhibées. Le pourcentage des champignons qui fructifient d'une façon normale est donné dans le tableau 2. Les meilleures fructifications sont obtenues avec les acides protocatéchique, syringique, vanillique et férulique, et avec le gaïacol. En présence du catéchol et du phénol, seule la moitié des souches ont produit des fructifications.

Certains champignons forment des pigments lorsqu'ils sont cultivés dans des milieux contenant des composés phénoliques (Tableau 2). C'est en présence du gaïacol que la production est la plus forte. Dans les milieux additionnés de l'un des 4 acides phénoliques ou du catéchol, la formation des pigments est moyenne. Très peu de champignons cultivés sur le phénol ont produit des pigments. La formation des pigments dans les cultures de champignons contenant des composés phénoliques a été décrite par plusieurs auteurs (Varga & Neujahr, 1970; Lacharme *et al.*, 1980). Cette activité métabolique, due à la polymérisation des composés phénoliques ou à la formation de dérivés

quinoniques sous l'action des phénoloxydases, aurait un rôle de détoxication des phénols. Le gaïacol est la substance la plus active des 7 phénols testés. La particularité de ce composé a été déjà remarquée par certains chercheurs, qui l'ont exploitée en utilisant le gaïacol comme réactif de détection des phénoloxydases dans les cultures de micro-organismes (Boidin, 1951; Käärik, 1965).

Tableau 2. Action des composés phénoliques sur les fructifications et la production des pigments et des substances visqueuses*

| Phénols | Fructifications normales | Formation de pigments | Production de substances visqueuses |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| Catéchol | 53 % | 7.0 % | 1.9 % |
| Phénol | 50 % | 0.4 % | 0.8 % |
| Acide férulique | 73 % | 6.9 % | 3.7 % |
| Gaïacol | 69 % | 22.1 % | 3.1 % |
| Acide syringique | 79 % | 10.3 % | 3.9 % |
| Acide vanillique | 77 % | 8.0 % | 1.5 % |
| Acide protocatéchique | 84 % | 8.8 % | 3.1 % |

* Résultats donnés en % pour chaque phénol. Le nombre total de champignons est 1040

Certains champignons produisent des substances visqueuses lorsqu'ils sont cultivés sur le milieu à l'extrait de malt supplémenté d'un composé de nature phénolique (Tableau 2). Cette activité est observée d'une façon relativement importante dans les cultures en présence des acides syringique, férulique et protocatéchique et du gaïacol. Peu de champignons ont produit ce genre de substances dans les cultures avec le catéchol et l'acide vanillique. C'est avec le phénol, que les champignons ont formé le moins de substances visqueuses.

à notre connaissance, ce phénomène n'est pas décrit dans la littérature, et a été observé de nombreuses fois dans notre laboratoire dans les cultures de champignons en présence de composés phénoliques (Rahouti, 1987; Guiraud, 1991). Le rôle de ces substances qui sont probablement de nature polysaccharidique est encore inconnu.

2. Tolérance des champignons en fonction de leurs groupes taxonomiques

La répartition selon les groupes taxonomiques des champignons qui ont une tolérance bonne ou moyenne vis-à-vis des 7 substances phénoliques testées montre que les souches des différents taxons n'ont pas le même comportement

(Tableau 1) : les Zygomycètes, les Sphaeropsidales, les Tuberculariales et les Mélanconiales sont les groupes qui ont la meilleure tolérance aux 7 phénols, suivis par les Mucedinaceae. Les Dematiaceae, les Basidiomycètes et les Ascomycètes ont une tolérance assez bonne. Les Stilbellales, les levures et les Agonomycètes représentent les groupes les plus sensibles à la toxicité des phénols étudiés.

3. Relation entre la tolérance des souches aux composés phénoliques et leurs activités phénoloxidasiques

L'estimation de l'activité phénoloxidasique des micromycètes par la méthode de Käärik a permis de distinguer 2 groupes de champignons : ceux qui produisent des phénoloxidasases (57% des souches) et les autres qui n'en produisent pas (43% des souches) (Rahouti *et al.*, 1995). L'étude de la tolérance des souches en fonction de leurs activités phénoloxidasiques (Tableau 3) montre que les champignons qui ne forment pas ces enzymes tolèrent mieux la présence du catéchol et du phénol. La tolérance aux 5 autres phénols ne semble pas être affectée par la présence ou l'absence de ces enzymes. Parmi les souches productrices de phénoloxidasases, 3 groupes de champignons ne forment chacun qu'un seul type de ces enzymes ont été sélectionnés. L'étude de la relation entre la tolérance des souches et le type d'enzyme qu'elles produisent montre que les champignons qui forment des peroxydases ont légèrement une meilleure tolérance vis-à-vis des 7 composés phénoliques que ceux qui sécrètent des laccases ou des tyrosinases.

Les souches qui ont subi le test de toxicité vis-à-vis du gaïacol avait fait auparavant l'objet d'une estimation de leur activité phénoloxidasique, à

l'aide du gaïacol, par la méthode de Käärik (Rahouti *et al.*, 1995).

La figure 2 permet de faire 2 constatations : d'abord peu de souches productrices de phénoloxidasases ne tolèrent pas la présence du gaïacol; ensuite la majorité des souches n'ayant pas d'activité phénoloxidasique ont une tolérance bonne ou moyenne au gaïacol. Ce résultat semble indiquer que les champignons possèdent d'autres enzymes que les phénoloxidasases qui assurent la détoxification du gaïacol.

La capacité des phénoloxidasases à modifier la toxicité des phénols a été prospectée; ainsi Haars & Hüttermann (1980) ont rapporté que l'activité de la laccase augmente la toxicité des phénols. Dans leur étude sur la fonction de la laccase du champignon de pourriture blanche *Fomes annosus*, ils ont trouvé que le catéchol et le gaïacol inhibaient

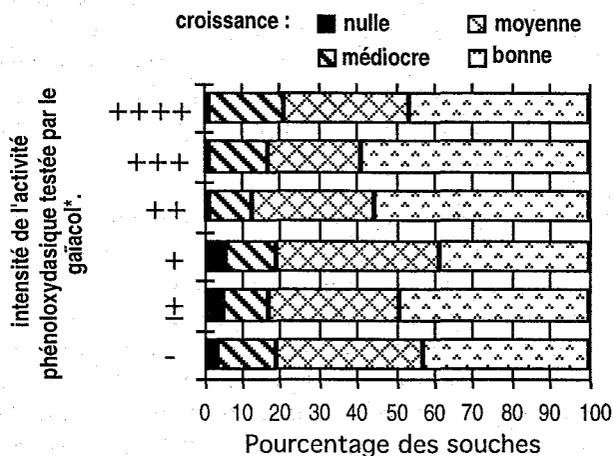


Figure 2. Relation entre la tolérance des champignons au gaïacol et leur activité phénoloxidasique estimée par l'intermédiaire de ce même composé

Tableau 3. Relation entre la tolérance des champignons aux composés phénoliques et les enzymes qu'ils produisent ^{a, b}

| Phénols | Phé | | Cat | | Gaï | | Ac. Pro | | Ac. Van | | Ac. Syr | | Ac. Fér | |
|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|
| | 1+2 | 3+4 | 1+2 | 3+4 | 1+2 | 3+4 | 1+2 | 3+4 | 1+2 | 3+4 | 1+2 | 3+4 | 1+2 | 3+4 |
| Tolérance ^c | | | | | | | | | | | | | | |
| POx (-) | 31% | 69% | 33% | 67% | 17% | 83% | 10% | 90% | 11% | 89% | 11% | 89% | 19% | 81% |
| POx (+) | 42% | 58% | 52% | 48% | 20% | 80% | 10% | 90% | 11% | 89% | 12% | 88% | 21% | 79% |
| Laccases | 43% | 57% | 48% | 52% | 22% | 78% | 10% | 90% | 10% | 90% | 14% | 86% | 19% | 81% |
| Peroxydases | 38% | 62% | 38% | 62% | 14% | 86% | 10% | 90% | 5% | 95% | 10% | 90% | 14% | 86% |
| Tyrosinases | 37% | 63% | 44% | 56% | 28% | 72% | 12% | 88% | 16% | 84% | 12% | 88% | 28% | 72% |

^a Légendes : Phé, phénol; Cat, catéchol; Gaï, gaïacol; Ac. Pro, acide protocatéchique; Ac. Van, acide vanillique; Ac. Syr, acide syringique; Ac. Fér, acide férulique; POx (-), souches dépourvues d'activité phénoloxidasique; POx (+), souches productrices de phénoloxidasases

^b Résultats exprimés en % pour un phénol et un enzyme donnés

^c Tolérance : 1, nulle; 2, médiocre; 3, moyenne; 4, bonne

fortement la croissance du champignon, lorsque ce dernier produisait une laccase extracellulaire. Cependant, la toxicité de ces 2 composés se trouvait réduite lorsque l'activité de la laccase a été inhibée.

En revanche, Bollag *et al.* (1988) sont parvenus à des résultats qui s'opposent à ceux de Haars & Hüttermann (1980). L'équipe de Bollag (1988) a travaillé sur la détoxification du 2,6-diméthylphénol, du 4-chloro 2-méthylphénol, du crésol et du 2,4-dichlorophénol par la laccase de *Rhizoctonia praticola*. Ils ont conclu que la capacité des phénoloxydases à détoxifier un composé phénolique dépend peut-être du phénol testé, du micro-organisme utilisé, d'autres paramètres environnementaux ou de la combinaison de ces facteurs.

L'étude de la relation entre les 3 groupes de champignons, qui ne forment chacun qu'un seul type de phénoloxydases et leur capacité à produire des pigments lorsqu'ils sont cultivés en présence de composés phénoliques, a montré que, d'une façon générale, ce sont les souches qui produisent des laccases qui forment le plus de pigments (20%). Celles qui produisent des peroxydases en forment un peu moins (16%).

Peu de souches sécrétant des tyrosinases (6%) ont formé des pigments. Ces résultats confirment les travaux de Dec & Bollag (1990) qui ont isolé des laccases extracellulaires à partir des milieux de culture des champignons *Rhizoctonia praticola* et *Trametes versicolor*. Les laccases de ces 2 champignons transforment totalement le catéchol et le gaïacol, alors que la peroxydase du raifort polymérise partiellement ces 2 composés. Une tyrosinase d'origine fongique transforme complètement le catéchol et faiblement le gaïacol.

4. Effets des substituants sur la toxicité des composés phénoliques

Les 7 composés étudiés sont tous des phénols et se distinguent les uns des autres par la nature ou le nombre ou la position des substituants sur leurs noyaux aromatiques. La comparaison des résultats obtenus avec ces molécules (Figure 1) permet de faire certaines constatations sur les effets des substituants sur la toxicité des 7 substances phénoliques.

L'effet inhibiteur des phénols sur la croissance des champignons peut diminuer ou augmenter lorsqu'on additionne certains groupements à leurs

molécules. En effet, les résultats obtenus indiquent que l'addition d'un carboxyle sur le cycle benzénique du catéchol et du gaïacol produit l'acide protocatéchique et l'acide vanillique, ce qui diminue d'une façon notable la toxicité de ces 2 composés. L'addition d'un hydroxyle en position *ortho* au phénol augmente sensiblement sa toxicité; alors que d'après Buswell & Eriksson (1994) l'addition d'un hydroxyle en position *meta* à l'acide *p*-coumarique produit l'acide caféique, qui a un effet inhibiteur moins prononcé que le composé qui lui a donné naissance.

D'autre part, l'addition au gaïacol d'une chaîne latérale formée par l'acide propénoïque produit l'acide férulique, qui est légèrement plus toxique que le composé de départ. Après addition à l'acide vanillique d'un groupement éthylénique entre le noyau aromatique et le carboxyle, on obtient un composé plus toxique, qui est l'acide férulique. Ces résultats sont en accord avec ceux de Buswell & Eriksson (1994), qui ont rapporté que les acides *p*-coumarique et férulique sont beaucoup plus toxiques que les acides benzoïques correspondants, à savoir les acides *p*-hydroxybenzoïque et vanillique.

L'addition d'un groupement méthoxyle sur le noyau aromatique de l'acide vanillique et du phénol a des effets différents sur la toxicité de ces 2 composés, puisque l'acide syringique présente pratiquement la même toxicité que la molécule de départ, qui est l'acide vanillique. Par contre, le gaïacol est beaucoup moins toxique que le phénol duquel il résulte.

Des effets comparables sont observés lorsqu'on substitue un hydroxyle par un méthoxyle sur l'acide protocatéchique et sur le catéchol. Buswell & Eriksson (1994) ont travaillé sur l'effet de différents acides benzoïque et cinnamique sur la croissance des champignons de pourriture blanche. Ils ont trouvé que la substitution de l'hydroxyle phénolique en position *para* par un méthoxyle produit généralement un composé plus toxique pour la croissance des champignons.

Les 7 composés phénoliques testés ont des actions différentes sur le développement des micromycètes. Leurs activités varient en fonction de la structure de leurs molécules. Néanmoins certains rapprochements entre composés à activités voisines sont possibles. Les acides protocatéchique, vanillique et syringique sont tous des acides *p*-hydroxybenzoïques. Cette

ressemblance de structure est fort probablement en relation étroite avec leurs actions comparables sur la croissance, les fructifications et la production de pigments par les champignons. Une seule exception est à signaler, à savoir qu'en présence de l'acide vanillique peu de micromycètes produisent des substances visqueuses. L'acide férulique ne diffère du gaïacol que par la présence d'une chaîne latérale; ces 2 composés ont pratiquement les mêmes actions sur le développement des champignons à l'exception de la production de pigments où le gaïacol est 3 fois plus actif que l'acide férulique. Le phénol et le catéchol ont des structures chimiques voisines, mais mises à part leurs actions comparables sur les fructifications, ces 2 composés ont des effets assez différents sur le développement des champignons, surtout sur la production de pigments. Le catéchol, étant un diphenol, se prête beaucoup mieux que le phénol à la formation des pigments sous l'action des phénoloxydases.

Au vu des résultats encourageants de l'épreuve de tolérance, le but fixé pour l'étape suivante de ce travail est de tester la capacité des champignons à utiliser les 7 composés phénoliques comme source de carbone.

CONCLUSION

En général, la tolérance des champignons aux 7 phénols est bonne. Les acides protocatéchique, syringique et vanillique sont les composés les mieux tolérés, alors que le phénol et le catéchol sont les plus toxiques.

Certains groupes taxonomiques comme les Sphaeropsidales et les Zygomycètes ont une bonne tolérance, d'autres comme les Agonomycètes et Levures sont très sensibles à la toxicité des phénols. Les souches qui produisent des peroxydases ont légèrement une meilleure tolérance; celles qui sécrètent les laccases forment le plus de pigments. La modification de la toxicité de ces composés suite à des réactions d'addition ou de substitution de certains groupements à leurs molécules est variable et dépend vraisemblablement de plusieurs facteurs.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Ander P. & Eriksson K.-E. L. (1976) The importance of phenol oxidase activity in lignin degradation by the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Arch. Microbiol.* (109) : 1-8
- Anonyme (1979) Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd. New Delhi
- Boidin J. (1951) Recherches de la tyrosinase et de la laccase chez les Basidiomycètes en culture pure. Milieux différentiels. Intérêt systématique. *Rev. Mycol.* (16) : 173-197
- Bollag J.-M., Shuttleworth K. L. & Anderson D. H. (1988) Laccase-mediated detoxification of phenolic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (12) : 3086-3091
- Buswell J. A. & Eriksson K.-E. L. (1994) Effect of lignin-related phenols and their methylated derivatives on the growth of eight white-rot fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (10) : 169-174
- Crawford R. L. & Perkins (Olson) P. E. (1978) Microbial catabolism of vanillate : decarboxylation to guaiacol. *Appl. Environ. Microbiol.* 36 (4) : 539-543
- Dagron C. (1985) Sur une nouvelle utilisation de l'amidopyrine comme réactif des phénoloxydases. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 101 (3) : 219-235
- De Hoog G. S., Seigle-Murandi F., Steiman R. & Eriksson K.-E. L. (1985) A new species of *Embellisia* from the North Sea. *Antonie van Leeuwenhoek*, (51) : 409-413
- Dec J. & Bollag J.-M. (1990) Detoxification of substituted phenols by oxidoreductive enzymes through polymerization reactions. *Arch. Environ. Contamin. Toxicol.* (19) : 543-550
- Eriksson K.-E.L., Blanchette R.A. & Ander P. (1990) Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong
- Gams W., Steiman R. and Seigle-Murandi F. (1990) The Hyphomycete genus *Goidanichiella*. *Mycotaxon* (38) : 149-159
- Guiraud P. (1991) Métabolisation de l'acide vanillique par les Micromycètes. Relation avec la production de phénoloxydases extracellulaires. Thèse Doctorat, Grenoble, France
- Haars A. & Huttermann A. (1980) Function of laccase in the white-rot fungus *Fomes annosus*. *Arch. Microbiol.* (125) : 233-237
- Harkin J.M. & Obst J.R. (1973) Syringaldazine, an effective reagent for detecting laccase and peroxidase in fungi. *Experientia* 29 (4) : 381-387
- Harkin J.M., Larsen M.J. & Obst J.R. (1974) Use of syringaldazine for detection of laccase in sporophores of wood-rotting fungi. *Mycologia* (LXVI) : 469-476
- Käärik A. (1965) The identification of mycelia of wood-decay fungi by their oxidation reactions with phenolic compounds. *Stud. Fores. Suec.* (31) : 1-61

- Lacharme L., Seigle-Murandi F. & Steiman R. (1980) Transformations biologiques du gaïacol par des Micromycètes. *C. R. Soc. Biol.* 174 (5) : 783-788
- Nazareth S. & Mavinkurve S. (1986) Degradation of ferulic acid via 4-vinylguaiacol by *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. *Can. J. Microbiol.* (32) : 494-497
- Rahouti M. (1987) Métabolisation des acides férulique, syringique et sinapique par les micromycètes. Thèse Doctorat, Grenoble, France
- Rahouti M., Benoit-Guyod J.-L., Seigle-Murandi F. & Guiraud P. (1995) Sensitivity and specificity of phenoloxidase reactions of 1059 strains and species of Micromycetes cultivated on malt/agar medium. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (11) : 497-501

- Seigle-Murandi F., Nicot J., Sorin L. & Lacharme J. (1981) Mycoflore des cerneaux de noix destinés à l'alimentation. *Cryptog. Mycol.* (2) : 217-237
- Seigle-Murandi F., Nicot J., Sorin L. & Genest L. C. (1980) Association mycologique dans la salle de la Verna et le tunnel de l'E.D.F. du réseau de la Pierre Saint-Martin. *Rev. Ecol. Biol. Sol* 17 (2) : 149-157
- Varga J. M. & Neujahr H. Y. (1970) Isolation from soil of phenol utilizing organisms and metabolic studies on the pathways of phenol degradation. *Plant and Soil* (33) : 565-571